

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
ESCUELA DE POST GRADO
MAESTRÍA EN GANADERÍA ANDINA**



**“SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS
AL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB) Y
Neospora caninum EN TRES CUENCAS LECHERAS DE LA
REGIÓN PUNO”**

TESIS

PRESENTADA POR:


EVA LAURA CHAUCA

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAGÍSTER SCIENTIAE EN REPRODUCCIÓN ANIMAL**



PUNO - PERÚ

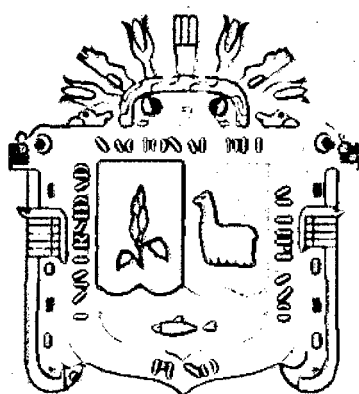
2010

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - 	
BIBLIOTECA GENERAL	
Fecha	02 OCT. 2012
N°	00203

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

ESCUELA DE POST GRADO

MAESTRÍA EN GANADERÍA ANDINA



**“SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO
ASOCIADOS AL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL
BOVINA (VDVB) Y *Neospora caninum* EN TRES
CUENCAS LECHERAS DE LA REGIÓN PUNO”**

TESIS

PRESENTADA POR:

EVA LAURA CHAUCA

PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAGISTER SCIENTIAE EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

PUNO - PERU

2010

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO
ESCUELA DE POST GRADO
MAESTRIA EN GANADERÍA ANDINA
ESPECIALIDAD REPRODUCCIÓN ANIMAL

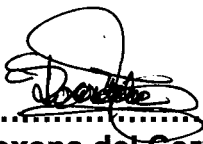
“SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS AL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB) Y *Neospora caninum* EN TRES CUENCAS LECHERAS DE LA REGIÓN PUNO”


TESIS

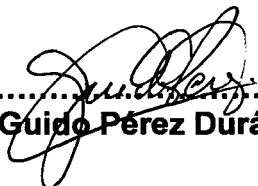
PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:


MAGISTER SCIENTIAE EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

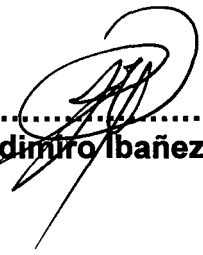
SUSTENTADO Y APROBADO ANTE EL JURADO INTEGRADO POR:

Presidente : 
.....
Dra. Roxana del Carmen Medina Rojas.

Primer Miembro : 
.....
Dr. Domingo Alberto Ruelas Calloapaza.

Segundo Miembro : 
.....
Dr. Guido Pérez Durán.

Director : 
.....
M.Sc. Alberto Ccama Sulca.

Asesor : 
.....
Dr. Vladimiro Ibañez Quispe.

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre José y a mi querida madre Rumualda por su entrega e inmenso amor como padres, a ellos debo la vida y mis logros.

A mi amado esposo Rodolfo con quien comparto conocimiento y experiencias en la vida profesional, excelente padre y esposo

A mis amados hijos, Alec Rodolfo y Dana Evelyn, Motivo por mi inspiración y Superación como madre y profesional

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional del Altiplano, en especial a los docentes que impartieron sus enseñanzas en la escuela de Postgrado en Ganadería Andina.

Al Mvz. MSc. Alberto Ccama Sullca por haberme motivado en la realización de la presente investigación y su valioso asesoramiento en la culminación de mi trabajo de tesis.

A la Dra. Roxana del Carmen Medina Rojas por su valioso aporte y sugerencias en el desarrollo de la investigación en su calidad de presidenta del jurado y del mismo modo al Dr. Alberto Ruelas Calloapaza y Dr. Guido Pérez Durán, miembros integrantes del jurado.

Mi Gratitud inmensa a los médicos veterinarios del SENASA en la persona de Mvz. Héctor Guevara Pineda y la MVz. Beatriz Ordoñez Ordoñez que hicieron posible la realización del trabajo de investigación con la obtención de muestras de sangre y datos en hatos lecheros de las cuencas estudiadas.

Al personal de LAVETSUR Arequipa, en especial al Dr. Jorge Manrique Meza y la Blgo. Roxana Bustinza Escalante al facilitarme la realización de los análisis serológicos mediante la técnica de ELISA.

Mi reconocimiento al Dr. Vladimiro Ibañez Quispe por su asesoramiento en la parte estadística de la tesis.

Especial reconocimiento y gratitud a mi compañero de estudios de la maestría MVZ. Bilo Calsin Calsin por sus valiosas sugerencias y revisión del trabajo.

A mi esposo Rodolfo por su apoyo constante y a mis hijos Dana y Alec que me brindaron amor y estímulo durante el trabajo realizado.

INDICE

	Pág
RESUMEN	
ABSTRAC	
INTRODUCCIÓN.....	01
CAPITULO 1. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	04
1.1. Problema.....	04
1.2. Objetivos.....	06
CAPITULO II. MARCO TEORICO.....	08
2.1. DIARREA VIRAL BOVINA (DVB).....	08
2.1.1. Historia.....	08
2.1.2. Etiología.....	09
2.1.3. Manifestaciones clínicas y patogenia	11
2.1.4. Epidemiología.....	21
2.1.5. Diagnóstico.....	25
2.1.6. Prevalencia.....	26
2.2. NEOSPOROSIS.....	29
2.2.1. Historia.....	29
2.2.2. Etiología y taxonomía.....	30
2.2.3. Ciclo de vida.....	32
2.2.4. Patogénesis.....	35
2.2.5. Aspecto inmune de la infección.....	36
2.2.6. Inmunidad mediada por anticuerpos.....	36
2.2.7. Inmunidad mediada por células.....	37
2.2.8. Signos clínicos.....	39
2.2.9. Epidemiología.....	40
2.2.10. Diagnóstico.....	40
2.2.11. Prevalencia.....	41
2.3. DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO.....	44
2.3.1. Definición.....	44
2.3.2. Respuesta inmune y el diagnóstico serológico.....	44
2.3.3. Diagnóstico indirecto.....	45
2.3.4. Método ELISA.....	46

2.3.5. Tipos de ensayo ELISA.....	48
2.4. FACTORES DE RIESGO ASOCIADO A LAS ENFERMEDADES DVB Y NEOSPOROSIS.....	48
2.4.1. Raza	50
2.4.2. Edad	51
2.4.3. Sistema de explotación	53
2.4.4. Sala de maternidad	54
2.4.5. Conocimiento de las enfermedades	56
CAPITULO III : METODOLOGÍA.....	57
3.1. Área de estudio.....	57
3.2. Material biológico.....	58
3.3. Metodología.....	58
3.3.1. Trabajo de campo.....	58
3.3.2. Trabajo de laboratorio.....	59
3.4. Método estadístico.....	65
CAPITULO IV : RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	69
4.1. Seroprevalencia de los agentes infecciosos de las enfermedades reproductiva: VDVB y <i>N.caninum</i> , en bovinos lecheros de las cuencas de Taraco, Progreso y Cabanillas de la región de Puno.....	69
4.2. Coexistencia de los agentes infecciosos de las enfermedades reproductivas, VDVB y <i>N.caninum</i> , en bovinos lecheros de las cuencas lecheras de Taraco, Progreso y Cabanillas de la región Puno	77
4.3. Factores de Riesgo asociados al Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y <i>N.caninum</i> : edad, procedencia, sistemas de explotación, tipo de crianza y falta de conocimiento de las enfermedades por los criadores, en las cuencas lecheras de Taraco, Progreso y Cabanillas de la Región Puno.....	81
CONCLUSIONES	
RECOMENDACIONES	
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS y SIGLAS

ÍNDICE DE CUADROS:

CUADRO 1. Seroprevalencia del Virus de la Diarrea viral bovina (VDVB) en tres cuencas lecheras de la Región Puno. 2008.....	70
CUADRO 2. Seroprevalencia de <i>N. caninum</i> en bovinos lecheros de tres cuencas de la Región Puno.2008.....	73
CUADRO 3. Coexistencia de los agentes infecciosos VDVB y <i>N. caninum</i> en bovinos lecheros de tres cuencas lecheras de la Región Puno. 2008.....	77
CUADRO 4. Prueba de Tukey para bovinos seropositivos al VDVB, <i>N. caninum</i> y coexistencia de ambos, según edad y lugar de procedencia en tres cuencas de la Región Puno.....	81
CUADRO 5. Prueba múltiple de significación Tukey, para agentes Agentes infecciosos VDVB, <i>N. caninum</i> y coexistencia de ambos en bovinos lecheros seropositivos de tres cuencas lecheras de la región Puno.....	84

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Virus de la Diarrea Viral bovina.....	10
FIGURA 2. Estructura del virus de la Diarrea viral bovina.....	10
FIGURA 3. Manifestaciones clínicas y patogenia de DVB.....	14
FIGURA 4. <i>Neospora caninum</i>	32
FIGURA 5. Ciclo biológico de <i>Neospora caninum</i>	34
FIGURA 6. Aborto provocado por <i>Neospora caninum</i>	36
FIGURA 7. Obtención de sueros.....	59
FIGURA 8. Método de ELISA.....	60

ÍNDICE DE ANEXO

- CUADRO 1: Cálculos para la obtención del tamaño de muestra
- CUADRO 2: Tamaño de muestra por cuencas lecheras
- CUADRO 3: ANVA para bovinos seropositivos de los agentes Infecciosos VDVB, *N. caninum* y coexistencia de ambos según edad y lugar de procedencia en las cuencas lecheras de Taraco, Progreso y Cabanillas de la región Puno, 2008.
- CUADRO 4: ANVA para bovinos seropositivos de los agentes Infecciosos VDVB, *N. caninum* y coexistencia de ambos por hato lechero y por lugar de procedencia, 2008.
- CUADRO 5: Prueba de significación Tukey para bovinos seropositivos VDVB, *N. caninum* y coexistencia de ambos por Hato Lechero en tres cuencas lecheras de la Región Puno
- CUADRO 6: ANVA de efectos simples para la interacción, lugar de procedencia por agentes infecciosos en las cuencas lecheras de Taraco, Progreso y Cabanillas, 2008.
- CUADRO 7: Consolidado de los factores de riesgo para las enfermedades reproductivas DVB y neosporosis, en tres cuencas lecheras de la Región Puno, 2008
- CUADRO 8: Factor de riesgo (OR) tipo de explotación extensiva
- CUADRO 9: Factor de riesgo (OR) sistema de crianza mixta
- CUADRO 10: Factor de riesgo (OR) establos sin parideros.
- CUADRO 11: Factor de riesgo (OR) falta de conocimientos de las enfermedades por los criadores
- CUADRO 12: Factor de riesgo (OR) No separan animales enfermos
- CUADRO 13: Factor de riesgo (OR) deficiente control sanitario.
- Fotografías
- Ficha de campo
- Resultados ELISA

RELACIÓN DE SIGLAS

Ac	: Anticuerpo
Ag	: Antígeno
ADN	:Acido Desoxirribonucléico
CMSP	: Células mononucleares de sangre periférica
CP	. Citopático
DVB	: Diarrea Viral Bovina
D.O.	: Densidad óptica
ELISA	: Prueba de inmunoensayo ligado a la enzima
FNT	: Factor de necrosis tumoral
HTS	: High-throughput system
IHQ	: Inmunohistoquímica
IgM	: Inmunoglobulina M
IgG	: Inmunoglobulina G
IMA	: Inmunidad mediada por anticuerpos
IMC	: Inmunidad mediada por células
IL	: Interleucina
IFN	: Interferón
IFI	: Inmunofluorescencia indirecta
INEI	. Instituto nacional de estadística
INIA	: Instituto nacional de Investigación Agraria
nCP	: no citopático
ON	: Oxido de nitrógeno
PI	: Persistentemente infectados
PCR	: Reacción en cadena de la polimerasa
SERB	: Síndrome de la enfermedad reproductiva bovina
VDVB	: Virus de la diarrea viral bovina
SNC	: Sistema nervioso central
DIA-DRAP	: Dirección de información agraria-Dir. Reg. Agraria
SENASA	: Servicio de sanidad agraria
LABVETSUR	: Laboratorio veterinario de Sur

RESUMEN.

La investigación se realizó en las cuencas de producción láctea: Taraco en la provincia de Huancané, Progreso en el distrito de Asillo- Azángaro y la microcuenca de Cabanillas de la Región Puno, con el objetivo de determinar la seroprevalencia de dos agentes infecciosos del Síndrome de la enfermedad reproductiva bovina (SERB): Virus de la diarrea viral bovina (VDVB), *Neospora caninum*, y algunos factores de riesgo asociados, en los meses de enero a julio del 2008. Se obtuvieron muestras de sangre de 260 bovinos lecheros en producción, los sueros se conservaron en viales de 1,5 ml a -20°C y los análisis se realizaron en el Laboratorio Veterinario del Sur (LABVETSUR) de la ciudad de Arequipa. Se utilizó la prueba (Enzyme Linkled Inmunosorbent Assay) ELISA indirecta, para la detección de anticuerpos contra VDVB y *N. caninum*. Los datos fueron procesados con el sistema de análisis estadístico (SAS V9.0). Los resultados para la seroprevalencia del VDVB en Taraco fue de 65,94%, Progreso 58,49% y Cabanillas 25,0%. La seroprevalencia de *N.caninum*, en Taraco fue de 9,42%, Progreso 8, 49% y 0% para cabanillas. La coexistencia de ambos agentes en el huésped bovino, para Taraco fue de 5,07%, Progreso 5,66% y 0% para Cabanillas. Para los factores de riesgo: edad y lugar de procedencia, se utilizó el experimento factorial 3x2 conducido bajo un diseño bloque completo al azar, Los resultados significativos se llevaron a la Prueba

de Tukey y ANVA y efectos simples; el factor edad no fue significativo, lugar de procedencia por agentes infecciosos resultó significativo ($p \leq 0,05$). Los resultados ODDS RATIO (OR) para los factores de riesgo asociados; ha demostrado el riesgo de presentación del VDVB y de *N.caninum* frente al factor, sistema de explotación extensiva (OR=1,02) y crianza mixta (OR=1,44); alto riesgo para *N. caninum* frente al factor: no se cuenta con parideros (OR=3,85), desconocimiento de enfermedades por los criadores (OR=1,55), influencia del factor: cuando no se separa animales enfermos (OR=1,64) y deficiente control sanitario (OR=1,02) para *N.caninum*. El estudio confirma elevada seroprevalencia para el VDVB, bajo para *N.caninum* y coexistencia de ambos en bovinos lecheros de las cuencas de Taraco, Progreso y Cabanillas de la Región Puno.

Palabras clave: Bovino, Virus diarrea viral bovina (VDVB), *Neospora caninum*, factor de riesgo OR.

ABSTRACT

The research was conducted in the milk production regions: Taraco in the Huancané provinces, Progreso in the district of Asilo, Azángaro, and Cabanillas in the Puno region. This study aimed at determining the seroprevalence of the two infections agents of the bovine reproductive sickness syndrome (BRSS): the bovine viral diarrhea virus (BVDV), *Neospora caninum*, and some factors of associated risks from the months of January to July of 2008. Blood samples were taken from 260 bovines that were producing milk; the serums preserved in vials of 1.5ml. to 2.0ml. and the analyses were carried out in the Veterinarian Laboratory of South (LBVETSUR) in the city of Arequipa. The indirect ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) test was applied in order to determine antibodies against BVDV and *N. caninum*.

The data were processed by means of the Statistics analysis system (SAS V 9.0). The results for the seroprevalence of BVDV in Taraco were of 65,94%, Progreso 58,49%, and Cabanillas 25,0%. The seroprevalence of *N. caninum* in Taraco was of 9,42%, Progreso 8,49%, and 0% for Cabanillas. The coexistence of both agents in a bovine host, for Taraco was of 5,07%, Progreso 5,66%, and 0% for Cabanillas. For the risk factors: age and place of origin, a factorial experiment 3 x 2 was carried out through a complete block design at random; the significant results were tested by means of the Turkey and ANOVA tests and

simple effects. The age factor was not relevant, place of origin by infectious agents proved to be significant ($p \leq 0,05$). The ODDS RATIO (OR) results for the associated risk factors have shown the presence of the BVDV and the *N. caninum* faced to the exposed factor of extensive exploitation system (OR=1,02); mixed breeding (OR=1,55), influence of the factor m when there are no fertile bovines (OR=3,85), breeders' lack of knowledge about sicknesses (OR=1,55), influence of the factor: when sick animals are not separated (OR=1,64), and poor sanitary control (OR=1,02). The study confirms the high seroprevalence for the VDVB, low seroprevalence for *N.caninum* and coexistence of both milk bovines in the production regions of Taraco, Progreso and Cabanillas of Region Puno.

Key words: Bovine, Bovine viral diarrhea virus, *Neospora canium*, OR (ODDS RATIO) Risk Factor.

INTRODUCCIÓN.

La ganadería bovina en el Perú es una actividad importante de la producción agropecuaria, la población bovina a nivel nacional es de 5'101,895 de cabezas y a nivel regional se cuenta con 610,630 vacunos. Las principales microcuencas lecheras de la región son: Azángaro, Puno, Melgar, Huancané y San Román con poblaciones de 107,040; 92,900; 89,220; 61,060 y 29,210 vacunos respectivamente; la mayor producción lechera asciende a 1'226132 TM. Proveniente de zonas reconocidas por su tradición ganadera y elevado potencial lechero como Melgar, Azángaro y Juliaca-Huancané (DIA-DRAP, 2006). Esta actividad productiva se ve afectada por problemas infecciosos que al ocasionar trastornos reproductivos, inducen a cuantiosas pérdidas en los hatos lecheros, siendo éste un factor limitante para el desarrollo ganadero. (Rivera *et al.*, 2000). La dificultad en identificar las causas de las enfermedades en el ganado bovino, es debido a su múltiple etiología, dentro de los cuales los agentes infecciosos que causan el Síndrome de la Enfermedad Reproductiva Bovina (SERB) producen pérdida del producto de la concepción en cualquier etapa de su desarrollo.

Los procesos infecciosos de mayor relevancia en el País son las diarreas, infecciones respiratorias y problemas reproductivos de origen viral y

parasitario en el ganado lechero; entre ellos adquiere importancia el Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) que al parecer con la importación de bovinos en la década de los años 1960-70; se presentaron en Lima y el Valle Mantaro vacunos descendientes de vacas importadas con severos cuadros diarreicos y que mediante exámenes de diagnóstico confirmaron la presencia del (VDVB). Actualmente el virus es prevalente en el país y está asociado a problemas reproductivos y respiratorios (Rivera, 1993). Otra enfermedad reproductiva de importancia es la Neosporosis; ha sido descrita hace más de una década y en la actualidad es considerada como una de las causas de aborto y mortalidad neonatal en el ganado vacuno, siendo el agente causal *Neospora caninum*, (Andresen, 1999).

Una característica importante del parásito, es que puede permanecer latente, de allí que la transmisión vertical o transplacentaria es un factor importante en el establecimiento y diseminación del parásito; y la cría puede convertirse en portador clínicamente asintomático y así transmitir la infección a las siguientes generaciones (Anderson *et al.*, 2000).

Investigaciones realizadas en vacunos de las cuencas lecheras del Perú, demuestran que Diarrea viral bovina (DVB) y neosporosis están ampliamente difundidos y son responsables de fallas reproductivas, alcanzando prevalencias superiores al 50% (Rivera *et al.*, 2000). Al realizar estudios relacionados a salud o enfermedad del ganado lechero es importante considerar los factores asociados de riesgo de las enfermedades que se sospecha que están expuestos; en el presente, se ha aplicado el Estudio Observacional ODDS Ratio (OR) que ha permitido estimar que determinantes o factores riesgo se encuentran más asociados a la presentación de las enfermedades DVB y

Neosporosis en bovinos lecheros de las cuencas más importantes del altiplano de la región Puno.

A pesar de la existencia de algunos estudios en esta zona del altiplano, aún falta mucho por investigar sobre todo en bovinos lecheros, cuya crianza se encuentra en manos de pequeños ganaderos y comunidades campesinas, teniendo como principales problemas las enfermedades de tipo respiratorio, diarreico y reproductivo. Razones que han permitido en el presente estudio, determinar la seroprevalencia de los agentes de las enfermedades reproductivas: Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y *Neospora caninum* y al mismo tiempo determinar algunos factores de riesgo asociados a las mismas, considerando entre ellos: edad, procedencia, sistemas de explotación, tipo de crianza y conocimiento de las enfermedades por los criadores en el ganado lechero de las cuencas de Progreso del distrito de Asillo, Azángaro; Taraco de la provincia de Huancané y la microcuenca de Cabanillas de la provincia de San Román de la región de Puno.

CAPITULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACION.

1.1. PROBLEMA.

Los problemas de etiología infecciosa que interrumpen la preñez, resultan en grandes pérdidas económicas, lo que hace fundamental identificar las causas que ocasionan fallas reproductivas, que mayormente ocurren en la etapa embrionaria; siendo este el periodo más crítico del desarrollo, al ocasionar pérdidas fetales, malformaciones congénitas, nacimiento de crías débiles o nacimiento de crías persistentemente infectados. En el Perú falta mucho por conocer los factores infecciosos y no infecciosos que intervienen en pérdidas embrionarias y fetales. Estudios recientes indican que algunos agentes infecciosos como el VDVB y *N. caninum* son los que mayormente causan problemas de fertilidad, reproductivos y de aborto en ganado lechero ocasionando significativa pérdida económica, por su presentación en forma subclínica (Rivera, 2000). La misma autora al realizar estudios en vacunos lecheros de crianza intensiva en la cuenca de Lima, señala una prevalencia de infección subclínica del 60% y una ocurrencia del 49% de abortos; para el valle de Mantaro - Junín (Contreras *et al.*, 2001) refiere una prevalencia del 27% y para Huancayo 41.3%; (Manrique, 2002) demostró para la cuenca lechera de

Arequipa 65% de prevalencia para DVB; en la provincia de Melgar-Puno (Quispe, 2006) determinó 47% de prevalencia; al analizar sueros de terneros de 10 y 23 meses de edad en un hato en proceso de erradicación del valle de Santa Rita de Sigwas (Alfonso *et al.*, 2006) reportó una prevalencia de 6,8%. En un rebaño mixto de la provincia de Calca –Cuzco. (Cabello *et al.*, 2006) encontró una seroprevalencia de 81,8%, (Manrique, 2007) para el año 2005 señala una prevalencia de 78,2% para la cuenca de Arequipa. (Huamán, 2007) al realizar un estudio de DVB en animales portadores de 204 hatos lecheros de la Irrigación Majes-Arequipa, determinó una prevalencia de 98,0 %.

Neosporosis es otra enfermedad de relevancia que causa aborto y mortalidad neonatal en el ganado bovino, puede presentarse en forma epidémica o endémica en un hato. Reportes de las principales cuencas lecheras, señalan prevalencias de 57% para Arequipa (Andresen, 1999); 42,9% para Cajamarca (Cabrera *et al.*, 2000); Lima 29.6% (Silva, 2002); Amazonas 40,38% (Quevedo, 2003), provincia de Melgar 18,1% (Atoccsa *et al.*, 2005); para la cuenca lechera de Arequipa (Manrique, 2007) determinó 66,6% y para el CIP Chuquibambilla la prevalencia fue del 15,28% (Huarachi,2008).

La región Puno cuenta con el 12% de la población bovina de todo el Perú, 5' 101,895 y 84,910 animales de ordeño que aporta el 2% de la producción lechera nacional: 1'226,132 TM/año (SENASA, 2006), esta explotación pecuaria se ve limitada por problemas sanitarios; la mayoría de los pequeños criadores desarrollan una crianza mixta y extensiva, caracterizada por la falta de medidas de prevención y control de enfermedades de tipo viral y parasitario, que repercute en la mortalidad neonatal, nacimiento de becerros débiles, persistentemente infectados, con crecimiento retardado y defectos

congénitos; infecciones agudas y subclínicas, bajas tasas de concepción, descenso en la producción láctea entre otros.

El Servicio Nacional de sanidad Agraria (SENASA) de Puno, en sus informes técnicos, reporta índices de aborto y descarte por problemas reproductivos en más del 10% en forma general para la Región Puno; sin embargo no existen estadísticas que señalen la ocurrencia real de enfermedades reproductivas muy a pesar que en los registros de notificación certifican casos positivos de Diarrea Viral Bovina (DVB) y Neosporosis en diferentes hatos de la región Puno.

La escasez de estudios de enfermedades reproductivas de tipo viral y parasitario, que afecta al ganado bovino de las cuencas lecheras de Progreso, Taraco y Cabanillas de la Región Puno, hace fundamental investigar esta problemática, y del mismo modo conocer que factores de riesgo que se encuentran asociado a estas enfermedades; razones que han permitido plantear la siguiente interrogante:

¿Cuál es la seroprevalencia de los agentes infecciosos y factores de riesgo asociados a las enfermedades reproductivas: Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y *Neospora caninum*, en ganado bovino lechero de las cuencas de Progreso, Taraco y Cabanillas de la región Puno?

1.2 OBJETIVO GENERAL.

Determinar la seroprevalencia de los agentes infecciosos: Virus de la diarrea viral bovina (VDVB), *Neospora caninum* y factores de riesgo asociados a las enfermedades reproductivas, en bovinos lecheros de la región Puno.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Estimar la seroprevalencia de los agentes infecciosos: Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y *Neospora caninum*, responsables de enfermedades reproductivas, en bovinos lecheros de las cuencas de Progreso, Taraco y Cabanillas de la región Puno.
- Determinar la coexistencia de los agentes infecciosos de las enfermedades reproductivas: Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y *N. caninum* en el ganado lechero de las cuencas de Progreso, Taraco y Cabanillas de la Región Puno.
- Identificar algunos factores de riesgo asociados al Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y *N.caninum* : Edad, procedencia, sistemas de explotación, tipo de crianza y falta de conocimiento de los criadores en las cuencas de Progreso, Taraco y Cabanillas de la Región Puno.

CAPÍTULO II.

MARCO TEORICO.

2.1. DIARREA VIRAL BOVINA (DVB).

2.1.1. Historia.

Diarrea viral bovina (DVB) se define como una enfermedad viral infecciosa del ganado que se manifiesta clínicamente por estomatitis aguda, gastroenteritis y diarrea. El agente Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) se aisló por primera vez en los Estados Unidos en el año 1946, está asociado a epizootias de una enfermedad aguda y a menudo fatal caracterizada por diarreas y lesiones erosivas del tracto digestivo. Actualmente se reconoce que este agente tiene una distribución mundial con una prevalencia que fluctúa entre 50% y 90%.

La denominación que recibió en un principio fue desafortunada debido a las múltiples y diversas manifestaciones que desarrolla el ganado infectado por este agente, así como el amplio espectro de formas de presentación asociadas con la infección por virus DVB. Desde el aislamiento inicial del agente las formas de presentación han sido muy controvertidas, ha evolucionado el conocimiento de múltiples formas clínicas y manifestaciones de la enfermedad como la capacidad del virus de suprimir las funciones del sistema inmune y su

compleja epidemiología (Reinhardt, 1992).

La introducción del virus DVB al Perú, al parecer fue con la importación de bovinos durante la década de 1960 – 1970. En los años 1962 a 1963, se presentaron en Lima y en el valle del Mantaro severos cuadros diarreicos en crías de vacas importadas, los estudios anatomopatológicos y serológicos confirmaron la presencia de diarrea viral bovina. (Rivera, 1993).

2.1.2. Etiología.

El agente etiológico es un virus clasificado dentro de la familia Togaviridae y el género Pestivirus, muy sensible a la temperatura, siendo inactivado en pocos minutos a 56°C y a un pH ácido. Antigénicamente se reconocen tres serotipos: Nueva York, Indiana y Oregón de los cuales el último se utiliza en la producción de vacunas, el virus DVB muestra una estrecha relación antigénica con el virus del cólera porcino, relación que se puede demostrar con pruebas serológicas y pruebas de reacción cruzada en vivo. El virus clásico de DVB entérica tiene distribución mundial (Lértora, 2003).

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB), morfológicamente corresponde a una partícula esférica de 30 a 60nm de diámetro. Es un virus envuelto con una cadena simple de ARN, compactado por una cápside proteica y rodeado por una membrana fosfolipídica, el genoma posee proteínas estructurales y no estructurales; las proteínas estructurales son p20, p14 ©, gp48 (EO), gp25 (E1), gp53 (E2).

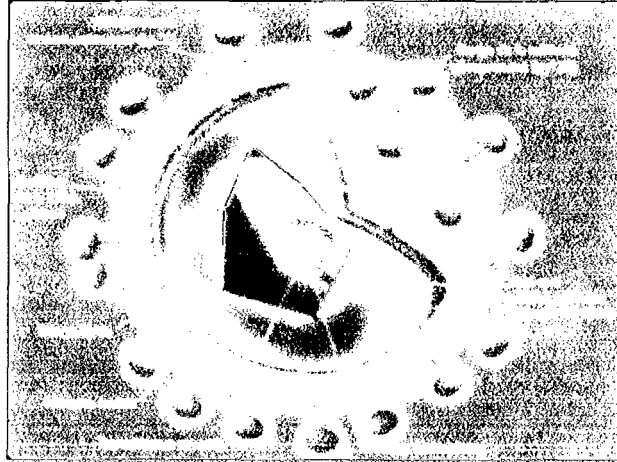


Figura 1. Virus Diarrea Viral Bovina.



Figura 2. Estructura del virus de la Diarrea viral bovina.

La glicoproteína estructural E2 es el mayor marcador para anticuerpos neutralizantes, los cuales confieren protección luego de la Infección o vacunación, además la naturaleza altamente variable de su región epítome sugiere que la proteína E2 es una fuente importante de variabilidad antigénica entre las diferentes cepas del VDVB. La glicoproteína estructural E0 forma una unión no covalente con E2 en la superficie viral. E0 puede encontrarse en el suero de animales persistentemente infectados. Las glicoproteínas no estructurales, son NS2-3, NS2 y NS3. La glicoproteína NS3 está asociada con la actividad lítica del virus, es una glicoproteína altamente conservada e inmunogénica y es la base de los anticuerpos desarrollados comercialmente.

Los anticuerpos contra NS3, NS2-3 no son neutralizantes, pero juegan un rol importante en la inmunidad mediada por células (Houe, 1995; Reinhardt *et al.*, 2002).

Clasificación viral.

El VDVB puede ser clasificado en 2 biotipos: citopático (**cp**) y no citopático (**ncp**). Su diferencia radica en la particularidad del primero de producir efecto citopático (cp) en un cultivo celular susceptible, el que se traduce en vacuolización citoplasmática y muerte celular, además se caracteriza por la expresión separada de las proteínas NS2 y NS3. El otro biotipo (ncp). no causa ningún efecto manifiesto en la monocapa celular que infecta y donde se multiplica, este biotipo es el más común en la naturaleza y expresa NS2-3 como una proteína fusionada sobre la base de su secuencia genética,(Corrales *et al.*,2003), el VDVB (ncp) se puede dividir en 2 genotipos: Tipo I y tipo II. El VDVB tipo I causa enfermedad leve, pero en vacas preñadas puede inducir abortos y fallas reproductivas además del nacimiento de animales persistentemente infectados (PI). El genotipo II está asociado con enfermedades respiratorias severas y cuadros hemorrágicos caracterizados por trombocitopenia, diarrea hemorrágica, epistaxis, petequias, equimosis en mucosas, anemia, pirexia, leucopenia y muerte. La diferencia de la virulencia entre el tipo I y el tipo II del VDVB y los mecanismos por los cuales el tipo II, causa enfermedad hemorrágica son desconocidos (Lértora, 2003).

2.1.3. Manifestaciones clínicas y patogenia.

La vía de infección puede ser horizontal o vertical. En la horizontal el virus penetra en forma directa por vía oro-nasal, conjuntiva o genital, a partir de bovinos clínicamente infectados o asintomáticos que eliminan virus por sus

secreciones nasales, saliva, sangre, semen, fecas y orina; en forma indirecta a través de vectores. En la forma vertical el virus llega al feto vía transplacentaria (Miller, 1994). Cuando se infecta una vaca preñada no inmune, se produce una enfermedad subclínica y el virus rápidamente atraviesa la placenta. Si la infección del feto ocurre durante la gestación temprana antes del día 60, puede causar reabsorción fetal, muerte embrionaria y aborto, lo cual se observa cuando la vaca regresa rápidamente al celo. Si la infección ocurre entre los 60 y 100 días de gestación, cuando el sistema inmune fetal está en desarrollo, éste no reconoce como extraño al virus y el animal se vuelve inmunotolerante, siendo portador del virus a lo largo de su vida, los animales PI, son el principal reservorio del VDVB, (Cebrián, 2004). Si la infección ocurre entre los días 100 a 150 de gestación, puede provocar el nacimiento de terneros débiles con alteraciones congénitas, ataxia, hipoplasia cerebelar, lesiones oculares como degeneración de la retina, hipoplasia y neuritis del nervio óptico. La infección si ocurre luego del día 150, cuando el sistema inmune se encuentra desarrollado no se produce aborto y el animal es capaz de producir anticuerpos contra el VDVB las crías nacen sanos y no son portadores del virus (Betancur *et al.*, 2007).

La principal ruta de infección post natal es la oro-nasal, luego del ingreso del virus, éste se replica inicialmente en la mucosa alrededor del sitio de entrada lo cual lleva a ulceración y la consecuente salivación o descargas nasales, posterior ocurre una diseminación sistémica el cual puede ser como virus libre o bien asociado a células, principalmente linfocitos y monocitos. El animal enferma, debido a que el VDVB daña el tejido epitelial del sistema gastrointestinal, respiratorio y tegumentario. El virus posee afinidad por el tejido

linfoide siendo posible detectarlo en células del timo, linfonódulos, placas de Peyer, tonsilas y bazo, los primeros tejidos en infectarse son el epitelio del tracto respiratorio y tonsilas desde donde se disemina a todas las superficies epiteliales y tejido linfoide (Ridpath, 1996).

Las infecciones del VDVB en animales PI, conducen al síndrome de DVB, luego de un periodo de incubación de 5 a 7 días. La presentación es desde una forma subclínica o leve de gran morbilidad y baja mortalidad, que se caracteriza por fiebre, leucopenia, inapetencia, diarrea leve con curación rápida y producción de anticuerpos neutralizantes; la forma aguda de la enfermedad, provoca depresión, anorexia, diarrea a menudo hemorrágica, disnea, descarga oculonasal y ocasionalmente erosiones bucales, además hay leucopenia, linfopenia y neutropenia, lo que potencia la acción de otros microorganismos patógenos bacterianos y vírales. Puede presentarse cojera, inflamación de la piel y en tejidos subyacentes de la pezuña, lo que lleva a una baja en la producción láctea. Desarrollan anticuerpos neutralizantes en 3 a 4 semanas luego de la infección y se considera que persisten el resto de la vida, aunque el título disminuye con la edad (Lértora, 2003).

La infección aguda altera también la función ovárica y reduce la fertilidad. El VDVB causa ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de células de la granulosa y de los oocitos. Es posible detectar el antígeno viral en los macrófagos y células del estroma ovárico, entre los días 6 a 60 post infección, y en células foliculares y oocitos en distintos estados de maduración. Las infecciones agudas ocasionan un retraso en el desarrollo de los folículos pre-ovulatorios durante dos ciclos estrales consecutivos. En los machos el VDVB infecta el tejido testicular estableciendo una infección persistente en los

túbulos seminíferos, y es excretado continuamente por un periodo de 7 a 22 meses, por lo tanto el VDVB puede ser aislado a partir de semen, el cual es de baja calidad y potencialmente puede infectar a hembras seronegativas (Moore, 2005). La infección por VDVB tipo II, se caracteriza por la presentación de fiebre, diarrea hemorrágica, epistaxis, petequias, equimosis diseminadas en la conjuntiva, mucosa bucal, tejido subcutáneo, peritoneo parietal y visceral, mesenterio, pared del estómago, intestino, riñones, vesícula biliar, bazo, vejiga, diafragma, pleura parietal, pericardio, miocardio, nódulos linfáticos, y meninges. También hay neumonía y pleuresía fibrinosa, trombocitopenia, leucopenia y finalmente la muerte (Rivera, 1993).

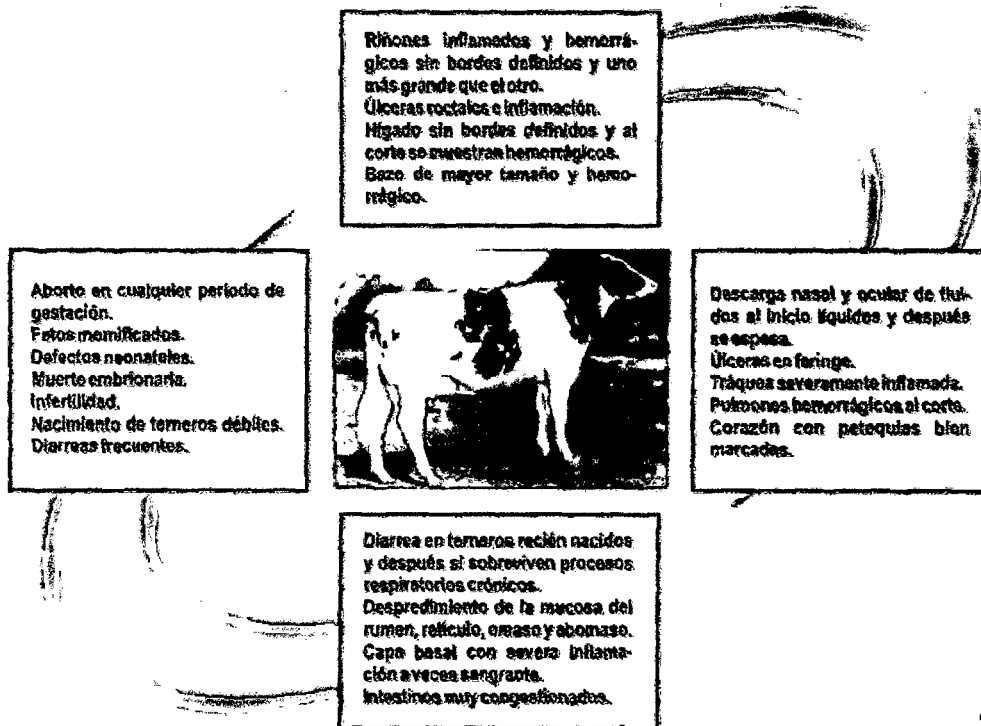


Figura 3. Manifestaciones clínicas y patología

El VDVB es responsable de originar lesiones como resultado de la interacción de factores como: cepa y biotipo viral, edad y estado inmune del

hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes; sin embargo, la presencia de cepas no citopáticas es más complicado y obliga evidenciarlo mediante técnicas como la inmunofluorescencia o la inmunoperoxidasa, lo que hace que el proceso sea largo, incluso demora semanas para obtener el resultado e impide un resultado rápido (Reinhardt *et al.*, 2002).

Infección subclínica. La mayoría de las infecciones son subclínicas o de carácter moderado, con fiebre, descarga oculonasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad. Se desarrollan anticuerpos neutralizantes de 14 a 28 días post-infección y consecuentemente la protección contra reinfecciones por cepas homólogas del virus, es de por vida (Lértora, 2003).

Infección post natal de vacas no gestantes. Tras un periodo de incubación de 5 a 7 días se produce fiebre y leucopenia, algunos animales de explotaciones susceptibles pueden presentar diarrea, los otros pueden tener un flujo ocular y nasal, estomatitis erosivo y en las vacas lecheras producen un considerable descenso en la producción de leche (Contreras *et al.*, 2000).

Infección aguda severa. Inicialmente se prestaba poco interés a las infecciones agudas, dada su baja mortalidad, sin embargo, cada vez son más frecuentes los informes de infección aguda severa de elevada morbilidad y mortalidad asociada con virus de alta patogenicidad, caracterizada por fiebre elevada, signos respiratorios, diarrea, tormenta de abortos, caída en la producción de leche y muerte súbita, en otros casos, la exposición a cepas de alta virulencia ocasiona una enfermedad con signos clínicos y lesiones anatomopatológicas similares a la forma de la enfermedad de las mucosas (Barrientos, 2002).

Síndrome hemorrágico. El VDVB genotipo II se asocia a una condición fatal

denominada síndrome hemorrágico. Se caracteriza por presentar mucosas anémicas con hemorragias petequiales y equimóticas, hemorragia en varios sistemas orgánicos, diarrea sanguinolenta, epistaxis, sangrado constante en los sitios de inyección, anemia, leucopenia, trombocitopenia y muerte. Esta signología se atribuye a trombocitopenia y alteración de la función plaquetaria; bovinos infectados con el VDVB presentan altas concentraciones de prostaglandina E y óxido nítrico, hay una fuerte correlación entre la fase trombocitopénica y la viremia; además, la recuperación del recuento plaquetario está estrechamente relacionada con la aparición de anticuerpos neutralizantes, lo que sugiere que este síndrome es el resultado de una alteración y consumo de los trombocitos periféricos, más que una alteración en su producción (Houe, 1995).

Inmunodepresión. El VDVB ocasiona leucopenia y altera las funciones de los leucocitos, aumentando la patogenicidad de microorganismos coinfectantes, tiene una fuerte afinidad por el tejido linforreticular, ocasionando necrosis y atrofia de dichos tejidos; en el tejido linfoide el virus se localiza principalmente en las células del estroma, incluyendo macrófagos y células de soporte. Estas células elaboran citoquinas esenciales para el normal desarrollo y maduración de linfocitos, lo que sugiere que la necrosis linfoide es secundaria al trastorno del microambiente que proveen las células intersticiales y no a la acción directa del virus sobre los linfocitos (Cebrián, 2004; Obando *et al.*, 2006).

Enfermedades respiratorias. El VDVB origina inmunodepresión sistémica y pulmonar, aumentando la patogenicidad de los restantes agentes respiratorios, además, se ha demostrado que ciertos virus de la diarrea viral bovina actúan como agentes primarios de neumonías.

Trastornos reproductivos. El mayor impacto económico de la infección con el VDVB son los trastornos reproductivos. Los pestivirus poseen un especial tropismo por las células del sistema inmune y células epiteliales de los tractos reproductivo, entérico y respiratorio ocasionando como consecuencia de su replicación en estas células un conjunto de patologías dependiendo de la cepa viral y momento en que ocurre la infección durante la gestación (Contreras, 2001).

La infección aguda altera la función ovárica y reduce la fertilidad. El VDVB causa ooforitis intersticial no purulenta, con necrosis de células de la granulosa y de oocitos, es posible detectar el antígeno viral en los macrófagos y células del estroma ovárico, entre los días 6 a 60 post infección, y en células foliculares y oocitos en distintos estados de maduración. Además, las infecciones agudas ocasionan un retraso en el desarrollo de los folículos pre-ovulatorios durante dos ciclos estrales consecutivos, reducción de los niveles de estradiol durante la fase folicular y disminución o ausencia de las oleadas de hormona luteinizante pre-ovulatoria o retraso en el tiempo del pico de hormona luteinizante pre-ovulatoria (Celedón *et al.*, 1997).

No está claro de que manera el VDVB altera la función ovárica, aunque es posible que actúe por uno o más de los siguientes mecanismos: 1) inadecuado soporte gonadotrófico por infección de la glándula pituitaria. 2) la leucopenia que acompaña a la infección aguda puede ser el reflejo de una deficiencia en la población de leucocitos ováricos, células vitales para la dinámica folicular normal. 3) la necrosis de las células de la granulosa de los folículos pre-ovulatorios afecta negativamente la secreción de estradiol y consecuentemente suprime la liberación de hormona luteinizante y retrasa o impide la ovulación. 4)

la disfunción ovárica puede ser el resultado de la ooforitis y de los cambios en la concentración de citoquinas ováricas; 5) la reducción de los niveles de estradiol durante la fase folicular puede perjudicar el comportamiento estral e impedir la ovulación o reducir el número y calidad de oocitos liberados (Stahl *et al.*, 2002).

El impacto del VDVB durante la preñez se divide en base a las manifestaciones clínicas de la infección durante intervalos de tiempo específicos:

Etapa embrionaria (0-45 días): Las infecciones de hembras susceptibles próximas al apareamiento ocasionan muerte embrionaria y repeticiones de celo, se desconoce cómo los biotipos ncp, afectan al embrión, el virus no tiene efecto sobre el crecimiento y desarrollo de los embriones hasta el día 8-9, momento en que pierden la zona pelúcida y se vuelven susceptibles. El resultado de la infección puede ser citolítico o no, ambos terminan en muerte embrionaria, aunque la infección no citolítica también puede causar daño cromosómico, resultando el desarrollo de malformaciones, por otra parte la replicación del virus en células oviductales puede alterar sus funciones biológicas como la secreción de factores embriotrópicos que soportan el desarrollo embrionario (Houe, 1995).

Día 15 a 100 días de gestación: Este período dar lugar a lesiones destructivas y retraso del desarrollo de órganos y tejidos, conduciendo a la muerte o bajo peso al nacimiento.

Día 100 a 150: de gestación la infección suele afectar la génesis de los ojos y el sistema nervioso central, apreciados en forma de hipoplasia cerebelar, y displasia de la retina (Contreras, 2001).

Día 125 a 175 de gestación: Este período representa el comienzo de la inmunocompetencia fetal y del estado de organogénesis, momento en el cual se presenta un gran porcentaje de alteraciones del desarrollo, se pueden producir abortos pero éstos son más frecuentes en las etapas tempranas de gestación, se pueden observar distintos tipos y grados de malformaciones tales como hipoplasia cerebelar, microencefalia, hipomielogénesis, hidrocefalia, atrofia o hipoplasia de timo, cataratas, microftalmia, degeneración de retina, hipoplasia y neuritis del nervio óptico, alopecias, hipotricosis, hipoplasia pulmonar, braquignatismo, artrogriposis (Lértora,2003). El retraso del crecimiento y deformidades esqueléticas, serían por el daño celular del virus o la destrucción de las células infectadas por el sistema inmune fetal. La inmunohistoquímica revela abundante cantidad de antígeno en la glándula pituitaria, hipotálamo y tiroides del ternero infectado in útero con trastornos severos y generalizados de la osteogénesis que sugiere que el virus altera el metabolismo hormonal fetal originando trastornos del desarrollo esquelético. (Obando *et al.*, 2006).

175 días de gestación en adelante: el resultado de esta infección puede ser el nacimiento de la cría inmunotolerante, el virus infecta persistentemente a estos animales, son incapaces de formar anticuerpos contra la cepa infectante y son los principales reservorio del virus (Corrales *et al.*, 2003).

Infección persistente. En las explotaciones donde se ha apreciado el virus puede ser infectado un alto número de terneros nacidos en la siguiente época de partos, la mortalidad suele alcanzar el 50% en el primer año de vida, en los terneros se observa: fiebre crónica, anorexia intensa, diarrea acuosa, flujo nasal y estomatitis erosiva o ulcerativa, el estudio histológico confirma la

necrosis epitelial vista y evidencia una destrucción masiva del tejido linfoide (Lértora, 2003).

Enfermedad de las mucosas.

La enfermedad de las mucosas es otra de las manifestaciones clínicas provocadas por VDVB. Esta enfermedad se presenta de forma aguda cuando un animal persistentemente infectado durante la vida intrauterina con un biotipo ncp se sobreinfecta con una cepa antigénicamente homologa pero de tipo cp. El biotipo citopático se origina por mutación a partir del biotipo no citopático; ya sea por depresión de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral (Morales, 2001).

Generalmente, ésta enfermedad se presenta en animales de 6 a 18 meses, aunque también se ha reportado en terneros de 5 semanas y en vacas de más de 5 años de edad, provocando un 100% de mortalidad. Los casos pueden presentarse en el transcurso de varios días, o aparecer esporádicamente en varias semanas a meses (Stahl *et al.*, 2002).

Los animales con enfermedad de las mucosas se presentan deprimidos, con pirexia (40.5-41°C), anorexia, sialorrea, los movimientos ruminales están ausentes y luego de 2 a 3 días de iniciados estos síntomas se producen una diarrea acuosa y profusa a veces sanguinolenta; se presentan lesiones erosivas en la mucosa bucal, lengua, faringe, fosas nasales y morro; generalmente hay descarga nasal mucopurulenta y a veces lagrimeo y edema cornea!. En algunos casos hay claudicación producto de la laminitis, coronitis, y lesiones erosivas de la hendidura interdigital. La deshidratación y debilidad son progresivas y la muerte ocurre 5 a 7 días después de iniciados los signos (Zanabria, 2000). Cuando la sobre - infección de un animal inmunotolerante

portador del VDVB ocurre con una cepa citopática pero antigénicamente diferente, heteróloga, se desencadena la enfermedad de las mucosas de tipo crónica, la que se manifiesta con inapetencia, diarrea intermitente y emaciación progresiva; el pelaje se presenta hirsuto, deformación de las uñas y lesiones erosionadas con escaras a nivel del periné, escroto orificio prepucial y vulva, entre piernas, en el rodete coronario y a nivel de la hendidura interdigital, que pueden hacerse extensivas al resto de la piel. Los casos crónicos pueden sobrevivir por varias semanas a meses y finalmente la muerte ocurre por inanición crónica, neumonía y otras enfermedades (Zacarias, 2002).

2.1.4. Epidemiología.

Prevalencia de la infección. Esta enfermedad tiene una distribución mundial y la infección tiende a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas; la mayoría de las encuestas en los diferentes países alcanza niveles de 0,5 a 2% de bovinos persistentemente infectados (PI) y 60 a 80% de bovinos seropositivos (Houe, 1995).

Hospederos. Los Pestivirus infectan naturalmente sólo a los ungulados del Orden Artiodáctila. Los Pestivirus rumiantes infectan a porcinos, bovinos, ovinos, caprinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos, ciervos y rumiantes silvestres, estas consideraciones deben tomarse en cuenta a la hora de implementar un programa de control, ya que los pestivirus cruzan la barrera de especie (Lindberg *et al.*, 1999).

Fuente de infección. La principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los bovinos PI. Ellos eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades del virus en secreción nasal, saliva, orina, materia fecal, lágrimas, semen y leche. Los animales con infección aguda también son

fuentes de infección; aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos períodos (Lértora, 2003).

Modos de transmisión. La transmisión puede ser vertical u horizontal, por contacto directo o indirecto.

Transmisión vertical. La infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. Si el feto es infectado por biotipos ncp antes de adquirir competencia inmunológica, antes del día 125 de gestación, aproximadamente, desarrollará una infección persistente, que continúa durante la vida post natal clínicamente inaparente excretando el virus y diseminándolo a un amplio rango de hospederos. La transmisión vertical también ocurre luego de la transferencia embrionaria si el recipiente es PI, o la vaca donante es PI y no se realiza el correcto lavado del embrión (Contreras *et al.*, 2000).

Transmisión horizontal. La transmisión puede ser por inhalación o ingestión de saliva, descarga oculo-nasal, orina, leche, secreciones uterinas, fluido amniótico, placenta y animales infectados. Se ha demostrado experimentalmente la transmisión por vía aérea a corta distancia entre bovinos PI a bovinos centinelas. Aunque la transmisión aerógena no es la principal ruta de transmisión, puede tener consecuencias graves cuando cepas de alta virulencia afectan a poblaciones susceptibles y con alta densidad animal (Zanabria, 2000).

El semen crudo o criopreservado de toros PI o con infección aguda es una importante vía de transmisión horizontal, para evitar el uso de estos animales, en los centros de inseminación se debe recurrir al aislamiento viral y a un período de cuarentena que supere la fase aguda de la infección, sin embargo,

un toro con infección aguda puede escapar al aislamiento viral en sangre, superar el período de cuarentena y seguir siendo una amenaza. El virus puede eliminarse en semen por un corto período más allá del último día de viremia y se han detectado toros fuertemente seropositivos no virémicos que eliminan persistentemente el virus. Esta última situación se presenta cuando la infección ocurre en la pubertad, durante la formación de la barrera inmunológica hemato-testicular, permitiendo al virus replicarse dentro del testículo y evadir la respuesta inmune, por lo tanto, es esencial un examen del eyaculado, antes que el semen sea distribuido (Lértora, 2003). También es posible la transmisión por transferencia embrionaria. La mayoría de las células del tracto reproductivo de la hembra son permisibles al virus; además, los cultivos celulares y el suero fetal bovino utilizados en transferencia embrionaria pueden estar contaminados. Los embriones producidos "in vivo", con zona pelúcida intacta, recolectados de vacas, natural o artificialmente infectadas, no actuarían como vectores para la transmisión de la enfermedad si se cumple con los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina recomendados por la Sociedad Internacional de Transferencia embrionaria; la presencia de una zona pelúcida intacta y los procedimientos de lavado, no garantizan que los embriones estén libres del virus, ya que pueden desarrollarse en oocitos infectados (Rivera,2003), se ha demostrado que los oocitos soportan la replicación del VDVB, pudiendo ingresar al oocito en forma directa y a través de las células del cumulus, las cuales son susceptibles al virus y están en estrecho contacto con el oocito por medio de procesos citoplasmáticos, no se ha demostrado si los oocitos infectados son capaces de desarrollarse hasta la ovulación, pero no debe descartarse el potencial de las células germinales para

transmitir el VDVB. Los embriones producidos "in Vitro" son fuente potencial del VDVB. La zona pelúcida de embriones in Vitro presenta alteraciones estructurales y bioquímicas permitiendo al virus penetrar hasta aproximadamente 50% de su espesor, de manera que los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina no eliminan el virus (Reinhardt *et al.*, 2000; Lértora, 2003).

Experimentalmente se han demostrado vías de transmisión indirecta como el uso de agujas, mocheta, palpación rectal, la acción de insectos hematófagos, minutos después de haber estado en contacto con animales PI. Sin embargo, su importancia práctica aún no está clarificada, ya que es un virus que se inactiva rápidamente por el calor, desecación, luz ultravioleta, detergente, solvente orgánico y pH que exceda el rango de 5,7 a 9,3; otro modo de transmisión es el uso de vacunas a virus vivo modificado o vacunas contaminadas (Houe, 1995).

Transmisión entre rebaños. La forma de introducir el virus a un rebaño susceptible es a través de la adquisición de bovinos PI o hembras que transportan fetos PI, otras vías de introducción son: el uso de vacunas vivas, semen contaminado, cohabitación con ovinos, transferencia embrionaria y el contacto con bovinos con infección aguda (Houe, 1995).

Transmisión dentro del rebaño. La tasa de transmisión dentro del rebaño depende de la forma de introducción del virus, al introducir un animal PI a un rebaño, la transmisión a animales susceptibles ocurre rápidamente a la mayoría de los animales del rebaño, por el contrario, cuando la infección se inicia por un bovino con infección aguda o por alguna otra vía que inicie una infección aguda, la transmisión es de corta duración y solo incluye un pequeño

porcentaje del rebaño, el sistema de producción y la virulencia de la cepa también participan en la tasa de transmisión (Barrientos, 2002).

2.1.5. Diagnóstico.

Puede realizarse un diagnóstico mediante el historial clínico, examen de los registros de producción, signos clínicos y las lesiones microscópicas, el diagnóstico se basa en el aislamiento del virus en cultivos celulares, detección del antígeno vírico en los tejidos y en la serología de sangre y tejidos recogidos en la necropsia, así mismo los sueros pareados tomados en las fases agudas y convalecencia pueden examinarse mediante técnicas serológicas (Celedon *et al.*, 1997).

Serología. La distribución de anticuerpos en los distintos grupos de edades de rebaños con animales PI y sin animales PI, determina que existan 5 fases en el ciclo de infección.

El análisis serológico de una pequeña muestra de sangre tomada al azar en terneros de 6 a 12 meses de edad permite distinguir rebaños con infección activa, de rebaños sin bovinos PI, con un alto grado de seguridad, se pueden cometer errores de clasificación cuando los rebaños poseen animales PI muy jóvenes, que no han tenido tiempo de infectar a los animales seronegativos. Cuando los sistemas de explotación y la virulencia de la cepa permiten una diseminación lenta, o si se toma la muestra de animales menores de 6 meses, los cuales tendrán anticuerpos calostrales; el examen deberá repetirse unos meses después (Lértora, 2003).

Medir el nivel de anticuerpos en leche almacenada en tanques también permite determinar el status infeccioso del rebaño y es ampliamente empleado en países que están controlando la enfermedad, sin embargo, este método no

distingue entre rebaños con animales PI y rebaños donde dichos animales han sido recientemente eliminados, debido a que los títulos de anticuerpos en leche declinan lentamente. Se recomienda el uso de este método en las fases finales de un programa de erradicación y vigilancia de rebaños libres (Contreras *et al.*, 2000; Dieguez *et al.*, 2008).

Los métodos de diagnóstico utilizados son: prueba de ELISA, para la detección de anticuerpos y antígenos virales, aislamiento del virus en cultivos celulares con el sistema microlitro multi-well. Detección de antígenos mediante inmunohistoquímica (IHQ); detección del ácido nucleico viral mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) entre otros (Williams, 1999).

2.1.6. Prevalencia de Diarrea viral bovina (DVB).

A nivel internacional:

La diarrea viral bovina (DVB) se describió por primera vez en el año 1946 a partir de la fecha se encuentra ampliamente diseminada a través del mundo en diferentes países con población bovina importante y tiende a ser endémica, señalando una prevalencia del 60 al 80% en ganado vacuno y del 1 al 2% está persistentemente infectado y el 70 al 90% presenta infección subclínica (Houe, 1999), el mismo autor señala para Estados Unidos una prevalencia de 65%, Reino Unido 62,5%, Países escandinavos entre 55 al 100%, Dinamarca 78%, Suecia 41%, España 43,5%. Estudios de seroprevalencia en Chile, determinan para la región metropolitana 59,7%, IX región 77,8%, X región 69,2% en ganado lechero y 86% en ganado de carne; para cuatro predios de la zona de Temuco de 140 sueros analizados determina 25,17% de prevalencia (Barrientos, 2010), para Finlandia y Noruega la prevalencia es del 50 al 90%, en España los animales infectados varía de 43,5% a 65,4% (Corrales *et*

al.,2003), para Vietnam del Sur la prevalencia fue de 78,93% (Duong,2004), en Tailandia se estimó 73% de prevalencia (Kampa *et al.*, 2004), para el estado de Cojedes, Venezuela se determinó una infección subclínica del 50 al 90% en ganado vacuno adulto (Obando,2006), en Nueva Zelanda se determina 14,6% de prevalencia en ganado lechero y 14% de anticuerpos en tanques de leche (Hever *et al.*,2007), en 81 establos lecheros de Brasil se determinó una prevalencia de 14,8% en terneros PI (Dieguez *et al.*,2008), durante un programa de erradicación del VDVB en Indiana-EE.UU. la seroprevalencia fue del 0,3% (Progranichniy *et al.*,2008).

A nivel nacional.

Estudio epidemiológico de infecciones virales en un sistema de crianza mixta a través de la detección de anticuerpos contra el Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en la comunidad de Yanque, provincia de Caylloma – Arequipa demostró una prevalencia del VDVB en ovinos de 40%, seguido de alpacas con 14% y llamas 10% (Manchego *et al.*, 1998).

La prevalencia varía en los diferentes países, pero la enfermedad tiende a ser endémica, de modo que entre el 50 a 60% del ganado presenta anticuerpos contra VDVB y entre 1 al 2 % está persistentemente infectado (PI) (Houe, 1999), en una investigación de detección de anticuerpos contra el VDVB, en muestras de leche de bovinos del valle de Mantaro, Jauja, Concepción y Huancayo, realizada en 18 hatos lecheros mediante; ELISA indirecta y virus de neutralización, determinaron que él 72.4% de animales muestreados presentaron anticuerpos contra VDVB en leche, y la mayor prevalencia fue para la provincia de la Concepción con 86.3%, seguido por Jauja 83.3% y Huancayo con 41.3% (Contreras *et al.*, 2001).

Al investigar agentes abortogénicos en bovinos lecheros del Valle de Lima, se analizaron 29 fetos abortados y muestras de suero sanguíneo procedentes de 9 hatos lecheros, encontrando que el 20.7% de fetos presentaban antígeno VDVB y el 69.0% de vacas que abortaron presentaron anticuerpos contra VDVB (Rivera, 1993). En una investigación de la distribución del virus de la diarrea viral bovina (VDVB), en tejidos de un bovino PI demuestra que el antígeno viral, fue detectado en el citoplasma de las células epiteliales, células del sistema linforeticular de los tejidos frescos. La amplia distribución del antígeno viral en los tejidos del animal especialmente en el útero, nódulos linfáticos y riñón podría explicar la capacidad del virus de pasar a la progenie y/o causar las fallas reproductivas así como el compromiso del tejido linfoide en la defensa del animal (Rivera *et al.*, 1993). En su trabajo de detección de terneros con infección congénita del VDVB en dos hatos lecheros de la provincia de Arequipa encontró una prevalencia en animales PI del 2.78% para el establo A y para el establo B, 0.76% (Morales, 2001). Estudios realizados en Arequipa, en animales clínicamente sanos demostraron que el 65% de vacas fueron positivas al VDVB, sugiriendo que más del 50% de animales estuvieron expuestos al virus en algún momento de su vida (Manrique, 2002).

SENASA-Puno (2006), reporta casos confirmados en ganado vacuno de diarrea viral bovina para el departamento de Puno, en el año 2003, 7 casos, en el año 2004, 14 casos y para el año 2005, 4 casos de DVB. En el estudio de serie histórica de la diarrea viral bovina, realizado en diferentes zonas zoológicas: Campiña de Arequipa, San Isidro, San camilo, Sta. Rita, La Cano, Yuramayo, La Joya y el Pedregal de la Región Arequipa, señala para el año 2000 (58,7%), 2001 (47,8%), 2002 (61,5%), 2003 (65,6%), 2004 (89,3%),

2005(78,2%) de seroprevalencia (Manrique, 2007), Otra investigación realizada por (Alfonso *et al.*, 2006) en terneros de 10 y 23 meses de edad de un establo lechero en proceso de erradicación de santa Rita de Sigwas-Arequipa, estableció 6,8 % de prevalencia; en un rebaño mixto de una comunidad campesina de Calca-Cuzco se estableció 81,8% de prevalencia en vacunos, 50% en ovinos y 29,9% en alpacas (Cabello *et al.*,2006), al analizar animales portadores del VDVB en 204 hatos productores de leche de la irrigación Majes-Arequipa determinó una prevalencia de $98.0 \pm 1.9\%$ Huamán, 2007).

2.2. NEOSPOROSIS.

2.2.1. Historia.

La Neosporosis se inicia en el año 1984 con un reporte de Bjerkas en Noruega de un caso de encefalitis y miocarditis en caninos, producido por un protozoario. Dubey y col. en 1988 propusieron el nombre de *Neospora caninum* y lograron comprobar los postulados de Koch en esta especie. Thilsted y col. en 1989, determinan su participación en aborto de bovinos y un años después Dubey y su grupo demostraron la transmisión transplacentaria en caninos, felinos, ovinos y bovinos (Moore *et al.*, 2005).

Aún no se conoce bien la epidemiología de la neosporosis en el Perú, probablemente la infección fue introducida a través de bovinos y/o cánidos importados de países con alta prevalencia de la enfermedad. La primera evidencia serológica de *N. caninum* fue obtenido en bovinos lecheros de un área de Arequipa por Andressen en el año 1999, posteriormente el parásito fue diagnosticado en vacas que abortaron y en fetos en el valle de Lima (Rivera *et al.*, 2000).

En el año de 1991 fue considerada como la mayor causa de abortos en el estado de California. En 1993 Conrad y Col., logran reproducir la enfermedad al inocular taquizoitos en bovinos en forma experimental. Desde el punto de vista diagnóstico el mismo Bjerkas en 1991 reportó que las cepas aisladas en caninos son idénticas a las aisladas en bovinos; con este hallazgo y el desarrollo de técnicas de diagnóstico ELISA e inmunohistoquímico se amplían las herramientas diagnósticas. A pesar de los estudios realizados quedaban por definir algunos aspectos relacionados con el ciclo de vida del protozoario especialmente referentes con el huésped, aunque este tema fue abordado desde 1988 por varios autores como Dubey y Col. solamente en 1998 el grupo de Mc Allister y Col., logran definir al perro como huésped definitivo al haber demostrado la presencia de ooquistes en materia fecal de animales alimentados con tejidos infectados de taquizoitos (Cebrian, 2004).

2.2.2. Etiología y taxonomía.

Neospora caninum es un protozoo intracelular obligado perteneciente al Phylum Apicomplexa y a la familia Sarcocystidae. Mediante microscopio electrónico se reconocen organelos característicos de ese Phylum como: micronemas, roptrias y gránulos densos. *N. caninum* es morfológicamente similar a *Toxoplasma gondii* y está relacionada taxonómicamente a otros protozoos formadores de quistes como *Hammondia heydomi* e *Isospora bigemina*, Los estadios parasitarios en un ciclo son:

Taquizoitos.

Es uno de los tres estados infecciosos de *N. caninum* y se encuentra en el hospedador intermedio y en forma intracelular, generalmente a nivel citoplasmático específicamente en la vacuola parasitófaga de la célula

hospedador; puede parasitar a un gran número de células como neuronas, macrófagos, fibroblasto, células endoteliales, miocitos, hepatocitos.

Los taquizoitos se dividen por endodiogénesis en forma rápida, miden aproximadamente 7,5 μm aprox. (3- 7 μm) de longitud, (1- 5 μm) de ancho, tiene entre 6-16 roptries y en algunos casos presentaron entre 4-6 roptries localizados posterior al núcleo, raramente se observa un microporo. Son de forma ovoide, semilunar o globosa. (Andresen, 1999).

Bradizoitos.

Los bradizoitos se dividen por endodiogénesis, en forma lenta, encontrándose dentro de los quistes titulares, miden aproximadamente 7-8 μm presentan un número menor de roptries, morfológicamente son similares a los taquizoitos, los quistes titulares han sido observados en tejido nervioso y muscular (Anderson *et al.*, 2000).

Quistes.

Es un estado en el hospedador intermediario; los quistes en el tejido son ovalados o redondos y miden hasta 107 μm de diámetro y se encuentran primariamente en el sistema nervioso central, dentro de los quistes se encuentran los bradizoitos aproximadamente entre 50 a 500, su pared es lisa y gruesa (Moore *et al.*, 2005).

Ooquistes no esporulados.

Son eliminados por los perros infectados u hospedero definitivo, son esféricos o subesféricos, miden 11.7 a 11.3 μm de diámetro, son incoloros.

Ooquistes esporulados.

Los ooquistes no esporulados luego de tres días en el medio ambiente desarrollan dos esporo-quistes con cuatro esporozoitos cada uno morfológicamente similar a los ooquistes de *T. gondii* y *Hammondia* en perro,

los estados enteroepiteliales en el perro no han sido descritos hasta el presente. (Paz, 2005).

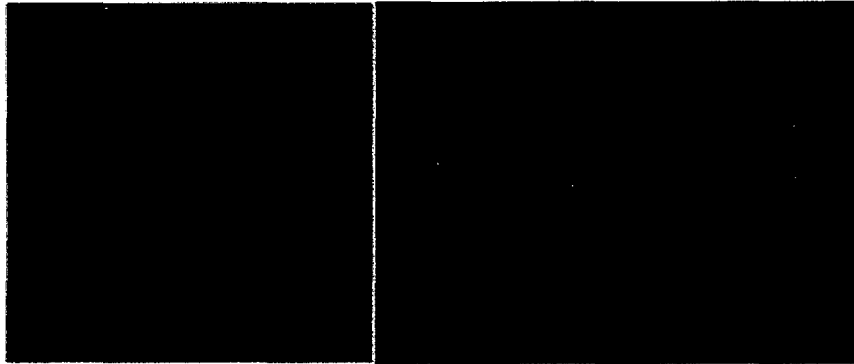


Figura 4. *Neospora caninum*.

2.2.3. Ciclo de Vida.

El ciclo de vida parasitario conocido hasta el presente se encuentra ilustrado en la Figura 5.

Los hospederos definitivos adquieren la infección al ingerir tejidos conteniendo quistes. La pared del quiste es degradada por los jugos gástricos liberando las formas parasitarias que iniciarán los estados entero-epiteliales, luego de realizar una fase de reproducción asexual y sexual en el intestino, los ooquistes son eliminados en las heces del hospedador definitivo (Del Campo *et al.*, 2003). Los perros que consumen tejidos infectados pueden eliminar quistes manteniendo su condición de seronegativo; un canino que se comporta como hospedador intermediario puede ser seropositivo y transmitir la infección vertical a sus cachorros o presentar miositis, parálisis y dermatitis. La exposición postnatal de los caninos está demostrada por el incremento de la seroprevalencia en perros de mayor edad (Moore *et al.*, 2005).

Los ooquistes luego de su eliminación a las 24 hrs. son infectivos e

ingresan a los hospedadores intermediarios por la vía oral. Los esporozoítos liberados en el aparato gastrointestinal, son capaces de alcanzar las vías sanguínea y linfática accediendo a todos los tejidos, no obstante se ha informado la presencia de quistes en el sistema nervioso central (SNC) y el tejido muscular, aunque el bovino puede infectarse por la vía oral siendo el ciclo de vida heteroxeno, la principal vía de transmisión es la congénita, esta vía ha sido también demostrada experimentalmente en ovinos, caprinos, ratones, caninos, felinos, porcinos y primates (Georgieva *et al.*, 2006) señala que la transmisión vertical es la forma de infección más frecuente en bovinos, ello no explicaría debidamente el elevado número de hatos infectados. El hecho de haberse determinado que los bovinos pueden tener seroconversión por una exposición postnatal avala la importancia de la transmisión horizontal motivando intensa investigación el descubrimiento de otras vías de infección postnatal. Además, la transmisión vertical no sería un mecanismo suficiente para mantener la infección en una población bovina debido a que su eficiencia es inferior al 100%. Una hembra bovina, luego de una infección oral (infección exógena) o por reactivación de quistes tisulares en estado de latencia adquiridos congénitamente (infección endógena), el parásito alcanza la placenta, luego de invadir el feto, puede ocasionar el aborto o la transmisión vertical con nacimiento de un ternero clínicamente normal pero congénitamente infectado (Andresen, 1999).

El protozoo puede ser eliminado a través del semen y su ADN, ha sido ocasionalmente detectado en muestras de semen congelado, aunque los toros se comportan como hospedadores intermediarios sería poco probable la ocurrencia de transmisión venérea; esta posibilidad aún no ha sido investigada.

Los taquizoítos adicionados artificialmente a la leche resultaron infectivos para terneros y la eliminación del protozoo a través de la glándula mamaria debería ser motivo de investigación. En el posparto o tras el aborto, la placenta con taquizoítos podría servir como fuente de infección para otras vacas que la ingieran; sin embargo, dos terneros y dos vacas libres de *N. caninum* mantuvieron dicha condición luego de consumir placentas infectadas (Georgieva *et al.*, 2006).

Se reporta que el coyote puede comportarse como hospedero definitivo y otras especies, como los ciervos, pueden servir como hospedadores intermediarios, avalan la existencia de ciclos de vida silvestre de *N. caninum*. Si bien existen evidencias de exposición natural y experimental a *N. caninum* en otros cánidos salvajes y aves, el riesgo epidemiológico de estas especies es aún desconocido. (Moore *et al.*, 2005).

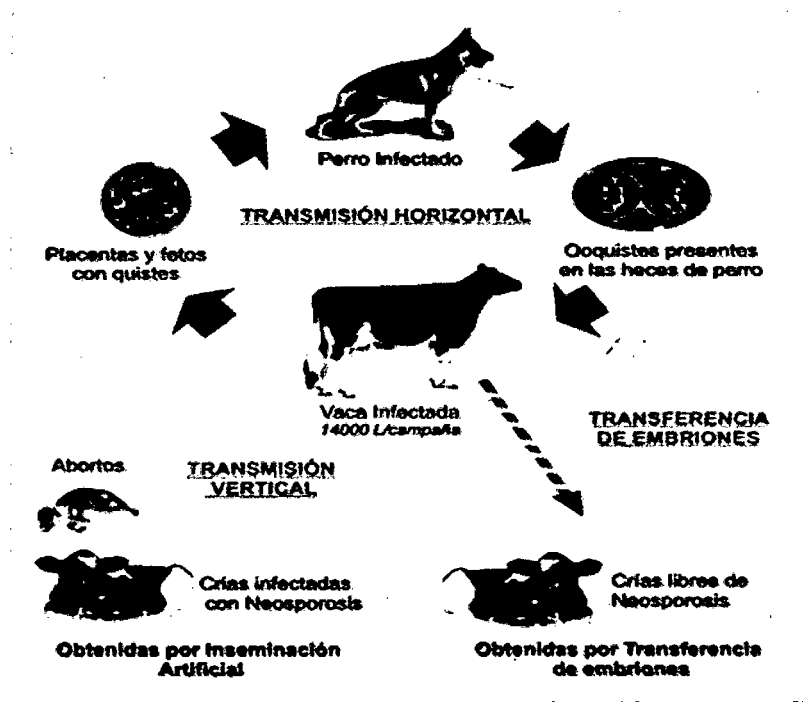


Figura 5. Ciclo biológico de *Neospora caninum* (tomado de Andresen H. 1999).

2.2.4. Patogénesis.

La patogénesis de la neosporosis en el bovino es parcialmente conocida, sin embargo se han logrado importantes avances para comprender los mecanismos involucrados en la muerte fetal o la transmisión vertical. Los bradizoítos alojados en los quistes tisulares del SNC en una hembra bovina gestante pueden reactivarse bajo ciertas influencias hormonales e inmunológicas originando parasitemia. Al producirse parasitemia, ya sea por reactivación de quistes latentes o como resultado de una infección oral, los taquizoítos no sólo atraviesan la placenta produciendo necrosis e inflamación sino que acceden a los tejidos fetales por vía sanguínea (Horna *et al.*, 2003). En las células infectadas del feto, se inician procesos de multiplicación mediante endodiogenia que ocasiona daño celular con necrosis e inflamación o se forman quistes tisulares capaces de persistir durante toda la vida del animal. Mecanismos hormonales e inmunes maternos ocurridos durante la gestación, sumado al desarrollo del sistema inmune fetal actuarían determinando si la infección desencadena la muerte del feto, el nacimiento de un ternero congénitamente infectado o el nacimiento de un ternero libre de infección, aunque se ha estimado que transcurren 3-4 semanas entre la infección fetal y el aborto, la gestación puede concluir con el nacimiento de un ternero infectado, que en caso de ser hembra transmitirá la enfermedad a su descendencia, teniendo también alto riesgo de abortar. La reactivación de una infección latente estaría asociada a un eficiente mecanismo de transmisión vertical más que a un proceso que desencadene el aborto, al menos en rodeos endémicamente infectados. Como contraparte, la manifestación epizootica de la enfermedad está asociada a la presentación de tormentas de abortos en

animales infectados horizontalmente (Morales 2001; Moore *et al.*, 2005).

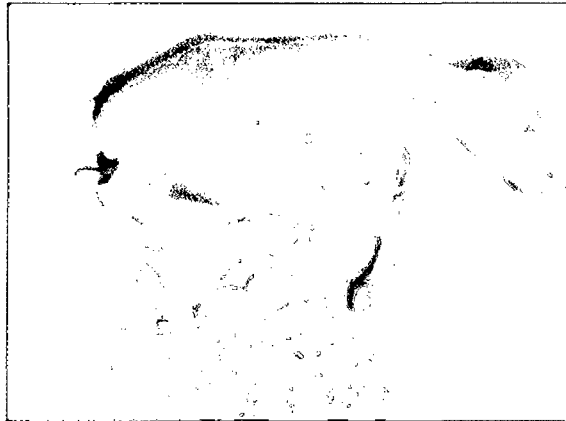


Figura 6. Aborto provocado por *Neospora caninum*.

2.2.5. Aspectos inmunes en las infecciones por *N. caninum*.

Los protozoos intracelulares como *N. caninum*, estimulan una respuesta inmune Th1 dominada por la producción de IL-12, IFN- γ , FNT e IgG2. Estas últimas citocinas activan vías que generan radicales libres y ON, los cuales son letales para los parásitos (Celedón *et al.*, 1997).

En la neosporosis bovina, se desconoce si el tipo de respuesta inmune generada por la ingestión de ooquistes es similar a la lograda por inoculación de taquizoítos, ya sean inactivados o vivos, más aún, existirían diferencias entre la respuesta inmune generada por infección prenatal o postnatal. Además existen evidencias acerca de la variación de antígenos existente entre los estadios de taquizoítos o bradizoítos. El conocimiento de estas diferencias resulta de importancia para el desarrollo de las medidas de control. (Tizard, 1995; Moore *et al.*, 2005).

2.2.6. Inmunidad mediada por anticuerpos.

Las infecciones naturales y experimentales de animales logradas a partir

de taquizoítos u ooquistes de *N. caninum* han permitido la caracterización de la IMA (inmunidad mediada por anticuerpos). En animales experimental y naturalmente infectados, la avidéz de la IgG tiende a incrementarse con el curso de la infección, permitiendo la identificación de animales crónica o recientemente infectados

Se ha postulado que el desarrollo de anticuerpos específicos probablemente limita la parasitemia o facilita la lisis de los taquizoítos extracelulares. Ratones deficientes de células B y de anticuerpos, murieron presentando lesiones de encefalitis necrotizante multifocal cuando fueron inoculados con *N. caninum*. En otro estudio donde se investigó el rol de las células T utilizando ratones BALB/c, se concluyó que células CD4+ promovieron la producción de anticuerpos específicos, los cuales resultaron de importancia en la protección durante estadios avanzados de la enfermedad. (Tizard, 1995).

Diferentes estudios realizados en ratones han descrito que luego de la infección por *N. caninum*, los anticuerpos predominantes son del isotipo IgG2 siendo bajos o nulos los niveles de IgG1. Se observó aumento de mortalidad en ratones con elevada proporción IgG1 : IgG2 . Estos hallazgos en bovinos experimentalmente infectados, en los cuales existió una respuesta dependiente de células cooperadoras Th1 asociada a la producción de IgG2 , sin embargo similares niveles de IgG1, e IgG2 fueron encontrados luego del desafío, experimental con taquizoítos vivos (Cebrian *et al.*,2004; Moore *et al.*, 2005).

2.2.7. Inmunidad mediada por células.

Los mecanismos dependientes de la IMC (inmunidad mediada por células) son relevantes para controlar un parásito intracelular obligado como *N.*

caninum, especialmente por su habilidad para evadir la respuesta inmune. La IMC que involucra a los linfocitos T cooperadora con la producción de IFN- γ , IL-12 e IL-2 está asociada a resistencia del protozoo (Celedón *et al.*, 1997). Experiencias "in vitro" han demostrado que el tratamiento de células con IFN- γ recombinante inhibió la multiplicación intracelular de *N. caninum*, ante la estimulación con antígeno de *N. caninum* lisado, las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de bovinos infectados proliferaron y produjeron IFN- γ entre los 4 y 8 días post inoculación. Aun El cultivo primario de células de cerebro bovino es altamente susceptible a la infección por *N. caninum*, la infección puede ser inhibida por adición de IFN- γ y FNT (Factor de Necrosis Tumoral). También ha sido informado que un grupo de antígenos de bajo peso molecular de taquizoítos de *N. caninum* (30 kDa) estimularon la proliferación in vitro de linfocitos TCD4⁺, obtenidos a partir de terneros experimentalmente infectados (Fredes *et al.*, 2000). En ese mismo trabajo, la proliferación celular fue acompañada por incremento en la concentración de IFN- γ más aún, tratando células con el sobrenadante de células CD4⁺ que respondieron a antígenos de *N. caninum* se logró inhibir la multiplicación del parásito. Cuando se infectaron terneros por la vía oral, las CMSP cultivadas in vitro respondieron al antígeno de *N. caninum* a los 7 días después del desafío. Este tipo de respuesta resultó evidente en CMSP, células de bazo y células de los ganglios mesentéricos, inguinales y bronquiales hasta 2,5 meses después de la infección. Recientemente, se ha postulado que los mecanismos dependientes de linfocitos citotóxicos serían posibles candidatos para impedir la transmisión vertical en bovinos. (Williams *et al.*, 1999). Sin embargo, los linfocitos T CD4⁺ predominaron sobre los linfocitos T CD8⁺ (células citotóxicas) en linfonódulos

maternos y fetales de bovinos inoculados experimentalmente a los 140 días de gestación (Silva, 2003).

Experimentos realizados con ratones han permitido caracterizar no sólo la IMC sino también la dinámica de las citocinas durante las infecciones por *N. caninum*. La susceptibilidad de estas especies puede ser aumentada mediante la neutralización de IL-12 e IFN- γ . La producción de IL-12 y luego IFN- γ , resulta un hallazgo constante luego de las infecciones experimentales. Sin embargo, la IL-12 no fue capaz de impedir el progreso de la enfermedad (Cabrera *et al.*, 2000) Por otro lado, ha mencionado que la neutralización de la IL-4 sumado a la inoculación de una cepa no virulenta de *N. caninum* y posterior desafío con una cepa virulenta, logró reducir la transmisión vertical en ratones. La IL-10, también involucrada en la respuesta Th2, ha sido asociada a la depleción de IFN en ratones susceptibles a *N. caninum*. Se ha informado acerca del rol de las citocinas en respuesta a las infecciones por *N. caninum* en bovinos (Anderson *et al.*, 2000), algunos estudios indican que los mecanismos asociados a la respuesta Th1 con producción de IFN- γ e IgG2 sería la adecuada para controlar la infección. Se señala que el tipo de respuesta es negativa durante la preñez. Resulta de interés el rol del óxido nítrico (ON); este metabolito, producido por macrófagos activados, tiene diversas funciones se menciona la inmunosupresión y la destrucción de parásitos intracelulares. (Moore *et al.*, 2005).

2.2.8. Signos clínicos

Los abortos son observados entre el 3º y 9º mes de la gestación aunque con mayor frecuencia en el tercio medio. El feto muerto en el útero puede ser reabsorbido, momificado, o expulsado con avanzado grado de autolisis,

comúnmente ocurre el nacimiento de terneros clínicamente normales pero crónicamente infectados, la momificación es un hallazgo frecuente, habiéndose descrito en casos naturales y experimentales. Los terneros infectados in útero, pueden tener signos neurológicos y bajo peso al nacer, el examen clínico puede revelar ataxia, disminución del reflejo patelar o falta de sensibilidad propioceptiva. Eventualmente pueden presentarse anomalías congénitas como exoftalmia o asimetría ocular (Celedón *et al.*, 1997; Rivera *et al.*, 2000).

2.2.9. Epidemiología.

La enfermedad ha sido diagnosticada en razas de bovinos para leche y carne en Europa, África, Australia, Nueva Zelanda y América. En Inglaterra se considera que se producen 6,000 abortos anuales debido a *N. caninum* asignando pérdida de 800 dólares americanos,. En California, EE.UU., las pérdidas anuales serían de 35 millones de dólares y en Australia 85 millones de dólares en la industria lechera y 25 millones de dólares para la producción de carne. Si bien existen datos epidemiológicos acerca de la neosporosis en otros países de Latinoamérica, no se dispone información acerca de las pérdidas económicas causada por *Neospora caninum* (Silva, 2003).

2.2.10. Diagnóstico.

La infección por *N. caninum* puede demostrarse mediante la utilización de pruebas inmunodiagnósticas, por técnicas histopatológicas, moleculares y de aislamiento. Las pruebas inmunodiagnósticas disponibles son la inmunofluorescencia indirecta (IFI), ELISA, aglutinación directa, inmunohistoquímica (IHQ) y electroforesis combinada con inmunodetección (Western Immunoblot). La histopatología y la IHQ realizadas en tejidos bovinos

fetales son técnicas diagnósticas relevantes en las infecciones por *N. caninum*. El diagnóstico presuntivo de aborto por *N. caninum* puede emitirse ante la presencia de lesiones como meningoencefalitis necrotizante multifocal (MENM), miocarditis, miositis, nefritis, hepatitis, neumonía y adrenalitis focales no supurativas caracterizadas por la presencia de células mononucleares (Cabrera *et al.*, 2000).

La presencia del parásito en dichas lesiones puede confirmarse mediante IHQ realizada sobre tejidos fetales formolados. Aunque su sensibilidad es baja, probablemente debido a los escasos parásitos presentes en tejidos autolizados, resulta una técnica diagnóstica vigente.

Por otro lado, el impacto de la técnica de PCR ha sido notable, permitiendo esclarecer ciertos aspectos epidemiológicos. Debido a la alta eficiencia que tiene *N. caninum* para transmitirse en forma vertical, los resultados positivos por IHQ o PCR deberán estar siempre asociados a problemas reproductivos y utilización de otras técnicas diagnósticas, no sólo para identificar dicho protozoo sino también para descartar otras causas de aborto. El aislamiento de *N. caninum* es difícil y costoso como técnica diagnóstica, se han logrado aislamientos en regiones ganaderas de todo el mundo (Williams *et al.*, 1999; Moore *et al.*, 2005).

2.2.11. Prevalencia de Neosporosis:

A nivel internacional:

La Neosporosis fue descrita por primera vez en caninos como un síndrome neuromuscular causado por un protozoo intracelular *Neospora caninum*, dicho agente posteriormente es relacionado como causante de la disminución en la producción de carne, leche y de abortos en vacunos; tiene distribución mundial

y se señalan tasas elevadas en rebaños de carne y leche, así para Inglaterra se reportan 6,000 abortos anuales con una pérdida de 800 dólares americanos por cada aborto (Moore *et al.*, 2005). Para las provincias de Santa Fé y Córdoba de Argentina, se establece una seroprevalencia de 24,4% en fetos abortados, 64,5% en bovinos lecheros y 92,3% para vacunos de carne; para Estados Unidos 10% de prevalencia, Nueva Zelanda 38%, Francia 26%, Suiza 21%, Holanda 17%, Austria 34,1%, para Reino Unido la estimación es 12,5% de abortos, en España se determinaron tasas de prevalencia de 17,9% en fetos bovinos abortados y 83,2% en rebaños lecheros y para México 36,5% (Andresen, 1999), en vacas lecheras de la raza Holstein de Vietnam del Sur (Dong, 2004) obtuvo 53 % de prevalencia. En la provincia este de Turquía de 185 sueros de vacunos lecheros, se reportó una prevalencia del 13,48% y en 89 vacas preñadas con historia de repeticiones de celo, la prevalencia para Neosporosis fue de 3,19% (Samisimsek *et al.*, 2008).

A nivel nacional.

En la investigación sobre agentes comunes involucrados en abortos del ganado lechero en el valle de Lima (Rivera, 2000) al estudiar 126 fetos abortados determinó que el 40% presentaban antígenos de *Neospora caninum*, sugiriendo este agente, como la principal causa de abortos y pérdidas embrionarias. En una muestra de bovinos lecheros del valle de Lima, se reporta una seroprevalencia para *N. caninum* del 40.83% \pm 8.79% (Silva, 2002), en un estudio en perros de establos lecheros del valle de Lima, se obtuvo una prevalencia de 32.7 \pm 9.0% de *N. caninum* (Del Campo *et al.*, 2003). *Neospora caninum*, es un parásito ampliamente conocido como causante del abortos y mortalidad neonatal en bovinos a nivel mundial; en el Perú esta infección está

presente en bovinos de las principales cuencas lecheras: 57% en Arequipa, 42.9% en Cajamarca, Lima 29.6%, 40.38% y en perros de establos lecheros de Lima 32.7% (Horna *et al.*,2003), En otro estudio del mismo autor para determinar la presencia de *Neospora caninum*, en caninos de dos distritos de la provincia de Chachapoyas y Amazonas, evaluó 142 sueros de caninos, 63 de Molinopampa y 79 de Leymebamba; determinando que el 28.9 7.5% de caninos, presentaron anticuerpos contra *Neospora caninum*, representando seroprevalencias de 34.9% y 24.1% respectivamente; los resultados demuestran una seroprevalencia moderadamente alta en caninos infectados con *Neospora caninum*. En el estudio para establecer la seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros criados al pastoreo de la provincia de Melgar, departamento de Puno (Atocsa *et al.*,2005), evaluó 419 sueros obtenidos en forma aleatoria de siete fundos ganaderos, mediante la detección de anticuerpos séricos por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), obtuvo una prevalencia general de $18.1 \pm 3.7\%$. En la serie histórica de seroprevalencias en zonas zo ecológicas: La campiña, San Isidro, San camilo, Santa Rita, La Cano, Yuramayo, La Joya, El pedregal de la Región Arequipa (Manrique, 2007) determinó para el año 2000 (56,2%), 2001 (22,7%), 2002 (67,9%), 2003 (50,8%), 2004 (68,4%) y 2005 (66.6%). Al estudiar la presencia de Neosporosis en bovinos lecheros de 2 a mas años de Molinopampa y Leymebamba de la provincia de Chachapoyas- Amazonas (Quevedo *et al.*,2006) reporta una prevalencia del 40,4%: para el CIP Chuquibambilla, provincia de Melgar, se obtiene una prevalencia del 15,28% (Huarachi, 2005).

2.3. DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO.

2.3.1. Definición.

Serología es el estudio del líquido seroso de la sangre; suero que es el líquido transparente que se separa cuando la sangre se coagula.

La inmunología es el estudio del sistema inmunológico del cuerpo sus funciones y trastornos. Los laboratorios de inmunología y serología se concentran en lo siguiente: identificar anticuerpos (proteínas elaboradas por una clase de glóbulo blanco, linfocitos B, como respuesta a un antígeno o una proteína extraña al cuerpo). Investiga los problemas inmunológicos; como las enfermedades autoinmunológicas, los trastornos de inmunodeficiencia (Cabrera *et al.*, 2000) y la compatibilidad de un órgano para su trasplante.

2.3.2. Respuesta inmune y el diagnóstico serológico.

Cuando un individuo se pone en contacto con un antígeno por primera vez ocurren los fenómenos que se relacionan con el diagnóstico serológico. La aparición precoz del anticuerpo específico de clase IgM, la concentración de este anticuerpo no es muy alta y su persistencia generalmente es corta. Su detección habitualmente identifica una infección aguda, aunque en algunas infecciones se correlaciona no sólo con la fase temprana de la enfermedad sino también con la actividad de la misma en estadios crónicos. Este marcador no es siempre detectable en la fase aguda de la infección. (Williams *et al.*, 1999; Lindberg *et al.*, 1999).

El anticuerpo específico de clase IgG, tiene aparición más tardía y su concentración va creciendo en tres a seis semanas luego desciende muy lentamente, su persistencia suele ser muy prolongado mucho más allá de la curación del enfermo y en ocasiones es detectable durante toda la vida. La

detección de IgM a concentraciones determinadas faculta para realizar un diagnóstico de la infección aguda, por otra parte, la observación de un incremento en la concentración de IgG en dos muestras separadas una en fase aguda y otra convaleciente indica la presencia de un estímulo antigénico en ese momento, que es similar a la existencia de una infección aguda (Tizard, 1995).

2.3.3. Diagnóstico indirecto.

Para comprender las bases del diagnóstico indirecto conviene recordar las bases fundamentales de la respuesta inmune: distinguir entre lo propio y extraño, especificidad y memoria. La primera hace mención que el sistema inmune no debiera responder en condiciones normales frente a sus propias sustancias, las otras propiedades son de mayor importancia para comprender el diagnóstico indirecto (Cabrera *et al.*, 2000).

La especificidad es la propiedad que permite al sistema inmune responder frente al agente externo que la provocó y que esa respuesta no afecte a otros antígenos incluso a aquellos que pudiesen tener un parecido molecular (reacción cruzada). Cuanto más específica y afín sea esa respuesta más efectiva será su unión al agente provocador. La persistencia de esos anticuerpos varia con el tiempo y ello depende de muchos factores: estímulo inicial, reinfecciones subclínicas repetida etc.; por ello encontrar anticuerpos frente a un determinado antígeno hará suponer de forma indirecta que el organismo tiene o ha tenido contacto con él o con antígenos de su procedencia (Betancur *et al.*, 2007).

La memoria inmunológica permite que el sistema inmune recuerde haber tenido contacto previo con un antígeno y responda frente a él de forma anamnésica.

Esta respuesta será más rápida y violenta, uniéndose al organismo una gran concentración de anticuerpos en muy poco tiempo, esta propiedad es la base fundamental de la eficacia de las vacunas.

La memoria inmunológica supone sin embargo un serio inconveniente a la hora de utilizar la respuesta inmune para el diagnóstico indirecto de una infección, en efecto el mantenimiento de una concentración de anticuerpos durante largo tiempo dificulta con algunas técnicas conocer si estos anticuerpos específicos que se encuentran en el suero del enfermo han sido provocados por una infección actual y o reciente, o son restos persistentes de una infección antigua o curada, actualmente se disponen de mecanismos para poder discriminar entre estos dos tipos de situaciones (Tizard, 1995; Stahl *et al.*, 2002).

2.3.4. Método Elisa.

ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre un fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto, simple en su realización, emplea reactivos económicos y consigue, mediante el uso de la fase sólida, de una separación fácil entre la fracción retenida y la fracción libre. Además se han propuesto y desarrollado diferentes métodos de amplificación de la señal (luminiscentes, cascadas enzimáticas,) que han permitido elevar la sensibilidad de algunos ELISA (Cabrera *et al.*, 2000). Este método a tenido una enorme aplicación en aquellos campos en los que se precisa la cuantificación de productos mediante anticuerpos: diagnóstico clínico, detección viral, clasificación de anticuerpos en isotipos, búsqueda de

anticuerpos monoclonales etc. (Georgieva *et al.*, 2006).

Fases de un ensayo ELISA.

Las cuatro fases de un ensayo ELISA son las siguientes:

- **Conjugación del anticuerpo o del antígeno con un enzima** (peroxidasa, fosfatasa alcalina). El anticuerpo conjugado a la enzima se emplea en los ensayos directos e indirectos, sándwich, etc. el antígeno marcado se emplea en ensayos de competición de antígeno.
- **Unión del antígeno (o del anticuerpo) a los pocillos.** La unión de anticuerpos o antígenos se realiza con facilidad a la superficie de plásticos tratados que tienen gran afinidad por proteínas.
- **Formación de una o más capas de inmunocomplejos.** En el caso del antígeno unido a la placa se puede detectar mediante un anticuerpo anti-antígeno marcado (ELISA directo) o empleando un anticuerpo primario anti-antígeno y un secundario anti-primario marcado (ELISA indirecto). Este segundo método permite la amplificación de la señal al poderse unir uno o más anticuerpos secundarios a cada anticuerpo primario; en el caso del anticuerpo unido a la placa se incuba con una mezcla de antígeno y antígeno marcado, se ensayan diferentes relaciones de antígeno frío frente a una cantidad fija de antígeno marcado, es el ensayo de competición del antígeno.
- **Revelado de la reacción enzimática.** Después del lavado para eliminar todas las moléculas marcadas no fijadas en forma de inmunocomplejos se añade el sustrato enzimático en solución, se deja reaccionar y se lee la densidad óptica (D.O.) mediante espectrofotometría. (Celedon *et al.*, 1997; Cabrera *et al.*, 2000).

2.3.5. Tipos de ensayo ELISA.

Se han desarrollado múltiples variantes de ensayo ELISA que permiten desde la cuantificación de un antígeno en solución, la detección de un anticuerpo en una solución (ej. clonaje de anticuerpos monoclonales), o la determinación de la subclase (idiotipo) de un anticuerpo. Dentro de los más comunes se describen: ELISA directo, ELISA indirecto y ELISA sandwich.

ELISA indirecto. Las placas ELISA se preparan recubriendo los pocillos con las soluciones conteniendo el antígeno, se incuban con anticuerpos marcados que indican la presencia de antígeno en la solución analizada; es necesario incluir controles negativos. Los controles positivos y negativos son los mismos, el sistema de detección emplea dos anticuerpos: uno primario contra el antígeno y uno secundario marcado contra el primario; la detección tiene mayor sensibilidad por presentar una amplificación de señal de vida a la unión de dos o más anticuerpos secundario por cada primario. Es el ensayo más empleado como lo es la inmunofluorescencia indirecta, pues un mismo secundario marcado y un mismo sistema enzimático permiten cuantificar una gran cantidad de antígenos (Williams *et al.*, 1999).

2.4 FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LAS ENFERMEDADES: DIARREA VIRAL BOVINA (DVB) y NEOSPOROSIS.

Observar la enfermedad en una población animal supone identificar las características del medio ambiente en el que se desarrollan los animales como posibles "Factores asociados" a las enfermedades; para estimar la importancia de una enfermedad se debe identificar la existencia de "Factores asociados" o implicados, por un lado relativo al estado de salud o enfermedad y por otro a la exposición de factores que se sospecha estén implicados (Patitucci *et*

al.,2000), estos factores engloba tres grandes grupos:

Dependientes del Hospedador: Especie, raza, genética, inmunidad natural y pasiva, sexo, edad, estado fisiológico, otras enfermedades.

Dependientes del Agente: Virus, bacterias, hongos, parásitos y otros, hospedador, resistencia al medio ambiente, virulencia, patogenicidad, especificidad, sub especies.

Dependientes del medio en el que se desarrollan: Instalaciones, granjas, corrales, heces, tóxicos, medicación, alimento, (composición y cantidad), clima (estación, humedad, temperatura), otro autor (Cebrián *et al.*, 2004) considera dos grupos de factores de riesgo asociados: ambientales e infeccioso; dentro de los ambientales se señala: densidad de población o grado de confinamiento, preparación de la vaca durante el periodo seco y durante el parto, instalaciones o alojamiento, condiciones del lugar de parición, condiciones de la tierra. Por otro lado se señala como factores de riesgo asociado a las enfermedades bovinas: Número de vacas infectadas, tipo de organismos presentes, adquisición de animales nuevos, transmisión entre animales, alimentación, sistemas de explotación entre los más importantes (campero, 2000); otros factores de riesgo para *N. caninum* se mencionan: presencia de canes seropositivos; presencia de aves de corral que pueden comportarse como vectores de ooquistes u hospederos intermediarios que infectan a los perros (Fredes *et al.*, 2000). El uso de pasturas comunes para adultos y jóvenes, contacto de animales con otros rodeos, alimentación y presencia de micotoxinas que ocasionan inmunosupresión y los factores relacionados al hospedador: stress, estado nutricional, status inmunológico, enfermedades recurrentes, son considerados de riesgo (Betancur *et al.*,2007).

Factores dependientes del animal: Raza, edad, sexo, estado gestacional o reproductivo en hembras y toros en servicio. Los factores de riesgo más importantes son: presencia de animales enfermos, manejo de ganado por edades, condiciones de explotación, sistemas de crianza, vigilancia y educación (Moore *et al.*,2005). Al existir una gran diversidad y amplitud de factores de riesgo mencionados por diferentes autores, se detallan algunos a continuación.

2.4.1. RAZA.

En las cuencas lecheras estudiadas la mayor población bovina es de la raza Brown Swiss, existiendo una reducida población de ganado bovino criollo. La raza mencionada a nivel nacional constituye el 80%, tiene importancia por ser la población base de la actual ganadería; dentro de sus características es un biotipo proveniente de la adaptación del ganado vacuno introducido por los españoles hace mas de 400 años a nuestro medio, muy valioso por su rusticidad, adaptación al medio ambiente y de usos (Leche, carne, tracción) la raza Brown Swiss tiene aptitud de doble propósito, cruzada con vacuno criollo recibe el nombre de "Criollo mejorado" y constituye la raza mas adaptable a la sierra peruana. Es originaria de Suiza también conocida como Pardo Alemán o Pardo Suizo, son animales muy fuertes de buena talla, esqueleto bien desarrollado, piel gruesa que le confiere mayor resistencia a los parásitos y radiación solar, buena profundidad corporal que significa una gran capacidad para aprovechar el forraje, de temperamento dócil y manso, además de otras cualidades como fertilidad, precocidad, partos fáciles, longevidad, amplia adaptabilidad a diferentes climas, habilidad para pastorear en terrenos duros y pedregosos; es la alternativa ideal de raza lechera. (INIA, 2005).

En el Perú se les encuentra en la costa, sierra y el altiplano su crianza es con énfasis en la producción lechera, siendo la producción promedio de 1,500 a 3,500 litros/vaca/campaña en condiciones de altitud y alimentación a base de pastos naturales y cultivados; respecto a la susceptibilidad de enfermedades, se conoce que las razas puras de origen europeo son las más propensas en sufrir problemas reproductivos, especialmente el ganado lechero, por estar más sometido a stress (Rivera, 2000); se establece que las vacas lecheras presentan mayor riesgo de infección por el VDVB comparado con vacas de carne (Anderson *et al.*, 2000).

2.4.2. EDAD.

La edad como factor de riesgo varía con respecto a las diferentes enfermedades infecciosas del ganado bovino; son más susceptibles hembras en estado reproductivo (hembras en gestación), toros en servicio y vaquillas de primer parto. La etapa de embrión y feto es la edad de mayor riesgo durante toda la gestación, las tres primeras semanas para la vida del ternero son las más críticas y la vaca adulta durante el ciclo reproductivo; si la infección ocurre en los primeros días antes del servicio, durante el periodo pre-ovulatorio, se reduce la tasa de concepción. El VDVB induce a fallas en la ovulación que predisponen la mortalidad embrionaria temprana (Lértora, 2003).

El periodo de vaca seca también es un momento de alto riesgo para la mayoría de enfermedades haciéndose evidente los signos clínicos luego del parto. Edad como factor de riesgo, hay referencias que a medida que aumenta la edad, la incidencia de abortos se incrementa pudiendo ocurrir desde tres meses hasta el término de la gestación; las vaquillonas con infección congénita tienen alto riesgo de aborto de 3 a 7 veces más que vacas seronegativas; otro

factor de riesgo es la alimentación, sobre todo alimentos contaminados con micotoxinas (Micotoxina T2, Aflatoxina B1) que causan inmunosupresión favoreciendo la presentación de Neosporosis (Fredes *et al.*,2000), en un trabajo sobre factores de riesgo para *N. caninum* en rebaños lecheros de la raza Holstein de la IX región de Chile (Patitucci *et al.*,2000) señala que la presencia de perros está asociado directamente a la seropositividad de aves que se comportan como vectores de ooquistes y hospederos intermediarios. Para el predio A obtiene 39,2% de vaquillas seropositivas por consiguiente existe un mayor riesgo (OR=3,67), comparados con vacas del predio B que resultaron 17,8% seropositivas, concluye que los animales más jóvenes como terneros y vaquillas presentan mayor riesgo (OR= 2,58) de ser seropositivos. En vacas lecheras de la raza Brown swiss criados en sistema extensivo de la provincia de Chachapoyas se determina que los niveles de anticuerpos contra *N.caninum* tienden a incrementarse con la edad, lo cual es esperado ya que a mayor edad la predisposición a infectarse es mayor, sin embargo concluye que los factores edad y procedencia estadísticamente no representan factores de riesgo (Quevedo *et al.*,2003), otro estudio afirma que no está determinado que el factor edad predisponga al ganado lechero infección por *N. caninum* (Moore *et al.*, 2005); contrariamente investigaciones realizadas en la provincia de Melgar, se afirma que edad y procedencia son factores de riesgo para la infección por *N.caninum*, por otro lado también hacen mención que la infección asintomática es consecuencia de la transmisión vertical de la madre al feto, por consiguiente la infección en el feto al inicio de la gestación es fatal más que la infección tardía y a medida que aumenta la edad de las vacas gestantes se incrementa la prevalencia y estaría como evidencia el aumento de riesgo de la infección

ligado al lapso de vida así mismo las hembras seropositivas tienen 4 veces más riesgo de aborto que las seronegativas (Atoccsa *et al.*,2005), en 150 muestras de sangre de vacunos de leche procedentes de Montería Colombia se determinó 29,4% de seroprevalencia para el VDVB y los factores edad, raza, tipo de explotación resultó no significativo (Betancur *et al.*,2007) otro estudio en vacunos lecheros de Turquía no se determinó relación estadística entre grupos, raza y edad (Samisinsek *et al.*,2008).

2.4.3. SISTEMAS DE EXPLOTACIÓN.

A nivel nacional se identifican tres sistemas de producción; el sistema extensivo que predomina en la sierra y selva, el sistema intensivo a nivel de los valles costeros y el sistema semi-intensivo en los valles interandinos.

Sistema Extensivo.

Presenta bajos costos de producción, el capital disponible es escaso, la tecnología es rudimentaria y el terreno está sometido a los ciclos naturales, la utilización de mano de obra es familiar, la alimentación es al pastoreo con pastos naturales y cultivados, en general el pastoreo es mixto es decir en conjunto con otras especies animales y no requiere de costosas instalaciones como mangas de manejo, corrales de ordeño, comederos, parideros entre otros, la producción lechera es baja; éste tipo de explotación representa el 15,4% del total nacional de sistemas de producción lechera con una superficie promedio de 5,2 hectáreas (INIA, 2005), se señala que en este sistema son más frecuente las enfermedades (Quevedo *et al.*, 2003).

Sistema Intensivo.

Aplica técnicas y tecnologías que les permite obtener el máximo beneficio en el menor tiempo posible; el costo de producción se debe el uso de

concentrados en la alimentación, uso de instalaciones para estabulación, ordeño, cunas, salas de reposo, salas de maternidad y uso de maquinarias, la mano de obra es calificada; este tipo de explotación representa el 46,2% del total de establos lecheros y la superficie promedio de explotación es de 9 ha. Este sistema se concentra más en la costa, la producción lechera puede alcanzar hasta más de 6,000 Lt./vaca/campaña y predomina el sistema de reproducción por inseminación artificial (INIA, 2005).

Sistema Semi-intensivo.

El sistema está basado en el pastoreo pero la alimentación se complementa con concentrados, los animales en el día pastorean y en la noche son llevados a confinamiento, presentan una mediana producción de leche y manufacturación de quesos, la reproducción puede ser por inseminación artificial y monta natural, el sistema representa el 38,4% del total nacional de establos lecheros con un superficie promedio de 68,3 ha. (INIA, 2005).

2.4.4. SALA DE MATERNIDAD.

El manejo físico de la vaca durante el parto es importante para la supervivencia del ternero (Campero, 2002) menciona que cuando se aprecia una relajación de los músculos y ligamentos alrededor de la base de la cola e inflamación de la glándula mamaria, la hembra deberá ser separada y colocada en un área seco, limpio bien ventilado donde pueda prestársele atención si presenta dificultad durante el parto.

Las instalaciones de crianza y manejo del ganado lechero debe reunir las condiciones necesarias teniendo en cuenta la función que cumplen: parición, ordeño, dormidero etc. Deberá mantener las condiciones ambientales de higiene y seguridad: condiciones necesarias de calor, iluminación,

temperatura adecuada, humedad, ventilación. Sin embargo lo más común de los establos o instalaciones es la falta de sombra adecuada, pisos sucios con desniveles, comederos deficientes o insuficientes, falta de áreas adecuadas de manejo que generan estados de stress en los animales y complican la eficiencia del aparato inmunocompetente (Genin, 1994). El tipo de material del que están hechas los establos es muy importante, así la madera barnizada y el plástico son materiales que presentan menos contaminación comparado con la madera, el concreto, metal, ladrillo, donde la sobrevivencia de los organismos patógenos en el ambiente contribuye en la presentación de las enfermedades y las pérdidas del parto hasta las 24 primeras horas son dependientes de eventos post-parto (Lértora, 2003).

Los pequeños productores generalmente usan el mismo corral para partos y para el tratamiento de vacas enfermas, así los recién nacidos se contaminan durante el parto, los becerros hasta los 4 meses de edad deben disponer de un buen alojamiento espacios secos limpios y los becerros de ganado lechero deben ser separados de la madre tan pronto ocurra el parto a fin de minimizar el riesgo de contaminación, igualmente las vaquillas deben parir separadas de las adultas a fin de reducir la transmisión de enfermedades a los becerros nacidos de vaquillas. Es una práctica muy riesgosa, que permite que el ganado sano se exponga al enfermo igualmente la densidad y permanencia en las instalaciones favorece la transmisión horizontal, por lo que se considera que el control y la prevención deberá ser eficaz y en forma prioritaria la mejora de las condiciones ambientales (Cebrián *et al.*, 2004).

2.4.5. CONOCIMIENTO DE LAS ENFERMEDADES.

Las condiciones del manejo sanitario, alimentación y cobertizos pueden influenciar la salud del ganado bovino (Campero, 2002). El conocimiento de las enfermedades reproductivas por parte de los productores es muy importante para mantener programas de medicina preventiva. Un aspecto relevante es el conocimiento de las enfermedades basadas en exámenes de seroprevalencia que permite conocer el nivel de infección de las enfermedades en la cría y explotación del ganado bovino lechero; el desconocimiento epidemiológico ha tenido efecto en una amplia difusión de las enfermedades. El manejo sanitario, es una acción difícil pero de extrema importancia; en el criador coexisten hábitos, conductas, costumbres que permiten conciente o inconcientemente la fácil transmisión de enfermedades y plantea la necesidad de conocer y manejar variables sociales antropológicas, educacionales y comunicacionales (Georgieva *et al.*,2006). El manejo sanitario en el ganado bovino, por los criadores requiere aplicar medidas preventivas básicas como detectar anomalías mediante observaciones diarias, medidas de aislamiento en animales enfermos y el tratamiento recomendado por el veterinario llevando registros del tratamiento o dolencias (INIA, 2005).

CAPITULO III.

METODOLOGÍA.

3.1. ÁREA DE ESTUDIO.

La investigación se realizó en la cuenca lechera de Taraco, provincia de Huancané, considerada como la más próspera de la Región Puno; ubicado a una altura de 3, 835 m.s.n.m, presenta el 12.20% de extensión territorial y comprendida geográficamente entre 15°17'37" de latitud y 69°58'36" de Longitud Oeste. La cuenca lechera de Progreso, distrito de Asillo, provincia de Azángaro, es otra de mucha importancia en producción láctea, se encuentra a una altitud de 3,909 m.s.n.m y geográficamente ubicada a 14°47'03" de Latitud Sur y 70°21'13" de Longitud Oeste y la microcuenca de Cabanillas, comprendida en la provincia de San Román a una altitud de 3,885 m.s.n.m comprendida entre 15°38'14" de Latitud Sur y 70°20'39" de Longitud Oeste (INIA, 2005).

Las tres zonas ecológicas, se caracterizan por presentar un clima frígido, distinguiéndose dos épocas bien definidas; lluvioso y seco, la época seca o de helada está comprendida en los meses de mayo a setiembre y la lluviosa con abundante precipitación en los meses de Noviembre a Marzo (INEI,2004). Las muestras de sangre y sueros obtenidos en viales se mantuvieron en el

laboratorio del SENASA-Puno. Los análisis serológicos se realizaron en el Laboratorio Veterinario del Sur (LABVETSUR) de la Ciudad de Arequipa.

3.2. MATERIAL BIOLÓGICO.

Se obtuvieron 260 muestras de sangre de vacas lecheras en producción, procedentes del universo de estudio; cuencas lecheras de Taraco, Progreso y Cabanillas de la región de Puno, las que fueron seleccionadas mediante muestreo aleatorio estratificado a un nivel de confianza del 95% (Anexo 1, Anexo 2).

3.3. METODOLOGÍA.

3.3.1. Trabajo de campo.

Obtención de muestras de sangre.

Previa a la obtención de sangre, se motivó a los productores y/o criadores, la importancia y finalidad del estudio y el beneficio del diagnóstico serológico en sus animales. Seguidamente se muestrearon vacas lecheras en producción de los hatos seleccionados al azar. Para la obtención de sangre se desinfectó con algodón y alcohol yodado la zona de punción de la vena caudal, utilizando aguja 21 G x 1 ½" y tubos al vacío de 7ml Vacutainer sin anticoagulante; en cada tubo se rotuló el código del animal, procedencia, fecha, colocándose en una gradilla portatubos y en cajas aislantes, se transportaron al laboratorio del SENASA en la ciudad de Puno; en la ficha de campo se anotaron, datos del productor, nombre del predio, y datos de los bovinos lecheros muestreados.

3.3.2 Trabajo de Laboratorio.

3.3.2.1 Obtención de sueros.

Los sueros de los tubos VACUTAINER se pasaron a viales de 2.0 ml de volumen, en condiciones asépticas utilizando para cada suero una jeringa de tuberculina de 1.0 ml. Los viales se mantuvieron en congelación a -20 °C hasta su traslado al Laboratorio Veterinario del Sur (LABVETSUR) de la ciudad de Arequipa.

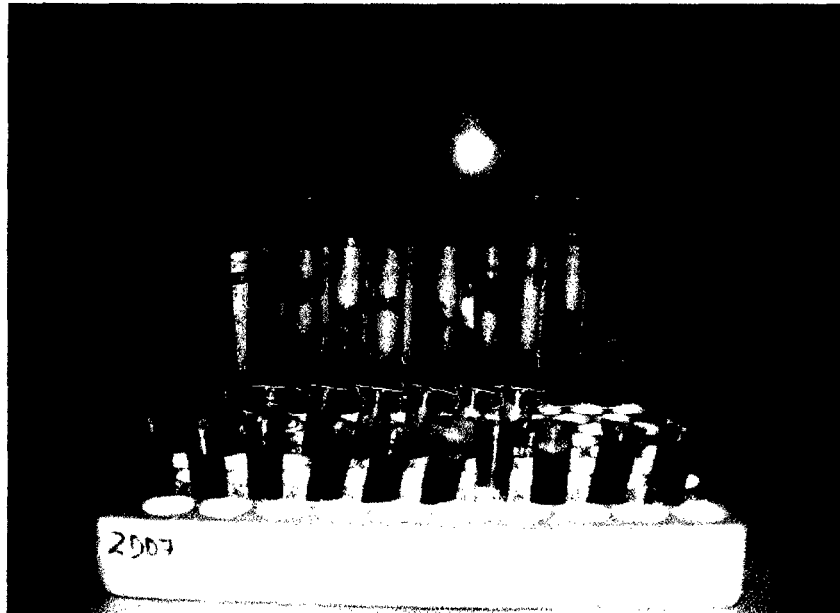


Figura 7. Obtención de sueros

3.3.2.2. Análisis serológico.

Prueba de ELISA para *Neospora caninum*.

Principio.

ELISA anti-neospora es una prueba de inmunoanálisis enzimático diseñado para detectar la presencia del anticuerpo (Ac) contra neospora en suero bovino. Las placas de 96 pozos se recubren con antígenos (Ag) de neospora. Al incubar la muestra de prueba en el pozo recubierto, el Ac contra

neospora forma un complejo con los Ag recubiertos, luego de lavar los pozos para eliminar el material no ligado, se añade un conjugado antibovino: peroxidada, que se une al ensayo, se elimina el conjugado no ligado con un lavado y se añade a los pozos un sustrato de enzima (peróxido de hidrógeno) y un cromógeno tetrametilbendidina 3,3'; 5,5', el color que aparece es proporcional a la cantidad de anticuerpo presente en la muestra.

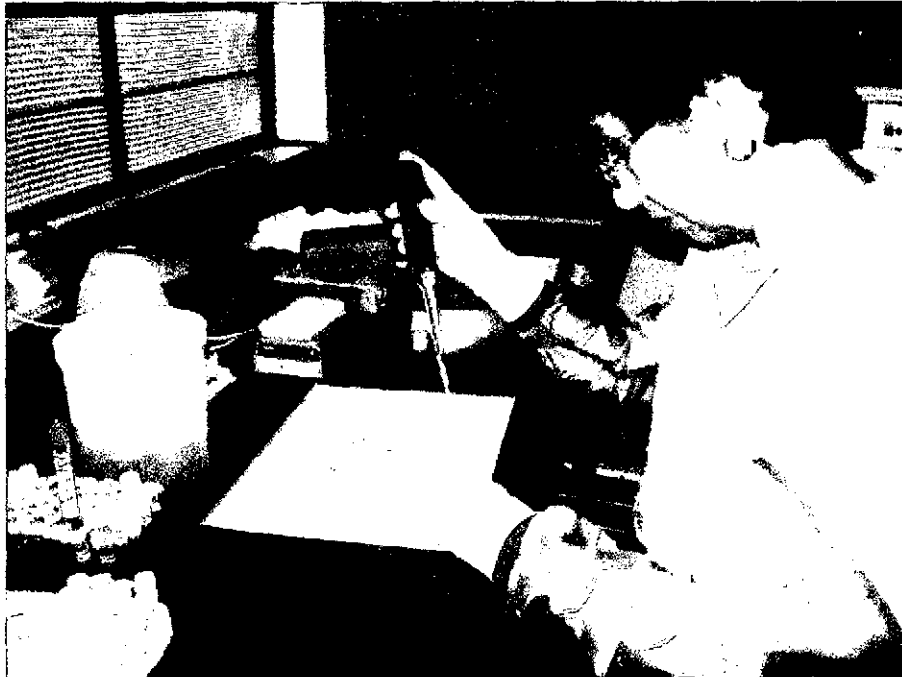


Figura 8. Prueba de ELISA

Kit VWRD, INC. *Neospora caninum* antibod y test

Kit cELISA U.S. Veterinary licence 332.

Preparación de la Solución de Lavado. El concentrado se conserva refrigerado, antes de su uso se mantiene a temperatura ambiente, luego se agita para asegurar la disolución de las sales que se hayan precipitado, el concentrado para lavado se diluyó 1:10 con agua desionizada.

Preparación del Conjugado.

El conjugado refrigerado se mantiene a temperatura ambiente, para su preparado en un frasco de 200 ml, se mide el diluyente del conjugado y se agrega el conjugado para obtener una dilución de 1:100, la mezcla deberá permanecer en ambiente hasta su uso.

Procedimiento del Test

-Para el procedimiento todos los reactivos deberán alcanzar temperatura ambiente y antes de usarse se agita suavemente con movimientos circulares. Igualmente los viales conteniendo los sueros de sangre deberán alcanzar temperatura ambiente.

-La placa recubierta de antígeno, se colocó sobre una hoja blanca.

-Se vertió 50ul de control negativo en el pozo A1 y 50 ul en el pozo B1 el control positivo.

-A partir del pozo C1, en orden secuencial se vertieron en cada pocito 50ul de suero.

-Se Incubó por 1 hora a temperatura de 21 a 25°C, luego se desechó la muestra incubada en un recipiente para desechos.

-Se lavó los pocitos con 300 ul de solución de lavado a cada pozo utilizando micropipeta multicanal por dos veces, en cada lavado se desechó la solución de lavado, la placa lavada se colocó invertida sobre papel toalla, golpeando suavemente para transferir el líquido residual al material absorbente.

-Luego se vertió 50 ul del conjugado antibovino en cada pozo de la microplaca.

-La placa se colocó en el homogenizador por algunos segundos

-Y se procedió a incubar a 21 ó 25°C por 20 minutos.

-Seguidamente se desechó el conjugado.

- En cada pocito se vertió 300ul de solución de lavado con una pipeta multicanal y se procedió el lavado por 2 veces desechando la solución de lavado.
- La microplaca invertida se golpeó suavemente sobre papel toalla para descartar el residuo de la solución de lavado.
- Usando una micropipeta se vertió 50ul de substrato en cada pocito.
- La placa se colocó en el homogenizador por algunos segundos.
- Se procedió a incubar la placa por 20 minutos a 21 ó 25°C.
- Y se vertió 50ul de solución de frenada en cada pocito.
- Se volvió a homogenizar la placa por algunos segundos.
- Con papel toalla se limpió la base de la placa.
- Y se colocó en el lector de ELISA utilizando filtro de 650nm.
- Se procedió a registrar la densidad óptica.

Lectura de controles:

Control negativo : 1.120 D.O

Control positivo : 0.389 D.O

Cálculo del porcentaje de inhibición:

$$\%I = 10 - \left[\left(\frac{\text{Sample O.D.} \times 100}{\text{Mean Neg.control O.D.}} \right) \right]$$

% I = Porcentaje de inhibición.

Sample O.D : Densidad óptica de la muestra.

Mean neg. control O.D : Densidad óptica del control negativo.

Interpretación de los resultados:

≥ 30% inhibición, es positivo (+)

≤ 30% inhibición, es negativo (-)

Prueba de ELISA para el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB).

Principio:

Se basa en la detección de un antígeno inmovilizado (VDVB) sobre una fase sólida mediante anticuerpos que indirectamente producen una reacción, cuyo producto es un color que puede ser medido espectrofotométricamente. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal.

CHEKIT – DVB – SERO II. Enzime immunoassay.

Preparación de Soluciones.

El Kit antes de su uso deberá atemperarse a medio ambiente y las preparaciones de las soluciones estarán en relación a la cantidad de muestras de suero a analizarse. Para el preparado la solución de lavado se diluye a una concentración 1:10 (100 ml x 10 de concentrado + 900 ml de agua desionizada) y el conjugado se diluye a una concentración de 1:100.

Procedimiento del Test:

- El kit refrigerado se atemperó a medio ambiente, igualmente los viales conteniendo los sueros antes de su procesamiento.
- Se retiró de su envase la microplaca de 96 pozos y se colocó sobre una hoja blanca.
- Se dispensó con una micropipeta en cada pozo, 180 μ l de diluyente Buffer.
- En pozo A1 se vertió 20 μ l del control negativo y en el pozo B1, 20 μ l de control positivo.
- A partir del pozo C1 con una micropipeta se vertieron 20 μ l de suero en cada pozo en orden secuencial.
- La placa con las muestras se homogenizaron por 5 segundos
- Seguidamente se cubrió la placa con cinta adhesiva y se llevó a refrigeración a

2°C por 14 a 18 horas.

-Se desechó de la placa la muestra y el diluyente.

-Y se procedió al lavado vertiendo con una pipeta multicanal 300 ul de solución de lavado a cada pozo por 3 veces y en 2 tiempos, en cada lavado se desechó la solución.

-Se colocó la placa invertida sobre papel toalla golpeando suavemente para eliminar el líquido residual en el material absorbente.

-Seguidamente se vertió en cada pozo 200 ul de conjugado.

-La placa se homogenizó por unos segundos.

-Y se cubrió con cinta adhesiva, colocándola en una cámara húmeda llevando a incubar a 37°C por una hora.

-Concluido el tiempo se desechó el conjugado.

-Se procedió el lavado de la placa vertiendo con una pipeta múlticanal la solución de lavado de 300 ul en cada pozo por 3 veces y en dos tiempos.

-Se descartó la solución de lavado y la placa en forma invertida se golpeó suavemente sobre el papel toalla a fin de desechar la solución residual.

-Se dispensó con una micropipeta 200 ul de substrato en cada pozo luego y se cubrió la placa para evitar la exposición de la luz y se mantuvo en medio oscuro por tiempo breve.

-Se homogenizó la microplaca por unos segundos.

-Nuevamente se cubrió la placa evitando la exposición de la luz y manteniendola a temperatura ambiente de 25°C por 15 a 20 minutos.

-Se dispensó con una micropipeta, 50 ul en cada pozo solución de frenado o corte.

-Se homogenizó la placa por unos segundos, y se procedió a secar la base de la placa con papel absorbente.

-De inmediato se procedió a la lectura de la placa en el lector de ELISA utilizando filtro de 405 nm.

Lectura de los resultados:

D.O. control negativo (estándar) : 0.265

D.O. Control positivo (estándar) : 0.733

Formula:

$$Value(\%) = \frac{OD_{Sample} - OD_{Neg}}{OD_{Pos} - OD_{Neg}} \times 100\%$$

OD Sample = Densidad óptica de la muestra.

OD Negativa = Densidad óptica del control negativo.

OD positiva = Densidad óptica del control positivo.

Interpretación:

< 20% : Negativo.

20 - 30% : Ambiguo.

>30% : Positivo.

3.4. MÉTODO ESTADÍSTICO.

Prevalencia (p) se define como la probabilidad que el individuo seleccionado al azar de una población sufra la enfermedad, o es la proporción de casos de enfermedades existentes en una población durante un período o momento de tiempo. Mide el total de casos de enfermedad existente en un período de tiempo, sin diferenciar casos antiguos de los nuevos.

Seroprevalencia: Es la proporción de una población que ha resultado seropositiva a una infección. Para tal fin se aplica la siguiente fórmula:

$$P = \frac{N^{\circ} \text{ de muestras positivas}}{\text{Total de muestras}} \times 100$$

(Gonzales A., Falcón N., 2008).

Diseño Estadístico.

Se utilizó el experimento factorial de 3x2 conducido bajo un diseño bloque completo al azar considerando como factores: agentes infecciosos, lugar y como bloque edad de los bovinos considerando como variable respuesta seropositivos al VDVB, *Neospora caninum* y coexistencia de ambos, para ver si los factores influyen sobre la variable respuesta. Los datos transformados a logaritmos $\text{Log}_{10}(Y + 1)$ y $\text{Log}_{10}(X + 2)$ según sea el caso. El modelo lineal aditivo fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + P_k + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2, 3$$

$$j = 1, 2, 3$$

$$k = 1, 2, 7$$

Donde:

Y_{ijk} : Variable respuesta e la k-enésima observación, sujeto al j-enésimo nivel del factor B y sujeto al i-ésimo nivel del factor A

μ : Media poblacional.

P_k : Efecto de la K'-ésima edad de los bovinos lecheros (Bloque).

α_i : Efecto del i-ésimo lugar o procedencia.

β_j : Efecto del j-ésimo agente infeccioso (VDVB, *N. caninum* y coexistencia).

$(\alpha\beta)_{ij}$: Interacción entre el factor lugar de procedencia y agentes Infecciosos (VDVB, *N. caninum* y coexistencia).

ε_{ijk} : Error experimental.

Para los efectos principales significativos se realizó la prueba de significación múltiple de Tukey y para la interacción significativa se realizó el

análisis de varianza de efectos simples. Los datos estadísticos se procesaron con el sistema de análisis estadístico (SAS) versión 9.0.

Estudios Observacionales.

La evaluación de la asociación entre los determinantes (Factores de Riesgo) y la presentación de la enfermedad en una población, supone estimar el cambio absoluto o relativo del riesgo de presentar la enfermedad debido a la exposición del factor. La enfermedad y la exposición al factor se analizan tal y como ocurren en condiciones naturales en los animales.

Los estudios observacionales pueden ser de tres tipos según el tiempo: Transversales o de prevalencia; caso control o retrospectivos y de cohorte o prospectivos. En el estudio transversal la enfermedad se desarrolla en un momento concreto de tiempo sin considerar el estado sanitario ni la exposición al factor en momentos previos; En el presente estudio se ha aplicado el ODDS RATIO (OR) que representa el valor aproximado de riesgo a la enfermedad que supone estar expuesto al factor. La Fórmula es la siguiente:

$$OR = \frac{a/c}{b/d} = \frac{a-d}{b-c}$$

Donde:

a: verdaderos positivos.

b: falso positivos.

c: falso negativos.

d: verdaderos negativos.

Regla de Decisión:

- Valores menores de 1 indican que no existe asociación mensurable entre la

exposición al determinante y el estado de enfermedad.

- Valores diferentes a 1 indican que el factor tiene una influencia mensurable a la presentación de la enfermedad.
- Valores mayores de 1 indica que existe un incremento de riesgo de la presentación de la enfermedad al factor expuesto (Martin *et al.*, 1999; Gonzales *et al.*, 2008)

CAPÍTULO IV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. Seroprevalencia de los agentes infecciosos: Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y *Neospora caninum*, responsables de enfermedades reproductivas en bovinos lecheros de las cuencas de Taraco, Progreso y Cabanillas de la Región Puno.

4.1.1. Seroprevalencia del Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en bovino lecheros de las cuencas de Taraco, Progreso y Cabanillas de la Región Puno.

Los resultados del análisis serológico mediante la prueba de ELISA indirecta para detectar anticuerpos contra el Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en 206 bovinos lecheros en producción, procedentes de las cuencas lecheras de Taraco, Progreso y Cabanillas de la Región Puno, se muestran en el cuadro 1.

CUADRO 1

**SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB)
EN TRES CUENCAS LECHERAS DE LA REGIÓN PUNO – 2008.**

Cuencas Lecheras	Bovinos		Seronegativo		Ambiguo		Seropositivo	
	N°	N°	%	N°	%	N°	%	
Taraco (prov. Huancané)	138	40	28,98	07	5,07	91	65,94	
Progreso (Prov. Azángaro)	106	40	37,74	04	3,77	62	58,49	
Cabanillas (Prov. S. Román)	16	12	75,00	0	0,00	04	25,00	
TOTAL	260	92		11		157		

Fuente: Elaboración propia.

Observándose que del total de 138 sueros sanguíneos de bovinos lecheros muestreados en la cuenca de Taraco, 65,94% (91) fueron seropositivos, 28,98% (40) resultaron negativos y 5,07% (7) presentaron reacción ambigua o dudosa. De 106 muestras de suero procedentes de bovinos lecheros de la cuenca de Progreso, 58,49% (62) fueron seropositivos, 37,74% (40) resultaron negativos y 3,77% (4) presentaron reacción ambigua. De 16 muestras que procedieron de la cuenca de Cabanillas, el 25,00% (4) fueron seropositivos y el 75% (12) resultaron seronegativos frente al Virus de la diarrea viral bovina (VDVB).

La mayor seroprevalencia obtenida para la cuenca lechera de Taraco, está relacionado con el grado de mejora genética de los vacunos lecheros y a la introducción de reproductores provenientes de zonas con alta prevalencia para DVB, como la costa y Arequipa que para el año 2005 reportó una prevalencia del 78.2% (Manrique, 2007). Para la cuenca de Progreso la seroprevalencia resultó alta y en ambas cuencas lecheras supera el 50%. En las zonas

estudiadas, los productores y criadores tienen interés creciente en la mejora de su ganado lechero, lo que les está permitiendo mejorar su productividad, y los ubica como cuencas de mayor potencial lechero; en relación a la microcuenca de Cabanillas los vacunos muestran baja mejora genética lo cual se manifiesta relativamente en el bajo nivel de producción de leche. En el presente estudio la prevalencia determinada es inferior a lo reportado por (Reinhardt, 1992) a nivel mundial, señalando entre 70% y 90%. Un trabajo realizado por (Kampa *et al.*, 2004), para el Nor-Este de Tailandia en vacunos lecheros estableció una prevalencia del 73% de infección latente o subclínica; para nuestro país (Rivera, 1993), refiere una prevalencia mayor al 50%, dato que concordaría con los resultados obtenidos para las cuencas de Taraco y Progreso de la región Puno.

Estudios a nivel nacional y local realizados en Bovinos lecheros, reportan prevalencias muy superiores, así, (Contreras *et al.*, 2000) para 3 provincias del valle Mantaro- Junín, determina 86,3%; para la provincia de Concepción-Jauja 83,3%, y para Huancayo 41.3% de prevalencia. En el estudio epidemiológico de las principales zonas zo ecológicas de la cuenca lechera de Arequipa por (Manrique, 2007), determina para el año 2000 (58,7%); año 2001 (47,8%); año 2002 (61,5%) año 2003 (65,6%); año 2004 (89,3%), año 2005 (78,2%), demostrando un incremento significativo de prevalencia del VDVB en el transcurso de los años. (Quispe, 2006) al realizar un estudio serológico mediante ELISA indirecta en 377 vacunos jóvenes, adultos, machos y hembras, en 09 distritos de la provincia de Melgar, estableció una prevalencia general de $47\% \pm 0.05$, relativamente inferior a Taraco y Progreso, pero superior al de Cabanillas, sin embargo está demostrado la presencia del VDVB

y confirmando la influencia de la introducción de reproductores portadores de VDVB en éstas y otras zonas del altiplano. Aplicando ELISA indirecta en 204 muestras de leche se estableció $98,0 \pm 1,9\%$ de prevalencia para el VDVB y en 286 muestras de suero sanguíneo $47,2\%$ y $8,7\%$ de prevalencia para animales PI procedentes de la Irrigación Majes de Arequipa (Huamán *et al.*, 2007).

Es necesario mencionar que al momento de la toma de muestra de sangre, los bovinos muestreados en su gran mayoría se encontraban aparentemente sanos en muy pocos casos el criador manifestó tener problemas de aborto, repeticiones de celo, infertilidad, siendo más frecuente las diarreas; lo observado permite inferir que la presentación de ésta enfermedad es subclínica (Rivera, 1993), la misma que afirma que la infección subclínica es la forma más predominante para el Perú; esta afirmación es corroborado, al señalar que en el Perú la DVB es principalmente de tipo subclínico posiblemente debido a la benignidad del clima y a la menor densidad de población bovina. Se menciona que la infección causada por el VDVB en un 70% a 90% es subclínica (Lértora, 2003), del mismo modo se manifiesta que en la DVB la forma más predominante es la infección subclínica o bien de carácter moderado (Obando *et al.*, 2006). Debido a su rol inmunosupresor el VDVB puede potenciar o favorecer el desarrollo de enfermedades secundarias sobre todo de tipo respiratorio y diarreico (Campero, 2002), se afirma que es un hecho comprobado que en zonas con alta producción bovina se incrementa la prevalencia de infección y rebaños de mayor tamaño normalmente presentan prevalencias altas (Corrales, 2003). Los resultados de seroprevalencia encontrados para Taraco y Progreso superan el 50%, sin embargo son muy

inferiores a los reportados para las cuencas lecheras de Arequipa, Huancayo – Junín, que cuentan con una mayor población de vacunos lecheros y sistemas de explotación intensivo, comparado con la sierra alto andina de la Región Puno donde la crianza de vacunos se maneja dentro de sistemas de producción familiar mixto y explotación extensiva, resultados casi similares obtuvo (Quispe,2006) 47% de prevalencia, con características de crianza y explotación similar.

4.1.2. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros de las cuencas de Taraco, Progreso y Cabanillas de la Región Puno.

Los resultados de los análisis serológicos, obtenidos en sueros bovinos, mediante la prueba de ELISA indirecta, de las cuencas de Taraco, Progreso y Cabanillas de la Región Puno, se muestran en el siguiente cuadro 2.

CUADRO 2

SEROPREVALENCIA DE *N. caninum* EN BOVINOS LECHEROS DE TRES CUENCAS DE LA REGIÓN PUNO – 2008.

Cuencas Lecheras	Bovinos	Seronegativos		Seropositivos	
	N°	N°	%	N°	%
Taraco (Prov. Huancané)	138	125	90,58	13	9,42
Progreso (Prov. Azángaro)	106	97	91,51	09	8,49
Cabanillas (Prov. S.Román)	16	16	0,00	00	0,00

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados muestran que, de 138 sueros sanguíneos de bovinos lecheros procedentes de la cuenca de Taraco, 9,42% (13) resultaron seropositivos y el 90,58 % (125) sueros fueron seronegativos; para la cuenca de Progreso de 106 sueros, 8,49% (9) resultaron positivos y el 91,51% (97) seronegativos; no encontrándose vacunos lecheros seropositivos en la cuenca de Cabanillas.

La mayor prevalencia de *N. caninum* en la cuenca de Taraco, probablemente se debe al mayor número de canes que cría cada familia, cuyo índice es de 1,8; para Progreso 1.2 y Cabanillas 1.0 (Anexo 7). La seroprevalencia obtenida en el presente estudio es inferior a lo reportado por (Atoccsa *et al.*, 2005) para la provincia de Melgar Puno, en un 18,1%, además establece que los factores edad y procedencia son factores de riesgo y posiblemente la seroprevalencia de *N. caninum* esté relacionado con el número de canes. De forma similar (Huarachi, 2008), para el CIP Chuquibambilla en ganado lechero de la raza Brown Swiss y criollos obtiene una prevalencia del 15,28% y señala que el hospedero definitivo que es el perro quién cumple el rol de propagador del parásito contaminando las zonas de pastoreo. Los valores de prevalencia determinados para algunas zonas del altiplano de la Región Puno, son relativamente bajos comparados con otras regiones del Perú así, para Cajamarca se determina una seroprevalencia de 42,9% (Cabrera *et al.*, 2000), y estudios en fetos abortados de vacunos lecheros del Valle de Lima se determinó 55,2% de antígeno de *N. caninum* y 62,1% de anticuerpos anti-neospora (Rivera *et al.*, 2000) y para vacunos lecheros del Valle de Lima 29.61% de prevalencia (Silva, 2002). En el Departamento de Amazonas, se reportó 40,38% de prevalencia en bovinos lecheros mayores de dos años de la

raza Brown Swiss (Quevedo *et al.*,2003). Estudios en canes para determinar anticuerpos anti-neospora, realizados en 104 canes procedentes de establos lecheros del Valle de Lima (Del Campo *et al.*,2003), demostró 58,8% seropositividad para *N.caninum* y para dos distritos de Chachapoyas, muestreándose 63 canes de Molinopampa y 79 de Leymebamba encontraron una seropositividad frente a *N. caninum*, de $28,5 \pm 7,5\%$ y $24.1 \pm 9.4 \%$ respectivamente (Horna *et al.*,2003), estudios serológicos en los mismos dos distritos de la provincia de Chachapoyas-Amazonas, realizados en 265 sueros de vacas lecheras de la raza Brown Swiss de sistema de crianza extensivo, determinaron 40,4% de prevalencia, además concluyen que la presencia de anticuerpos anti-neospora en los bovinos se debe, que en algún momento de la etapa pre y post natal estuvieron expuestos al parásito (Cabello *et al.*, 2003).

Las prevalencias determinadas para Taraco y Progreso respecto a Cabanillas podría explicarse, que la mayoría de los fundos muestreados practican el sistema de crianza de hatos abiertos con el afán de mejorar la producción de leche, con la consiguiente introducción de animales de reemplazo (reproductores), posiblemente la enfermedad se ha establecido en la zona con la llegada de animales infectados con *Neospora caninum*, procedentes de zonas de alta prevalencia, la informalidad y ausencia de un control sanitario básico en la adquisición del ganado habrían facilitado el ingreso de esta infección, por otra parte la transmisión vertical transplacentaria que es el principal modo de infección en el ganado bovino, parece ser el papel relevante en el propagación y mantenimiento de la enfermedad, la transmisión horizontal del ganado bovino adulto y tendría lugar la ruta oro-fecal (Anderson *et al.*, 1997) el hospedador definitivo específicamente el perro y el zorro

infectados, eliminan pequeñas cantidades de ooquistes, contaminando el medio: pastos, forrajes, agua de bebida y piensos almacenados así lo señala (Moore *et al.*, 2002). Se ha demostrado experimentalmente, que los ooquistes son infectantes cuando se administran por vía oral a terneros y a vacas gestantes, por otro lado la infección postnatal en el perro puede tener lugar por la ingestión de tejidos de bovinos infectados (fetos abortados, placentas y restos de animales muertos) calostro o leche de animales contaminados con taquizoitos (Silva, 2003). Durante el estudio las vacas seropositivas no mostraban ningún síntoma clínico; como lo señalan varios autores en una infección subclínica el único síntoma es el aborto y las zonas o hatos con altas tasas de aborto está relacionado con el manejo, administración de alimentos contaminados con heces del hospedador definitivo, hongos y toxinas, alteraciones del sistema inmunitario por stress y otros agentes infecciosos como el VDVB. Los resultados permiten inferir que la infección está presente en los hatos lecheros de la Región Puno y tendría la tendencia de elevarse si no se realiza controles como está sucediendo en la cuenca lechera de Arequipa cuya prevalencia es elevada (Manrique, 2007). El poblador altoandino convive con los perros llegando a ser integrante de la familia, desde animales de compañía, guardianes de la casa y pastores de animales de producción. En todos los hatos muestreados en éste estudio fue notorio la presencia de canes de 1 a 6 inclusive y la práctica de pastoreo en el altiplano de la Región Puno es el sistema extensivo mixto, donde existe estrecha convivencia de vacunos con otros animales y el perro. La infección primaria podría deberse a la exposición de ooquistes excretados por el hospedero definitivo que es el perro y por tanto el principal factor de difusión contaminando

con heces las pasturas, el agua y alimentos donde las vacas conviven, al ingerir los focos de contaminación adquieren la enfermedad. La presencia de canes sugiere que cumplen un rol importante en la propagación de la Neosporosis. Así otros estudios, coinciden al señalar que existe una estrecha relación entre bovinos lecheros y perros de establos con la tasa de prevalencia y que el ingreso del parásito es a través del hospedero definitivo (Del Campo *et al.*, 2003; Horna *et al.*, 2003).

4.2. Coexistencia de los agentes infecciosos de las enfermedades reproductivas; Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y *N. caninum* en bovinos lecheros, de las cuencas de Taraco, Progreso y Cabanillas de la Región Puno.

CUADRO 3

COEXISTENCIA DE LOS AGENTES INFECCIOSOS DE ENFERMEDADES REPRODUCTIVAS EN BOVINOS DE TRES CUENCAS LECHERAS DE LA REGIÓN PUNO- 2008.

Cuencas Lecheras	Bovinos		Seropositivos VDVB		Seropositivos N. Caninum		Seropositivos VDVB + N. Caninum	
	N°	N°	%	N°	%	N°	%	
Taraco (prov. Huancané)	138	84	60,86	06	4,34	07	5,07	
Progreso. (Prov. Azángaro)	106	56	52,83	03	2,83	06	5,66	
Cabanillas (Prov. S.Román)	16	04	025,00	00	0,00	00	000	

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados ELISA (Cuadro 3) demuestran la coexistencia de los dos agentes infecciosos de enfermedades reproductivas: VDVB y *Neospora caninum*. Del total de 138 sueros sanguíneos procedentes de vacunos lecheros

de la cuenca de Taraco, 60,86% (84) sueros, presentaron anticuerpos contra VDVB, 4,34% (6) resultaron seropositivos para *N. caninum* y 5,07% (7) sueros bovinos presentaron simultáneamente anticuerpos contra VDVB y *N. caninum* determinando infección concomitante por ambos agentes infecciosos. Para la cuenca de Progreso de 106 sueros de animales muestreados 52,83% (56), presentaron anticuerpos contra el VDVB, 2,83% (3) resultaron seropositivos para *N. caninum*; y en el 5,66% (6) sueros, se detectaron anticuerpos para los dos agentes infecciosos; VDVB y *N. caninum* simultáneamente. Para la cuenca de Cabanillas los bovinos muestreados no resultaron seropositivos para ambos Agentes infecciosos. Los resultados comparados a otras zonas del País, son relativamente bajas, la diferencia estaría sustentada por los factores medio ambientales: temperatura ambiental, humedad relativa, altitud, tipo de manejo, además factores posiblemente genéticos (Fredes *et al.*, 2000), hace mención que varios autores han comprobado el efecto sinérgico entre el VDVB y *N.caninum*, y sugieren que el VDVB adquiere un papel importante comprometiendo el sistema inmune y que potencia la enfermedad de la neosporosis cuando los agentes afectan al huésped de manera simultánea.

Los resultados del presente estudio lo corrobora (Rivera *et al.*, 2000) al señalar que VDVB y *N.caninum* constituyen los principales agentes abortígenos y de pérdidas embrionarias en ganado lechero del valle de Lima, al muestrear 29 fetos abortados y 29 muestras de sangre de las madres que abortaron; mediante la prueba de ELISA indirecta y de inmunofluorescencia indirecta (IFI) determinó que el 69,0% de vacas presentaban anticuerpos contra el VDVB y 62,1% anticuerpos contra *N. caninum*; 2 fetos presentaban simultáneamente antígenos del VDVB y *N. caninum* concluyendo la ocurrencia de infecciones

concomitantes en los bovinos lecheros y sugiere tal vez el sinergismo de ambos agentes incrementaría el riesgo de aborto; del mismo modo los resultados obtenidos son inferiores al reportado, en un estudio realizado en un predio sur-oeste de la ciudad de Temuco- comuna de Freire – Chile, al analizar 27 sueros de bovinos lecheros, se determinó que 16 (16/27) que corresponde al 59,3% presentaban en forma concomitante anticuerpos contra el VDVB y *N. caninum*, menciona que estos resultados, se debería a muchos factores entre ellos manejo y factores ambientales (Barrientos, 2004); para el sur de Viet Nam, se obtiene una seroprevalencia para *N.caninum* de 38% para bovinos lecheros de la raza Holstein y 53% para los híbridos nativos y para el VDVB 78% y 93% respectivamente (Duong, 2004). Varios autores han demostrado que el VDVB posee acción inmunosupresora facilitando la invasión de otros patógenos a través de la barrera, materno-fetal, por la inmunosupresión que provoca el virus y en el caso de *N. caninum*, ésta llevaría la ruptura de los quistes en el tejido infectado con la recrudescencia de la infección latente (Houe, 1995), un estudio sobre agentes virales en un rebaño mixto de Caylloma-Arequipa, se demuestra que el ovino presenta mayor seropositividad al VDVB y *N. caninum* (Manchego *et al.*, 1998) y en bovinos lecheros del CIP Chuquibambilla se determinó una prevalencia del 15,28% para *N.caninun* (Huarachi, 2008), el mismo autor atribuye los resultados a la infección concomitante con el VDVB. Los mecanismos de inmunosupresión causados por el Virus de la diarrea viral bovina (VDVB), han sido estudiados y se atribuye que pueden modificar varios aspectos del sistema inmune; los linfocitos y los macrófagos son blancos específicos de este virus. En las infecciones agudas sistémicas resulta una leucopenia transitoria con disminución del tejido linfoide;

trabajos publicados reportan que existe una disminución de los linfocitos T, B y neutrófilos en infecciones por VDVB. Algunos estudios "in Vitro" sugieren posibles causas de inmunosupresión por el VDVB, entre ellos la creciente disminución de los estímulos mitogénicos de los linfocitos infectados reducción en la producción de Interferón, menor producción de Interleucinas 1 y 2, así como el factor alfa de Necrosis tumoral y disminución de la respuesta quimiotáctica de los monocitos, los neutrófilos presentarían menor actividad de su sistema bactericida, también la citotoxicidad de estas células pueden estar significativamente deteriorada; por consiguiente las vacas seropositivas para el VDVB por la inmunosupresión que presentan tienen alta probabilidad de infectarse con *N. caninum* al ingerir ooquistes en alimentos contaminados con heces del perro (Cebrián *et al.*, 2004). Del mismo modo, se hace referencia que el VDVB ocasiona leucopenia y altera las funciones de los leucocitos, aumentando la patogenicidad de microorganismos coinfectantes, tiene una fuerte afinidad por el tejido linforreticular ocasionando necrosis y atrofia de dichos tejidos; en el tejido linfoide el virus se localiza principalmente en las células del estroma, incluyendo macrófagos y células de soporte. En las comunidades alto andinas es característica la crianza extensiva mixta y la estrecha convivencia de canes con los animales lo cual facilitaría la transmisión horizontal de *N. caninum*. Por otro lado la menor prevalencia encontrada, estaría relacionada probablemente a una relativa baja prevalencia de *N. caninum* en perros de la Región, por lo que será necesario realizar estudios en canes, sin embargo se demuestra la coexistencia de ambos agentes en un huésped bovino (Obando *et al.*, 2006).

4.3 Factores de Riesgo asociados al Virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y *N.caninum* : edad, procedencia, sistemas de explotación, tipo de crianza y falta de conocimiento de las enfermedades por los criadores, en las cuencas lecheras de Taraco, Progreso y Cabanillas de la Región Puno.

CUADRO 4

BOVINOS SEROPOSITIVOS PARA VDVB, *N.caninum* Y COEXISTENCIA DE AMBOS, SEGÚN LUGAR DE PROCEDENCIA EN TRES CUENCAS LECHERAS DE LA REGIÓN PUNO – 2008.

Lugares	n	Promedio	Tukey (P ≤ 0,05)
Taraco	21	4,6190	a
Progreso	21	3,0952	a
Cabanillas	21	0,7619	b

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados del ANVA (Anexo 3) no muestran diferencia significativa para el factor edad en las vacas lecheras seropositivas al VDVB, *N. caninum* y coexistencia de ambas, de las cuencas lecheras de Taraco, Progreso y Cabanillas de la región Puno, en cambio para el efecto lugar de procedencia y factor agentes infecciosos, presentaron ambos diferencia estadística significativa y el efecto interacción lugar y agentes infecciosos son independientes ó se debe al azar. Según los resultados (Cuadro 4), la presencia de bovinos seropositivos para el efecto lugar, comparados con la prueba múltiple de Tukey no hay diferencia entre las cuencas lecheras de Taraco y Progreso los mismos que superan a la microcuenca de Cabanillas que posee menor número de animales seropositivos. Al respecto, al estudiar

vacas lecheras de la provincia de Melgar Puno, determinaron una relación estadística significativa para las variables edad y lugar de procedencia, pero a su vez afirman que las evidencias epidemiológicas encontradas en el estudio no son suficientes para asegurar que la variable edad sea verdaderamente un factor de riesgo (Atoccsa *et al.*, 2005). Los resultados obtenidos en el presente estudio, demuestran que no existe diferencia estadística para el factor edad, este resultado se atribuirá que en el estudio, solo se muestrearon vacas lecheras en producción cuya edad estuvo comprendida entre 2 a 8 años y bovinos mayores de 8 años fueron muy escasos. Razón por lo que no se demostró edad como factor de riesgo para los agentes de las infecciones investigadas. Estudios al respecto señalan que la enfermedad de la DVB varía respecto a la edad, inmunogenicidad específica al virus infectante, dosis invasiva, virulencia y la interacción de otros factores como el estado inmune del hospedador, factores estresantes y otros patógenos comunes (Lértora, 2003). Investigaciones anteriores por otros autores determinaron que los grupos de mayor riesgo son: los becerros, vacas gestantes y vaquillonas antes de entrar al servicio; los becerros pueden infectarse en la etapa perinatal, es decir en el último periodo de gestación o después de nacer, desarrollando una severa enteritis, la presentación de la enfermedad entérica en terneros recién nacidos puede afectar hasta en un 50% (Rivera, 1993) quién a su vez estima que entre el 1 al 5% de bovinos de 6 meses a 2 años pueden presentar la forma clínica de la enfermedad. Al estudiar vacunos lecheros en cuatro predios de la IX Región de Chile se determinó, que vaquillas de primer parto presentaban 37% de seropositividad al VDVB, terneros 35,6% y vacas con más de dos partos 27,4%, concluyendo que terneros y vaquillonas son más susceptibles a

infectarse con el VDVB y la ocurrencia es a temprana edad, debido al sistema de explotación, ya que los terneros son apartados de su madre y no tienen suficiente inmunidad; en las vaquillonas se incrementa su exposición al virus al pastorear con las vacas adultas (Barrientos, 2004). En vacunos lecheros de Tailandia al estudiar 220 sueros de leche en vacas de 5 a 10 años de edad, se determina que el factor edad no es significativo (Kampa *et al.*, 2004).

Para la provincia de Melgar Región Puno, se demostró, que vacas mayores de 2 años presentaron una prevalencia del 53,6% y son mas susceptibles al VDVB, comparado con animales menores de dos años, cuya prevalencia fue del 36,6%, se atribuye los resultados a que los animales mayores están más expuestos a campo abierto (Quispe, 2006); en un estudio de seroprevalencia en Elazig una provincia al este de Turquía, se analizó 89 sueros sanguíneos de vacas que presentaban celos repetidos y 94 preñadas de las razas Holstein y Brown Swiss respectivamente, concluyendo que no existe relación estadística significativa entre raza y edad (Samisimsek *et al.*, 2008). En las vacas gestantes el feto puede ser infectado transplacentariamente lo que ocasionaría la muerte embrionaria, aborto, defectos congénitos, atrofia, el nacimiento de un becerro normal pero seropositivo, o el nacimiento de un ternero persistentemente infectado (PI) o inmunotolerante. Estudios realizados en bovinos lecheros para detectar anticuerpos contra *Neospora caninum*, han determinado una mayor seroprevalencia en vacas adultas, seguido de terneros y vacas gestantes, estableciendo además que la transmisión vertical es la principal ruta de infección, con una eficiencia del 80% (Corrales *et al.*, 2003). Si la infección en el feto no resulta en aborto, la cría resultante puede convertirse en un portador clínicamente sano (asintomático) que podría transmitir la

infección a las siguientes generaciones, así lo señala (Andresen *et al.*, 1999). En un estudio de prevalencia realizado en vacas lecheras de la provincia de Chachapoyas, se señala que las vacas de mayor edad tienen mayor tiempo de exposición al medio ambiente y por tanto la probabilidad de infectarse es mayor, sin embargo menciona que los factores procedencia y edad no mostraron diferencia estadística significativa; por tanto los factores estudiados no representan factores de riesgo (Quevedo *et al.*, 2003). Resultados de seroprevalencia para *N. caninum* en el CIP Chuquibambilla de la provincia de Melgar, realizados en vacunos de diferentes edades se determinó 22,2% para terneras, 5,56% para vaquillas y 33,33% para vacas en producción sin embargo, no se demuestra diferencia estadística significativa para el factor edad (Huarachi, 2008), resultados de investigaciones, señalan que las vacas de alta producción, son sensibles al estrés, lo que condicionaría la infección por agentes patógenos, por consiguiente la mayor infección estaría relacionada con el manejo (Duong, 2004; Dieguez *et al.*, 2008).

CUADRO 5

AGENTES INFECCIOSOS: VIRUS DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB), *N. CANINUM* Y COEXISTENCIA DE AMBOS EN BOVINOS LECHEROS SEROPOSITIVOS EN TRES CUENCAS DE LA REGIÓN PUNO.

Bovinos lecheros seropositivos	n	promedio	Tukey (P ≤ 0,05)
VDVB	21	7,4286	a
<i>N.caninum</i>	21	0,6190	b
VDVB + <i>N.caninum</i>	21	0,4286	b

Fuente: Elaboración propia.

En el ANVA (Anexo 3) se demuestra diferencia estadística significativa para el efecto principal del factor seropositivos, por lo que se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey (Cuadro 5) a un nivel de significancia ($P \leq 0,05$) demostrando que los valores promedio de seroprevalencia del VDVB en bovinos lecheros de las cuencas lecheras de Taraco, Progreso y la microcuenca de Cabanillas supera a los bovinos seropositivos de *N. caninum* y coexistencia de ambos. Por consiguiente la mayor seroprevalencia es para el agente Virus de la diarrea viral bovina (VDVB), respecto a los animales seropositivos por el parásito *Neospora caninum*, y bovinos seropositivos con infecciones concomitantes por el VDVB y *N. caninum*, cuyos resultados de dos últimos son similares.

Un aspecto importante del estudio fue el número de bovinos seropositivos a los agentes infecciosos VDVB, *N. caninum* y coexistencia de ambos por hato lechero (Anexo 4 y 5) el resultados fué significativo ($P \leq 0,05$) por lo que se realizó el análisis de varianza de efectos simples para la interacción, lo que implica que los niveles de agentes infecciosos con los niveles de lugar de procedencia presentaron diferencias en el número de bovinos seropositivos. Respecto a los hatos lecheros, se señala: aquellos con baja prevalencia al VDVB, existiría esporádica introducción de animales de reemplazo y en hatos con altas prevalencias la introducción sería con mas frecuencia (Betancur *et al.*, 2007). En la región altiplánica es muy frecuente el movimiento de ganado, frecuentemente existen exposiciones, subastas, ferias, donde los animales susceptibles tiene mayor probabilidad de infectarse con agentes patógenos.

Comparando la presencia de vacunos lecheros seropositivos al VDVB,

N. caninum y coexistencia de ambos en los hatos lecheros de las cuencas de Taraco, Progreso y Cabanillas se determinó la existencia de dos grupos diferentes: Hatos con mayor número de bovinos seropositivos y hatos con menos animales seropositivos; los resultados están en relación al número de animales muestreados por hato lechero; durante el muestreo se observó que el número y composición de vacunos por hato era totalmente diferente, la composición difería de 01 a 10 bovinos en producción.

Los resultados muestran que existe suficiente evidencia para afirmar (Anexo 6) que la presentación de los agentes infecciosos de las enfermedades reproductivas: Diarrea viral bovina (DVB), Neosporosis y coexistencia de ambas, difieren significativamente ($P \leq 0,01$) en las cuencas lecheras de Taraco y Progreso, respecto a la cuenca de Cabanillas.

La mayor seroprevalencia de bovinos positivos al VDVB, se atribuiría a la reposición de animales de reemplazo congénitamente infectados, provenientes de zonas de altas prevalencia o con infecciones agudas que son los principales reservorios ya que eliminan grandes cantidades del virus en sus excreciones y secreciones. En los hatos se diseminan las enfermedades cuando se introducen animales PI, hembras preñadas con fetos Pi o animales cursando infecciones agudas, resultados de trabajos de investigación han comprobado que rebaños con mayor tamaño o alta densidad, la seroprevalencia para el VDVB es elevada y el riesgo de introducir un animal con infección aguda es del 8% (Corrales *et al.*, 2003).

Los resultados del estudio observacional ODDS RATIO (OR), (Anexo 8 al 13) evidencian la relación existente entre seroprevalencia del VDVB y *N. caninum*, con el sistema de explotación extensiva en las cuencas lecheras

estudiadas de la Región Puno. La práctica de éste sistema de explotación representa el 15,4% del total de sistemas de producción lechera a nivel nacional (INIA, 2005), así de 31 hatos muestreados para la cuenca de Taraco, 26 practicaban el tipo de explotación extensiva y solo 5 la crianza semintensiva; en la cuenca de Progreso de 18 hatos muestreados 17 tenían la práctica de explotación extensiva y en la cuenca de Cabanillas el sistema de explotación en su mayoría fue el extensivo (Anexo 8).

El resultado (OR= 1,02), determina la influencia del sistema de explotación extensiva en la presentación de la enfermedad DVB en las tres cuencas lecheras estudiadas. Estudios anteriores, obtuvieron 47% de prevalencia para el VDVB, en bovinos de la provincia de Melgar, criados bajo el sistema de explotación extensiva (Quispe, 2006), resultados serológicos realizados en un rebaño mixto de crianza extensiva, obtienen una seroprevalencia de 81,8% (Cabello *et al.*, 2006), los autores anteriores, afirman la influencia del sistema extensivo en la presentación de una alta prevalencia para el VDVB. Para la cuenca de Taraco (OR=1,39) determina que la explotación extensiva, es un factor que influye en la presentación de la Neosporosis. Así otros estudios para la provincia de Chachapoyas, demuestran una alta seroprevalencia de neosporosis en bovinos lecheros de la raza Brown Swiss, criados bajo el sistema de explotación extensiva y se atribuye que uno de los factores es la introducción de animales infectados procedentes de Cajamarca y de Lima donde los agentes virales y parasitarios se encuentran ampliamente diseminados (Quevedo *et al.*, 2003). Otro estudio, atribuye al sistema de explotación extensiva, en la prevalencia encontrada para el CIP Chuquibambilla, se señala además, que el pastoreo es típico de la zona del

altiplano y sería un factor de propagación para la neosporosis en ganado bovino, al estar en contacto directo los animales con el hospedero definitivo (Huarachi, 2008).

El tipo de crianza mixta constituye factor de riesgo (OR= 1.44) para la presentación de la enfermedad Diarrea viral bovina (DVB) en las cuencas lecheras de Taraco, Progreso y Cabanillas de la Región Puno; respecto del tipo de crianza mixta asociada sistema agropastoril con recursos forrajeros nativos, constituye la base del sistema de producción en el altiplano (Cabello *et al.*, 2006).

Los resultados (OR) demuestran que existe influencia, entre el tipo de crianza mixta y la alta prevalencia para el Virus de la diarrea viral bovina (VDVB), lo cuál es confirmado por otro autor al señalar como factor de riesgo, el sistema de explotación extensiva y crianza mixta, en la presentación y diseminación de los agentes infecciosos de las enfermedades diarrea viral bovina (DVB) y neosporosis (Moya *et al.*, 2003), contrariamente otra investigación, determina una mayor prevalencia en sistemas de explotación intensiva y semintensiva (Barrientos, 2002). Lo que hace necesario investigar mas a fondo el impacto de los sistema de explotación bovina en esta región del altiplano. La crianza mixta es una característica confirmada en las zonas alto andinas de la Región Puno, los rebaños mixtos están constituidos por ovinos, porcinos, equinos, camélidos y numerosa presencia de canes. Durante el estudio se observó que el número y composición de animales era variable y se encontraban en estrecha convivencia entre especies, compartiendo las áreas de pastoreo, lo que facilitaría la transmisión horizontal de los agentes infecciosos de las enfermedades bovinas , así está demostrado entre ganado

ovino y vacuno, entre ganado porcino y ovino; un estudio en una comunidad de Caylloma-Arequipa determinan una alta prevalencia del VDVB en rebaños mixtos: 40% en ovinos, 14% en alpacas y 10% en llamas (Manchego *et al* ,1998) así mismo se confirma la existencia de *N. caninum* en llamas en un 16,7 %, en dos hatos mixtos de la provincia de Melgar, demostrando que estos agentes infecciosos cruzan la barrera de especie y se concluye que rebaños mixtos sin medidas zoonosanitarias y no vacunados presentan mayor prevalencia (Moya *et al.*, 2003), en un estudio para determinar agentes patógenos y VDVB en un rebaño mixto de una comunidad de Calca-Cuzco, cuya composición fue de 66 bovinos, 21 alpacas y 52 ovinos; se estableció para los bovinos una prevalencia del 90% de VDVB; para ovinos 28,3% y para alpacas 15,8%, resultados que han permitido confirmar la transmisión horizontal entre especies en rebaños mixtos y la coexistencia del VDVB con otros agentes patógenos (Cabello *et al.*, 2006).

Los resultados demuestran un riesgo mayor (OR= 3.85) en la presentación de *N. caninum*, cuando no se cuenta con parideros o áreas de maternidad en los establos, corrales o cobertizos. En la mayoría de hatos muestreados las condiciones de las instalaciones eran deficientes así como la falta de áreas adecuadas de manejo, fue frecuente observar pisos sucios con desniveles, tierra lodosa con heces, comederos deficientes e insuficientes, falta de sombra; estos factores sumado a las condiciones ambientales como las bajas temperaturas, vientos fuertes,, lluvia y otros que condicionaría al estrés en el ganado bovino lechero afectando la eficiencia del aparato inmunocompetente, que las hace más susceptible a las enfermedades; comúnmente se observó que la mayoría de hatos no contaba con áreas

específicas de parición, los criadores desconocen que los parideros deben ser lugares limpios bien ventilados, frecuentemente desinfectados y la paja debe ser cambiada entre parto y parto. Resultados de otro autor, menciona que las condiciones deficientes de crianza y de manejo en el ganado bovino lechero condicionaría la presentación de enfermedades infecciosas, ya que los ganaderos siempre reportan ocurrencia de metritis, abortos, neumonías, pero no llevan registros, lo que imposibilita cuantificar las pérdidas (Quevedo *et al.*, 2003).

El resultado (OR= 1,64) demuestra que existe riesgo de presentación de *N.caninum*, influenciada por el factor, no se separa animales enfermos, la razón se debe al desconocimiento de los criadores, que no realizan con frecuencia esta actividad que evitaría la diseminación y transmisión de las enfermedades. Estudios anteriores, refieren que los sistemas de alojamiento propician mayor contacto entre animales favoreciendo la transmisión horizontal y como resultado es la alta prevalencia de las enfermedades en los hatos. Recomendando que las vaquillonas deben pastorear en forma separada y su parición debe ser en lugares limpios y separados de los adultos (Corrales *et al.*, 2003).

El resultado (OR= 1,55) determina la influencia del factor de riesgo al desconocimiento de las enfermedades por parte de los criadores, frente al agente infeccioso *N.caninum*, y (OR= 1,02) indica la influencia del factor de riesgo, cuando no se realiza un adecuado control sanitario. Respecto a los factores mencionados, se señala que una necesidad importante es el conocimiento epidemiológico de las enfermedades, basadas en los análisis de seroprevalencia, con lo cual se conocería el nivel de infección de las

enfermedades involucradas en la cría y explotación del ganado vacuno lechero, los cuales han tenido amplia difusión por el desconocimiento epidemiológico (Corrales *et al.*, 2003). En la región altiplánica el riesgo se debe a que los criadores desconocen la epidemiología de estas enfermedades y no están capacitados adecuadamente en aspectos sanitarios de otras enfermedades. Por las encuestas se determinó que los hatos lecheros, cuentan con el control sanitario de las enfermedades más comunes por parte del SENASA y el conocimiento por parte de los criadores fue regular o mínima para enfermedades comunes, desconociendo las enfermedades DVB y Neosporosis. En la cuenca de Taraco, criadores de 14 hatos de bovinos lecheros, 05 en Progreso y 02 en Cabanillas manifestaron tener problemas de aborto, repeticiones de celo y dificultades de preñez en forma frecuente; sobre la interrogante si separaban los animales enfermos, generalmente no lo hacen, ésta falta de conocimiento estaría facilitando la transmisión de las enfermedades en los bovinos lecheros. La ganadería alto andina está constituida por pequeños ganaderos, que en su mayoría cuentan en promedio con 10 vacas en producción y existe un interés creciente por parte de los productores de éstas zonas en mejorar la calidad del ganado bovino lechero, preferentemente de la raza Brown Swiss, o cruces de Brown Swiss. La composición de hatos está conformado por vacas en producción, vacas preñadas, vaquillonas, vaquillas de reemplazo, terneras en lactación, toros, toretes y terneras en promedio de 5 a más de 20 por hato, esta ganadería está más enmarcada en la crianza de ganado productor de leche y su alimentación es principalmente con pastos naturales suplementados con pastos cultivados como alfalfa, Rye grass, trébol y forraje de cebada. Por el gran interés de

mejorar el ganado lechero por estas zonas o cuencas se practica el mejoramiento genético, por adquisición de reproductores en las ferias ganaderas, igualmente para la mejor reproducción prefieren la inseminación artificial. El movimiento del ganado es frecuente en las exposiciones, concursos, subastas y ferias, donde se exponen animales de diversas edades y especies; constituyendo también factor de riesgo para la transmisión horizontal en animales susceptibles, en especial hembras seronegativas o recién preñadas que al entrar en contacto con animales portadores o asintomáticos sufren contagio. A pesar de los problemas reproductivos, el mejoramiento ganadero y el incremento de animales está permitiendo elevar la productividad que ubica a Taraco como la cuenca de mayor potencial lechero al igual que Progreso, sin embargo está faltando capacitación y asistencia técnica, igualmente aplicación de programas de medicina preventiva, se coincide en señalar que la ganadería en nuestro país está mostrando una evolución muy marcada en su nivel de productividad en ganado productor de leche y ganado de doble propósito (Corrales *et al.*, 2003). Paradójicamente están evolucionando agentes infecciosos de enfermedades como el VDVB y *N. caninum*, que ocasionan trastornos reproductivos que causan gran impacto en la producción bovina lechera. Por lo que en las zonas ganaderas del altiplano urge la necesidad de capacitar al productor en procedimientos de manejo orientado a la prevención de enfermedades, que en algunas oportunidades son producidos por error humano de manejo y que con frecuencia derivan en problemas de salud afectando la economía del rebaño.

CONCLUSIONES

- PRIMERA.-** La seroprevalencia del virus de la Diarrea viral bovina (VDVB) en bovinos lecheros de la de Taraco fue de 65,94%, Progreso 58,49% y Cabanillas 25,00% .
- SEGUNDA.-** La seroprevalencia del parásito *Neospora caninum* en bovinos lecheros de la cuenca de Taraco resultó 9,42% , Progreso 8,49% y 0,0% para Cabanillas.
- TERCERA.-** La seroprevalencia de la coexistencia de los agentes infecciosos VDVB y *N. caninum* en el huésped bovino, fue de 5,07% para Taraco, 5,66% para Progreso y 0.0% para Cabanillas.
- CUARTA.-** El ANVA para bovinos seropositivos al VDVB, *N.caninum*, coexistencia de ambos e interacción; para el factor edad no se demostró diferencia significativa y para el factor lugar de procedencia por agentes infecciosos, hubo diferencia significativa ($P \leq 0,05$).
- QUINTA.-** Resultados (OR), para factores de riesgo asociados al VDVB y *N. caninum* demostró: riesgo (OR=102) en la explotación extensiva, crianza mixta (OR=1,44) y mayor riesgo (OR=3,85) al factor falta de parideros para *N.caninum*. Riesgo (OR=1,64) cuando no se separan animales enfermos e influencia del factor (OR=1,55) a la falta de conocimiento de las enfermedades por parte de los criadores y cuando no se realiza un control sanitario adecuado (OR=1,02), en la presentación de *N.caninum*.

RECOMENDACIONES.

- PRIMERA.-** Realizar estudios de seroprevalencia del VDVB y *N.caninum* en hatos mixtos, para determinar la transmisión horizontal entre especies.
- SEGUNDA.-** Realizar controles en los hatos bovinos, identificando animales persistentemente infectados (PI) y con infección aguda del VDVB para su eliminación como estrategia indispensable.
- TERCERA.-** A las entidades responsables, establecer programas de prevención, control y erradicación de las enfermedades Diarrea viral bovina (DVB) y Neosporosis en las cuencas lecheras de la Región Puno.
- CUARTA.-** La escasa información de estas enfermedades en la zona alto andina de la Región Puno, hace necesario investigar la real prevalencia, epidemiología y el impacto en los sistemas de explotación bovina.
- QUINTA.-** Realizar estudios de prevalencia de *Neospora caninum* en canes de la Región Puno.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Alfonso H, Rivera H, Aranga R, Manchego S. 2006. Evaluación de anticuerpos contra el Virus de la Diarrea Viral Bovina en un Hato en proceso de Erradicación de la Enfermedad, Rev.Investg. Vet. Enero 1,p.p.1-2; ISSN 1609-9117.
2. Anderson M., Adrianarivo A., Conrad P. 2000. Neosporosis in cattle. Anim. Reprod. Sci. 60: 417-431.
3. Andresen H. 1999. Neosporosis en el Perú y en el Mundo. Mv. Revista de Ciencias Veterinarias. 15 (4): 11 – 16p.p.
4. Atoccsa J., Chávez A., Casas E., Falcón P. 2005. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros criados al pastoreo en la provincia de Melgar, Puno. Rev. Inv. Vet. Perú. Vol. 16, Lima enero/junio.
5. Barrientos Cárdenas S. 2002. Presencia de anticuerpos neutralizantes contra el virus de diarrea viral bovina (VDVB) en sueros bovinos de 4 predios de la IX Región. Tesis, Universidad de Temuco – Chile, DIVET
6. Betancur H.,Gorgorza L.,Martinez F. 2007. Seroepidemiología de DVB en Montería Córdoba, Colombia. Analecta Veterinaria 27(2) ISSN 0365-5148.

7. Cabello R., Quispe Ch., Rivera H. 2006. Frecuencia de los virus Parainfluenza 3, Respiratorio sincitial y Diarrea Viral Bovina en un rebaño mixto de una comunidad campesina-Cuzco. Rev. Investg.Vet. Perú N° 145, 1 de Junio p.p.1-2 ISSN 16099117.
8. Campero M. 2002. Patología Veterinaria. INTA E.E.A.BALCARCE, Rev. Idia BS. AS,P.P. 127-131.
9. Cabrera M., Ortiz P., Claxto J., Williams D., Trees A. 2000. Evidencia serológica de infección por *Neospora caninum* en ganado vacuno en el Perú. IV Congreso de Parasitología. 212 p.p.
10. Cebrián I., Barberán M., Ferrer I. 2004. Neosporosis Bovina Agroveterinaria. Vet. Inv. Marzo, ISSN, 1688- 2075. Dpto. Patología Animal, Zaragoza.
11. Celedon M., Quinteros G. Roco R. 1997. Puesta en evidencia del V_DV_D en bovinos clínicamente afectados. Arch. Med. Vet., 1997, Vol 29, N° 2, p. 189-195.
12. Contreras O., Stahl K., Arana C., Rivera H. 2000. Anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en muestras de leche de bovinos del valle de Mantaro (Jauja, Concepción y Huancayo) Rev. Inv. Perú 12(2): 167 - 122.
13. Corrales J., García S. 2003. Epidemiología e Importancia económica de la DVB. Info. Vet. Ciencias V.FEBOL, p.p. 1-30.
14. Del campo J., Chávez A., Delgado A., Falcon N., Ornelas A., Casas E., Serrano E. 2003. Frecuencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros del Valle de Lima. Rev. Inv. Vet. Perú 14(2): 145-149.

15. Dieguez, F., Yus, E., San Juan, M., Vilar M., Arnaiz I. 2008. Monitoring bovine viral diarrhoea (BVDV) Infection status in dairy herds. *Pesq. Vet. Bras.* 28(12) dezembro, p.p.588-592.
16. Duong Chi Mai 2004. *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus infections in dairy cattle. Depart. Of Clinical Vet. Med. usspala Sweden p.o. box 7017, SE 75007.
17. Fredes M., Fernando G. 2000. La Neosporosis una parasitosis Emergente. *Tecno Vet.* Diciembre Nº 6.
18. Gonzales, A., Falcon, N. 2008. *Epidemiología Veterinaria. Serie de Monografías salud Animal UNMSM Lab. Med. Prev. Vet.* p.p. 1-26.
19. Genin, D. 1994. *Sistemas de crianza extensiva en el Altiplano Boliviano.* IBTA-CRSP-CHD, ORSTOM, Nº7 p.p.70.
20. Georgieva, D., Prelezov, P., Koinarski, T. 2006. *Neospora caninum* and neosporosis en animals A. review. *Bulg. J. Vet. Med.* 9, Nº1, 1-26.
21. Heuer, C., Healy, A., Zerbini, C. 2007. Economic effects exposure to bovine viral diarrhoea virus en dairy herds in New Zeland. *J. Dairy Sci: American Dairy Science Association* 90:5428-5438, DOI:103168.
22. Horna, S., Chávez, A., Rivera H., Casas, E., Serrano, E. 2003. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en caninos de dos distritos de la provincia de Chachapoyas. *Rev. Invest. Vet. Perú.* Vol. 14, Nº 2 Lima jul/dic.
23. Houe, H. 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Clin. of North Am. Food Animal practice.* 11(3): 521 – 547.

24. Huamán, J., Rivera, H., Aranibar, M., Gavidia, C., Manchego, A. 2007. Diarrea viral bovina y animales portadores del virus en hatos productores de leche en la irrigación de Majes, Arequipa. Rev. Invet. Perú, V 18. n2, julio-diciembre, Lima –Perú.
25. Huarachi, G. 2008. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos del Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla de la Provincia de Melgar –Puno. Tesis Mev. Vet y Zoot. UNA-Puno.
26. INEI. 2004. Compendio Estadístico Perú.
27. Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA). 2005. La investigación en sistemas Extensivos de producción. Portal veterinaria N° 2, p.p.3-6.
28. Lértora, W. 2003. Inmunohistoquímica en biopsias de piel : bulbosulbos pilosos, para el diagnóstico de bovinos persistentemente infectados con el virus diarrea viral bovina. Tesis maestría Universidad Austral de Chile. Pág. 61 – 90.
29. Lértora, W. 2003. Diarrea Viral Bovina: Actualización. Rev. Vet. 14:1, 42-51 p.p.
30. Lindberg, A., Alenius, S., 1999, Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. Veterinary Microbiology 64 (1999) 197-222.
31. Manchego, A., Rivera, H., Rosadio, R.1998. Seroprevalencia de agentes virales en rebaños mixtos de una comunidad Andina peruana. Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú). 9: 1-10.
32. Manrique, G. 2002. Aborto viral. Medicina A de la Producción. LABVETSUR Año 1, N° 1, Julio 2002.

33. Manrique, G. 2007. Series históricas 2000-2005 de seroprevalencia de Diarrea viral bovina (DVB), Rinotraqueitis infecciosa (IBR) y Neosporosis bovina por zonas zo ecológicas de la Región Arequipa. Revista Medicina A de la Producción, LABVETSUR.
34. Martin, S., Meek, H., Willeberg, P. 1999. Veterinaria: Principios y Métodos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza-España, ISBN: 84-200-08238. p.p.137-198.
35. Moore, D., Odeon A., Venturini, M., Campero, C. 2005. Neosporosis bovina: Conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. Rev. Argent. Microbiol. Vol. 37 N° 4, oct/dic. ISSN 0325-7541
36. Morales, C. 2001. Detección de terneros con infección congénita con el virus de la Diarrea viral bovina en hatos lecheros de la Provincia de Arequipa. Tesis para obtener el Título de Médico Veterinario – UNM.
37. Moya, R., Chavez, A., Casas E., Serrano, E., Falcon N., Pezo D. 2003. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en llamas de la provincia de Melgar, Puno. Rev. Inv. Vet. Perú 2003; 14 (2): 155 – 160.
38. Miller, R. 1994. The Veterinary Clinics of North America.SAUNDERS COMPANY, VOL. 10, Number 3: 205 – 514.
39. Obando, C., Ocanto, D., Hidalgo, M., Rodriguez, J., Durán, R. 2006. Efecto de la infección con los virus de Rinotraqueitis infecciosa bovina y Diarrea viral sobre la reproducción en bovinos no vacunados. Int. Inv. Vet. CENIAP – INIA. Veteri. – 14 (3): 1 – 14.
40. Paz, V. 2005. Neosporosis en Bovinos y caninos. Mon. Electr. Patol Vet. 2(1): 17-33. ISSN 0718-0780.

41. Patitucci, A., Phil, M., Pérez, M., Rosas, M. 2000. Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en dos rebaños lecheros de la IX región de Chile. Arch. Med. Vet. vol 32 N°2, ISSN 0718-0780.
42. Progranichniy, R., Raizman, E., Thacker, L., Stevenson, W. 2008. Prevalence y Caracterizacion of bovine viral diarrrhea virus in the White Tailed deer population in Indiana. J.Vet. Diag. Investg. 20: 71-74.
43. Quevedo, V., Chavez A., Rivera, H., Casa, E., Serrano, E. 2003. Neosporosis en bovinos lecheros de dos distritos de la provincia de Chachapoyas. Rev. Investg. Vet. Perú Vol 14n en/jun, p.p.1-6. ISSN 1609-9117.
44. Quispe, O. 2006. Prevalencia de diarrea viral bovina en la Provincia de Melgar-Puno. Tesis para obtener el título de Médico veterinario –UNA, Puno.
45. Reinhardt, V., Germán, A., Gonzales, R., Stella, E., Babaic, T., Nestor, A., 2000. Muestreo predial pequeño para predecir una infección activa por Virus diarrea viral bovina (VDVB) en plantones lecheros de la IX Región de Chile. Arch. Med. Vet. Vol. 34 (1) 2002.
46. Ridpath, J. 1996. Secuence diversity and gentiping, Internacional Symposium Bovine viral diarrea virus, 50 years. Reviw. Cornel University USA, PP. 39 -92.
47. Rivera, H. 1993. el virus de la diarrea viral bovina (DVB).Investigaciones pecuarias. enero-julio, vol.06 N°1
48. Rivera, H., Alvitrez, R., Manchego, N., Rosadio, R., 1997.Aborto por herpes equino. Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú) 8:49 – 55.

49. Rivera, H., Manchego, A., Sandoval, N., Vargas, A., Araujo, A., Gon A., Rosadio, R., 1993. Aborto infeccioso en bovinos lecheros del valle de Lima. Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú). 6 (1): 31 – 37.
50. Rivera, H., Manchego, A., Sandoval, N., Morales, C., Flores, E. 1994. Complejo respiratorio bovino en terneros del valle de Lima. Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú). 7 (1): 35 – 38.
51. Rivera, H., Nelson, D., Tabachi, L. 2000. *Neospora caninum* y otros agentes en fetos abortados de bovinos lecheros del valle de Lima. Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú).
52. Samisimsek Armagan, Erdem Utuk, Ergum koroglu, Nazir Dumanli, Alí Risvanli. 2008. Seroprevalence of *Neospora caninum* in repeat breeder dairy cows in Turkey. Arch. Tierz Dummerstorf. 51(2), p.p. 143-148.
53. SENASA, 2006. Dirección de información agraria, Producción pecuaria (DIA-DRAP-Puno)
54. Silva, P. 2003. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del valle de Lima. Tesis de Médico Veterinario, facultad de Med. Veterinaria UNMSM. Lima, Perú.42 p.
55. Stahl, K., Rivera, H., Vagsholm, I., Moreno, L. 2002. Bulk milk testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV –1in a rural region of Perú. Preventive veterinary medicina 56 (2002): 193 – 202.
56. Tizard, I.R., 1995. Immunology: An Introduction, 4^a edición. Saunders College Publishing, New York, pp 844-862.

57. Williams, D.J., Davison, H.C., *et al.* 1999. Evaluation of a commercial ELISA for detecting serum, antibody to *Neospore caninum* in cattle. *Vet. Rec.* 1999; 154:571 – 575.
58. Zacarias, E., 2002 Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis infecciosa en bovinos criollos de Parinacochas, Ayacucho. *Rev. Inv. Vet. (Perú)* 13n. 2, Lima Jul., Dic.
59. Zanabria, V., Rivera H., Rosadio R., 2000. Etiología del síndrome neumónico agudo en vacunos de engorde en Lima. *Rev. Inv. Vet. Perú* 11 (2): 67 – 85.
60. Kampa, J., Sthal, K., Moreno, L., Chanlun, A., Aiumlamais, S., Alenius, S. 2004. BVDV and BHI-1 Infections in dairy herds Thailand. *Acta Vet. Scand* 45. 181-192.

ANEXOS.

TAMAÑO DE MUESTRA PARA CADA CUENCA LECHERA MEDIANTE LA ASIGNACIÓN DE NEYMAN.

La muestra estuvo conformada por 260 vacas lecheras en producción procedentes del universo de estudio: Cuencas lecheras de Progreso, Taraco, Cabanillas del departamento de Puno, la cual fue seleccionada, utilizando muestreo aleatorio estratificado para proporciones con asignación de Neyman. Como el valor del parámetro es desconocido se asume $P_h: 0.50$ para un tamaño de muestra apropiado. Los estratos están conformado por el número de bovinos lecheros en producción; Progreso con 6,300; Taraco con 8,000 y Cabanillas con 1,040 (DIA DRAP – SENASA 2006). El tamaño de muestra se determino con una precisión de, $d = 0.06$ y un nivel de confianza del 95%, determinándose la varianza mediante la siguiente fórmula:

$$V = \left[\frac{d}{2} \right]^2$$

$$V = \left[\frac{0.06}{1.96} \right]^2$$

$$V = 0.0009371095$$

CUADRO 1
TAMAÑO DE MUESTRA.

ESTRATOS	nh	Wh	Ph	Qh	$Wh\sqrt{PhQh}$
PROGRESO	6,300	0.41	0.5	0.5	0.20
TARACO	8,000	0.52	0.5	0.5	0.26
CABANILLAS	1,040	0.06	0.5	0.5	0.03
Σ	15,340	1.00			

Fuente: Elaboración propia.

En vista que la fracción de muestra es inferior al 5% para la asignación de tamaño de muestra por estratos se aplica la siguiente fórmula:

$$n_0 = \frac{[\sum Wh\sqrt{PhQh}]^2}{V}$$

$$n_0 = \frac{(0.5)^2}{0.0009371095}$$

$$n_0 = 266.77$$

$$n_0 = 267$$

$$\frac{n_0}{N} \times 100$$

$$\frac{267}{15,340} \times 100 = 1.7\%$$

CUADRO 2

**TAMAÑO DE MUESTRA PARA CADA CUENCA LECHERA
MEDIANTE LA ASIGNACIÓN DE NEYMAN.**

CUENCAS LECHERAS (ESTRATOS)	Nº Vacas Producción nh	A.N. Wh	Muestra nh
PROGRESO	6,300	0.41	106
TARACO	8,000	0.52	138
CABANILLAS	1,040	0.06	16
TOTAL	15,340	1.00	260

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO 3

ANVA, PARA BOVINOS SEROPOSITIVOS DE LOS AGENTES INFECCIOSOS VDVB, *N. caninum* Y COEXISTENCIA DE AMBOS, SEGÚN EDAD, LUGAR DE PROCEDENCIA E INTERACCIÓN, EN LAS CUENCAS LECHERAS DE TARACO, PROGRESO Y CABANILLAS DE LA REGION PUNO 2008.

F de V	GI	SC	CM	Fc
Edad (bloque)	6	0,58961827	0,09826970	1,89 n.s.
Lugar (L)	2	1,54097181	0,77048590	14,82 **
Agentes infecciosos (A)	2	5,43898028	2,71949014	52,29 **
Interacción L X A	4	0,40098712	0,10024678	1,93 n.s.
Error experimental	48	2,49626537	0,05200553	
TOTAL	62	10,46682275		

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO 4

ANVA PARA BOVINOS SEROPOSITIVOS DE LOS AGENTES INFECCIOSOS VDVB, *N. caninum* Y COEXISTENCIA DE AMBOS POR HATO LECHERO Y POR LUGAR DE PROCEDENCIA 2008.

F de V	GI	SC	CM	Fc
Hato	5	1,44480927	0,28896185	8,96 **
Lugar P (L)	2	0,95317599	0,47658800	14,77 **
A. Infecciosos (A)	2	1,64833104	0,82416552	25,55 **
Interacción L X A	4	0,63711551	0,15927888	4,94 **
Error experimental	40	1,29049583	0,03226240	
TOTAL	53	5,97392765		

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO 5
PRUEBA MÚLTIPLE DE SIGNIFICACIÓN TUKEY PARA BOVINOS
SEROPOSITIVOS POR HATO LECHERO, 2008.

Bovinos lecheros seropositivos Por hato	n	Promedio	Tukey (P ≤ 0,05)
6	9	11.56	a
3	9	2.22	b
4	9	2.11	b
5	9	1.22	b
2	9	0.78	b
1	9	0.56	b

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO 6
ANVA DE EFECTOS SIMPLES PARA LA INTERACCIÓN LUGAR DE
PROCEDENCIA POR AGENTES INFECCIOSOS EN LAS CUENCAS
LECHERAS DE TARACO, PROGRESO Y CABANILLAS, 2008.

F de V	GL	SC	CM	Fc
Es. del factor A dentro de Cabanillas	2	0,036612	0,018306	0,57 n.s
Es. del factor A dentro de Progreso	2	0,531440	0,265722	8,24 **
Es. del factor A dentro de Taraco	2	1,717390	0,858695	26,62 **
Es. del factor L dentro de Ambos	2	0,067280	0,0336400	1,04 n.s
Es. del factor L dentro de DVB	2	1,459026	0,729513	22,61 **
Es. del factor L dentro de Neosporosis	2	0,063985	0,031993	0,99 n.s
Error Experimental	40	1,290496	0,032262	

Es: Efecto simple A : Agentes infecciosos L : Lugar de procedencia

CUADRO 7

CONSOLIDADO DE LOS FACTORES DE RIESGO PARA LAS ENFERMEDADES REPRODUCTIVAS DVB Y NEOSPOROSIS EN LAS CUENCAS LECHERAS DE TARACO, PROGRESO Y CABANILLAS, 2008.

CUENCAS	N° HATOS	TIPO DE EXPLOTACION		SISTEMA DE CRIANZA		ESTABLOS			PARIDEROS		CONTROL SANITARIO		SEPARA A E		CONTROL ENFERMED.			PROBLEMA REPROD.			N° CANES
		EXT.	SEMIEXT.	MIX	NO MIX	SI	EV	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	RE	NO	AB	RC	RP	
TARACO	31	26	05	20	11	11	06	14	07	24	26	05	12	19	19	10	02	14	05	02	56
PROGRESO	18	17	01	02	16	05	07	06	01	17	16	00	08	10	10	07	01	05	05	00	23
CABANILLAS	02	02	00	00	02	00	02	00	00	02	02	00	02	00	02	00	00	02	02	00	02

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO 8
FACTOR DE RIESGO (OR) TIPO DE EXPLOTACIÓN EXTENSIVA PARA
VDVB y *N. caninum*.

TIPO DE EXPLOTACIÓN	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
Extensivo	139	91	
Semi Extensivo	18	12	
TOTAL	157	103	260

Fuente: Elaboración propia.
OR: 1,02

CUADRO 9
FACTOR DE RIESGO (OR) SISTEMA DE CRIANZA MIXTA PARA VDVB Y *N.*
***caninum*.**

CRIANZA	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
Mixta	87	66	
No Mixta	70	37	
TOTAL	157	103	260

Fuente: Elaboración propia.
OR: 1,43523

CUADRO 10
FACTOR DE RIESGO (OR) NO CUENTAN CON PARIDEROS PARA *N.*
***caninum*.**

PARIDEROS	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
Si	4	13	
No parideros	18	225	
TOTAL	22	238	260

Fuente: Elaboración propia.
OR: 3,84615

CUADRO 11

FACTOR DE RIESGO (OR) DESCONOCIMIENTO DE ENFERMEDADES POR LO CRIADORES PARA *N. caninum*.

CONOCE ENF.	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
Desconoce enf.	20	206	
Si conoce	2	32	
TOTAL	22	238	260

Fuente: Elaboración propia.

OR: 1,5534

CUADRO 12

FACTOR DE RIESGO (OR) NO SEPARA ANIMALES ENFERMOS PARA *N. caninum*.

SEPARA AN. ENF.	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
No separa	14	123	
Si separa	8	115	
TOTAL	22	238	260

Fuente: Elaboración propia.

OR: 1,63618

CUADRO 13

FACTOR DE RIESGO (OR) DEFICIENTE CONTROL SANITARIO *N. caninum*.

CONTROL SANIT.	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
No	20	216	
No Mixta	8	22	
TOTAL	22	238	260

Fuente: Elaboración propia.

OR: 1,02



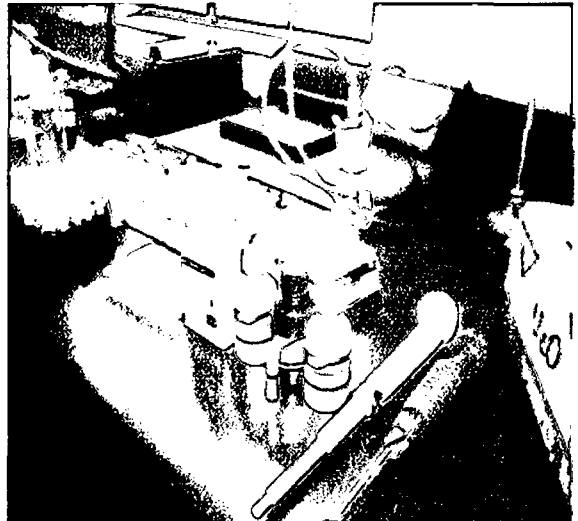
Ganado Vacuno Brown Swiss



Toma de muestra sanguínea



Obtención de sueros



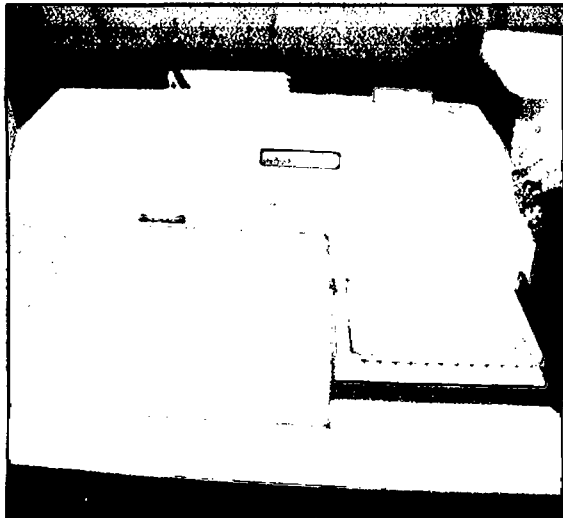
Kit de ELISA



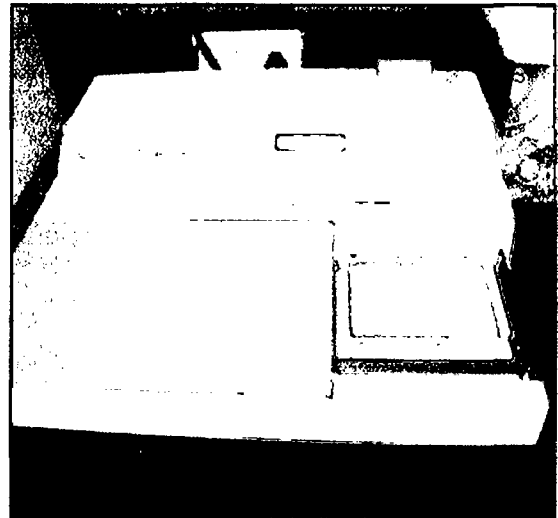
Procedimiento del Test



Procedimiento del Test



Resultados ELISA *N. Caninum*



Resultados ELISA para VDVB

RESULTADOS DE ELISA PARA DVB

Muestra : Suero sanguíneo de vacas lecheras en producción
 Lugar : Cuenca lechera de Taraco, Provincia de Huancané
 Fecha : 23 de Abril del 2008
 Interpretación: <20% (-); 20-30% Ambiguo; >30 % (+)
 Lectura de controles: Control (-): 0,265; Control (+): 0,733

Nº	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
1	Bella	0,307	8,11	-
2	Joulida	0,596	70,72	+
3	Dani	0,517	53,84	+
4	Chela	0,433	35,89	+
5	Negrita	0,266	- 0,21	-
6	Reinita	0,574	66,02	+
7	Diana	0,268	0,64	-
8	Maltona	0,264	0,21	-
9	Dani	0,459	41,45	+
10	Reina	0,309	0,40	-
11	Gloria	0,248	- 3,63	-
12	Pequi	0,331	14,10	-
13	Gabi	0,348	17,73	-
14	Olimpia	0,248	-3,63	-
15	Princesa	0,736	100,64	+
16	Gabriela	0,607	73,07	+
17	Joyita	0,506	51,49	+
18	Chantal	0,291	5,55	-
19	Lis	0,614	74,57	+
20	Kelly	0,707	94,44	+
21	Flor de maría	0,615	74,78	+
22	Venus	0,273	1,70	-
23	Jasmín	0,465	42,73	+
24	Princesa	0,677	88,03	+
25	Zulema	0,217	10,25	-
26	Gabriela	0,651	82,47	+
27	Shakira	0,458	41,23	+
28	Saraí	0,263	-0,42	-
29	Estrella	0,508	51,92	+
30	Rosalinda	0,453	40,17	+
31	Camila	0,559	62,82	+
32	Yesenia	0,561	63,24	+
33	Yoselyn	1,322	225,85	+
34	Taili	0,455	40,59	-
35	Aurora	0,459	41,45	+
36	Dania	0,430	35,25	+
37	Yanita	0,691	91,02	+
38	Alicia	0,412	31,41	+
39	Yola	0,522	61,32	+
40	Chela	0,289	4,48	-
41	Negrita	0,586	68,58	+

Nº	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
42	Lisa	0,325	12,82	-
43	Isabel	0,411	31,19	+
44	Maili	0,726	98,50	+
45	Tania	0,389	26,49	±
46	Blanca	0,545	59,82	+
47	Poly	0,465	42,73	+
48	Carolina	0,545	59,82	+
49	Agatha	0,236	06,19	-
50	Ninoska	0,216	10,47	-
51	Tusa	0,307	8,97	-
52	Vicuña	0,321	11,96	-
53	Mayra	0,234	6,62	-
54	Lisacha	0,261	0,85	-
55	Panana	0,562	63,46	+
56	Castaña-criollo	0,588	69,01	+
57	Gloria	0,682	89,10	+
58	Margarita	0,246	4,05	-
59	Lola	0,610	73,71	+
60	Camila	0,840	124,14	+
61	Ermi	0,252	2,77	-
62	Nelly	0,636	79,27	+
63	Landy	0,543	59,40	+
64	Candy	0,485	47,00	+
65	Juanita	0,287	7,70	-
66	Elsa	0,360	20,09	-
67	Ruth	0,579	67,09	+
68	DINA	0,568	64,74	+
69	Heliane	0,490	48,07	+
70	Macuta	0,365	21,36	±
71	Silvana	0,631	20,01	-
72	Magasi	0,422	33,54	+
73	Rosacha	0,227	8,11	-
74	Calancha	0,259	1,28	-
75	China	0,264	0,21	-
76	Rally	0,370	22,43	±
77	Blanky	0,435	36,32	+
78	Rocio	0,424	33,97	+
79	Matica	0,265	0,00	-
80	Lola	0,486	47,22	+
81	Rosina	0,218	10,04	-
82	18029	0,718	96,79	-
83	Parda	0,537	58,11	+
84	Enjalmada	0,668	86,11	+
85	Melisa	0,681	88,88	+
86	Parda	0,409	30,76	+
87	Yanela	0,589	69,23	+
88	Chola	0,487	49,57	+
89	Amarilla	0,275	2,13	-
90	Negra	0,620	75,85	+

Nº	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
91	Fany	0,418	32,69	+
92	Negra	0,472	44,23	+
93	China	0,468	43,37	+
94	Adriana	0,272	1,49	-
95	Sandra	0,595	70,51	+
96	Karol	0,680	88,67	+
97	Marina	0,541	58,97	+
98	Asunta	0,566	64,31	+
99	Magda	1,307	222,64	+
100	Candy	0,298	7,05	-
101	Blanca	0,558	62,60	+
102	Concepción	0,434	36,11	+
103	Nena	0,354	19,01	-
104	Camila	0,320	11,75	-
105	Marilyn	0,638	79,70	+
106	Milena	0,608	73,29	+
107	Dorada	0,550	60,89	-
108	Imelda	0,279	2,99	+
109	Mónica	0,825	119,65	+
110	Karina	0,715	96,15	+
111	Lily	0,455	40,59	+
112	China	0,547	60,25	+
113	Nancy	0,574	66,02	+
114	Martha	0,428	34,82	+
115	María	0,432	35,68	+
116	Yulisa	0,624	76,70	+
117	Pardo	0,229	-7,69	-
118	Lorena	0,829	120,51	+
119	Malena	0,738	101,06	+
120	Loba	0,524	55,34	+
121	Jimena	0,833	121,36	+
122	Manila	0,637	79,48	+
123	Pardo	0,591	69,65	+
124	Pardo II	0,468	43,37	+
125	Pardo III	0,398	28,41	±
126	Castaña	0,515	53,41	+
127	Samira	0,447	38,88	+
128	Marina	0,399	28,63	±
129	Lida	0,367	21,79	±
130	Pardo	0,474	44,65	+
131	Eva	0,538	58,33	+
132	Cirila	0,361	20,50	-
133	Juanita	0,471	44,01	+
134	Martina	0,527	55,98	+
135	Lucy	0,440	37,39	+
136	Clara	0,727	98,71	+
137	Rosa	0,372	22,86	±
138	Criolla-Castaña	0,336	15,17	-

RESULTADOS DE ELISA PARA DVB

Muestra : Suero sanguíneo de vacas lecheras en producción
 Lugar : Cuenca lechera de Progreso, Provincia de Azángaro
 Fecha : 25 de Abril del 2008.
 Interpretación: <20% (-); 20-30 % Ambiguo > 30% (+)
 Lectura de controles: Control (-): 0,265; Control (+): 0,733

Nº	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
1	Tajla	0,646	81,41	+
2	Barrigona	0,818	118,16	+
3	Marisol	0,652	82,69	+
4	Ely	0,296	06,62	-
5	Sonia	0,454	40,38	+
6	Tany	0,245	04,27	-
7	Elena	0,506	51,49	+
8	Blanca	0,542	59,18	+
9	Flor	0,836	122,00	+
10	Rosa	0,277	02,56	-
11	Gisela	0,760	105,76	+
12	Yanela	0,820	118,58	+
13	Chipa	0,606	72,86	+
14	Chabela	0,827	120,08	+
15	Olga	0,456	40,81	+
16	María	0,847	124,35	+
17	Lali	0,895	134,61	+
18	Negra	0,766	107,05	+
19	Lindauro	0,558	62,60	+
20	Dori	0,769	107,69	+
21	S/n	0,63 1	78,20	+
22	Rosa	0,589	69,23	+
23	Moly	0,254	02,35	-
24	Tania	0,456	40,81	+
25	Valen	0,229	07,69	-
26	Negra	0,273	01,70	-
27	Liza	0,301	07,69	-
28	Yuli	0,268	0,64	-
29	Isabel	0,285	04,27	-
30	Nieves	0,956	147,76	+
31	Nataly	0,239	05,56	-
32	Miriam	0,226	08,33	-
33	Caty	0,802	114,74	+
34	Teresa	0,371	22,64	±
35	Yola	0,426	34,40	+
36	Rosi	0,345	17,09	-
37	Dina	0,338	15,59	-
38	Miki	0,293	05,98	-
39	Liza	0,761	105,98	+
40	Lourdes	0,499	50,00	+
41	Yola	0,339	15,81	-

Nº	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
42	Teresa	0,319	11,53	-
43	Martha	0,266	0,21	-
44	Leticia	0,373	23,07	±
45	Marga	0,325	12,82	-
46	Nila	0,298	07,05	-
47	Norma	0,752	104,05	+
48	Coreana	0,845	123,93	+
49	Anela	0,339	15,81	-
50	Lucero	0,260	01,06	-
51	Basilía	0,303	08,11	-
52	Sumi	0,288	04,91	-
53	Silvana	0,716	96,36	+
54	María F.	0,301	08,11	-
55	Buqui	0,287	04,70	-
56	Negra	0,381	24,78	±
57	Serapia	0,716	96,36	+
58	Lourdes	0,609	73,50	+
59	Karina	0,625	76,92	+
60	Rocío	0,578	66,88	+
61	Diana	0,664	85,25	+
62	Caty	0,658	83,97	+
63	Rosa	0,701	93,16	+
64	Mari	0,758	105,34	+
65	Dina	1,086	175,42	+
66	India	0,542	59,18	+
67	Nancy	0,706	94,23	+
68	Ada	0,638	79,70	+
69	Naty	0,782	110,47	+
70	Mary	0,646	81,41	+
71	Nelly	0,419	32,90	+
72	Petrona	0,458	41,23	+
73	Cachuda	0,650	82,26	+
74	Culebrita	0,315	10,68	-
75	Ana	0,361	20,01	-
76	Yesenia	0,740	101,49	+
77	Jimena	0,512	52,77	+
78	Carolina	0,321	11,96	-
79	Cachuda	0,274	01,92	-
80	Ganso	0,435	36,41	+
81	Malta	0,279	02,99	-
82	Dina	0,667	85,68	+
83	Mocha	0,649	82,05	+
84	Sabina	0,666	85,68	+
85	Martina	0,617	75,21	+
86	Nancy	0,328	13,46	-
87	Sara	0,273	01,70	-
88	Elena	0,455	40,59	+
89	Nilda	0,273	01,70	-
90	María	0,417	32,47	+

N°	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
91	Nancy	0,454	40,38	+
92	Melanie	0,330	13,88	-
93	Rubí	0,328	03,41	-
94	Salomé	0,625	76,92	+
95	Delia	0,521	54,70	+
96	Blanca	0,418	32,69	+
97	Nelly	0,374	23,29	±
98	Chuño	0,482	46,36	+
99	Darí	0,501	50,42	+
100	Laura	0,588	69,01	+
101	Huajchallo	0,459	41,45	+
102	Negra	0,334	14,74	-
103	Lafracho	0,246	04,05	-
104	Orta	0,249	03,41	-
105	Quello	0,298	07,05	-
106	Mocha	0,214	10,89	-

RESULTADOS DE ELISA PARA DVB

Muestra : Suero sanguíneo de vacas lecheras en producción
Lugar : Microcuenca de Cabanillas, Provincia de San Román
Fecha : 25 de Abril del 2008.
Interpretación: <20% (-); 20-30 % Ambiguo > 30% (+)
Lectura de controles: Control (-): 0,265; Control (+): 0,733

Nº	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
1	MA-1409	0,265	00,00	-
2	MA-1416	0,280	03,20	-
3	MA-1406	0,312	10,04	-
4	MA -Arete amarillo	0,516	53,63	+
5	Socsa	0,654	83,11	+
6	Rina	0,328	13,46	-
7	Negra	0,223	-08,97	-
8	Carmen	0,215	-10,68	-
9	Marilyn	0,228	-07,90	-
10	Rosita	0,239	-05,55	-
11	Dina	0,665	85,47	+
12	Lidia	0,306	08,76	-
13	Marlene	0,613	74,35	+
14	Bea	0,263	-00,42	-
15	Jeanet	0,202	-13,46	-
16	Villa	0,262	-00,64	-

RESULTADOS DE ELISA PARA *Neospor caninum*

Muestra : Suero sanguíneo de vacas lecheras en producción
 Lugar : Cuenca lechera de Taraco, Provincia de Huancané
 Fecha : 10 de Junio del 2008
 Interpretación: <30% (-); >30 % (+)
 Lectura de controles: Control (-): 1,120; Control (+): 0,389

Nº	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
1	Bella	1,749	-56,16	-
2	Joulda	0450	59,83	+
3	Dani	1,645	-46,87	-
4	Chela	0,547	51,17	+
5	Negrita	1,552	-38,57	-
6	Reinita	1,616	-44,28	-
7	Diana	1,536	-37,14	-
8	Maltona	1,387	-23,83	-
9	Dani	0,728	35,00	+
10	Reina	0,635	4331	+
11	Gloria	1,497	-33,66	-
12	Pequi	1,550	-38,39	-
13	Gabi	1,450	-29,55	-
14	Olimpia	1,405	-25,44	-
15	Princesa	1,403	-25,26	-
16	Gabriela	1,204	-07,50	-
17	Joyita	1,320	-17,85	-
18	Chantal	1,333	-19,01	-
19	Lis	0,832	25,72	-
20	Kelly	1,362	-21,60	-
21	Flor de maría	0,444	63,36	+
22	Venus	0,354	68,40	+
23	Jasmín	1,526	-36,25	-
24	Princesa	0,624	44,29	+
25	Zulema	1,434	-28,03	-
26	Gabriela	1,487	-32,76	-
27	Shakira	1,418	-26,60	-
28	Saraí	1,485	-32,58	-
29	Estrella	1,633	-45,80	-
30	Rosalinda	0,425	62,06	+
31	Camila	1,577	-40,80	-
32	Yesenia	1,606	-43,39	-
33	Yoselyn	1,543	-37,76	-
34	Taili	1,513	-35,08	-
35	Aurora	1,395	-24,55	-
36	Dania	1,472	-31,42	-
37	Yanita	1,378	-23,03	-
38	Alicia	1,559	-39,19	-
39	Yola	1,285	-14,73	-
40	Chela	0,289	74,20	+

Nº	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
41	Negrita	1,200	-07,14	-
42	Lisa	1,291	-15,26	-
43	Isabel	1,172	-04,64	-
44	Maili	1,323	-18,12	-
45	Tania	1,151	-02,76	-
46	Blanca	1,253	-11,87	-
47	Poly	0,333	70,63	+
48	Carolina	1,405	-25,44	-
49	Agatha	1,093	02,24	-
50	Ninoska	1,415	-26,33	-
51	Tusa	1,009	09,92	-
52	Vicuña	1,058	05,54	-
53	Mayra	1,238	-10,53	-
54	Lisacha	0,880	20,72	-
55	Panana	1,860	-66,07	-
56	Castaña-criollo	1,433	-27,94	-
57	Gloria	1,542	-37,67	-
58	Margarita	1,236	-10,35	-
59	Lola	1,313	-17,23	-
60	Camila	1,397	-24,73	-
61	Ermi	1,398	-24,82	-
62	Nelly	1,642	-46,60	-
63	Landy	1,411	-25,98	-
64	Candy	1,320	-17,85	-
65	Juanita	1,187	-05,98	-
66	Elsa	1,445	-29,01	-
67	Ruth	1,178	-05,17	-
68	DINA	1,358	-21,25	-
69	Heliane	1,192	-64,28	-
70	Macuta	1,217	-08,66	-
71	Silvana	0,511	54,39	+
72	Magasi	1,382	-23,39	-
73	Rosacha	1,244	-11,07	-
74	Calancha	1,269	-13,30	-
75	China	1,284	-14,64	-
76	Rally	1,346	-20,17	-
77	Blanky	1,435	-28,12	-
78	Rocio	1,462	-30,53	-
79	Matica	1,336	-19,28	-
80	Lola	1,401	-25,08	-
81	Rosina	1,310	-16,96	-
82	18029	1,218	-08,75	-
83	Parda	1,150	-02,67	-
84	Enjalmada	1,231	-09,91	-
85	Melisa	1,360	-21,42	-
86	Parda	1,423	-27,05	-
87	Yanela	1,626	-45,17	-
88	Chola	1,491	-33,12	-
89	Amarilla	0,711	36,52	+

N°	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
90	Negra	1,327	-18,48	-
91	Fany	1,262	-12,67	-
92	Negra	1,519	-35,62	-
93	China	1,447	-29,19	-
94	Adriana	1,463	-30,62	-
95	Sandra	1,390	-24,10	-
96	Karol	1,298	-15,89	-
97	Marina	1,305	-16,51	-
98	Asunta	1,416	-26,42	-
99	Magda	1,405	-25,44	-
100	Candy	1,586	-41,60	-
101	Blanca	1,185	-05,80	-
102	Concepción	1,399	-24,91	-
103	Nena	1,613	-44,01	-
104	Camila	1,498	-33,75	-
105	Marilyn	1,367	-22,05	-
106	Milena	0,946	15,53	-
107	Dorada	1,479	-32,05	-
108	Imelda	1,460	-30,35	-
109	Mónica	1,467	-30,98	-
110	Karina	1,309	-16,87	-
111	Lily	1,745	-55,80	-
112	China	1,468	-31,07	-
113	Nancy	1,599	-42,76	-
114	Martha	1,514	-35,17	-
115	María	1,404	-25,35	-
116	Yulisa	1,418	-26,60	-
117	Pardo	1,538	-34,32	-
118	Lorena	1,249	-11,51	-
119	Malena	1,220	-08,92	-
120	Loba	1,437	-28,30	-
121	Jimena	1,343	-19,91	-
122	Manila	1,408	-25,71	-
123	Pardo	1,358	-21,25	-
124	Pardo II	1,385	-23,66	-
125	Pardo III	0,406	-63,75	+
126	Castaña	1,234	-10,17	-
127	Samira	1,572	-40,35	-
128	Marina	1,434	-28,03	-
129	Lida	1,571	-40,26	-
130	Pardo	1,314	-17,32	-
131	Eva	1,386	-23,75	-
132	Cirila	1,266	-13,03	-
133	Juanita	1,265	-12,94	-
134	Martina	1,255	-12,05	-
135	Lucy	1,222	-09,10	-
136	Clara	1,284	-14,64	-
137	Rosa	1,325	-18,30	-
138	Criolla-Castaña	1,315	-17,41	-

RESULTADOS DE ELISA PARA *Neospora caninum*

Muestra : Suero sanguíneo de vacas lecheras en producción

Lugar : Cuenca lechera de Progreso, Provincia de Azángaro

Fecha : 10 de Junio del 2008

Interpretación: <30% (-); >30 % (+)

Lectura de controles: Control (-): 1,120; Control (+): 0,389

N°	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
1	Tajla	1,189	-16,87	-
2	Barrigona	1,358	-31,96	-
3	Marisol	0,200	71,42	+
4	Ely	1,097	-08,66	-
5	Sonia	1,013	-01,16	-
6	Tany	1,167	-14,91	-
7	Elena	1,244	-21,78	-
8	Blanca	1,024	-90,51	-
9	Flor	1,208	-18,57	-
10	Rosa	1,190	-16,96	-
11	Gisela	1,355	-31,69	-
12	Yanela	1,102	-03,10	-
13	Chipa	0,947	04,73	-
14	Chabela	1,136	-12,14	-
15	Olga	1,062	-05,53	-
16	María	1,087	-07,76	-
17	Lali	1,214	-19,10	-
18	Negra	1,193	-17,23	-
19	Lindauro	1,122	-10,89	-
20	Dori	0,978	01,96	-
21	S/n	0,998	00,18	-
22	Rosa	1,001	-00,09	-
23	Moly	1,018	-01,60	-
24	Tania	1,051	-04,55	-
25	Valen	1,480	-42,85	-
26	Negra	1,180	-16,07	-
27	Liza	1,142	-12,67	-
28	Yuli	1,157	-14,01	-
29	Isabel	1,109	-09,73	-
30	Nieves	1,081	-07,23	-
31	Nataly	1,015	-01,33	-
32	Miriam	1,021	-01,87	-
33	Caty	1,442	-39,46	-
34	Teresa	0,120	78,57	+
35	Yola	0,100	80,35	+
36	Rosi	1,141	-12,58	-
37	Dina	0,104	80,00	+
38	Miki	1,260	-23,21	-
39	Liza	1,361	-32,23	-
40	Lourdes	1,240	-20,53	-

Nº	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
41	Yola	1,402	-35,89	-
42	Teresa	1,064	-05,71	-
43	Martha	1,173	-15,44	-
44	Leticia	1,294	-26,25	-
45	Marga	0,999	00,09	-
46	Nila	1,113	-10,08	-
47	Norma	1,127	-11,33	-
48	Coreana	0,419	51,87	+
49	Anela	1,256	-22,85	-
50	Lucero	1,276	-24,64	-
51	Basilia	1,262	-23,39	-
52	Sumi	0,117	78,83	+
53	Silvana	0,234	-20,89	-
54	María F.	1,221	-19,73	-
55	Buqui	1,262	-23,39	-
56	Negra	1,004	-00,35	-
57	Serapia	1,390	-34,82	-
58	Lourdes	1,046	-04,10	-
59	Karina	1,039	-03,82	-
60	Rocío	1,207	-18,48	-
61	Diana	1,084	-07,50	-
62	Caty	1,206	-18,39	-
63	Rosa	0,129	77,76	+
64	Mari	1,196	-17,50	-
65	Dina	1,045	-04,17	-
66	India	1078	-06,96	-
67	Nancy	1,137	-12,23	-
68	Ada	0,965	03,12	-
69	Naty	1,009	00,80	-
70	Mary	0,991	00,80	-
71	Nelly	0,990	00,89	-
72	Petrona	1,092	-08,21	-
73	Cachuda	1,145	-12,94	-
74	Culebrita	1,023	-02,05	-
75	Ana	0,982	-01,60	-
76	Yesenia	0,194	71,96	+
77	Jimena	0,401	53,48	+
78	Carolina	0,989	00,98	-
79	Cachuda	0,952	04,28	-
80	Ganso	1,045	-04,01	-
81	Malta	0,761	21,33	-
82	Dina	1,125	-11,16	-
83	Mocha	1,009	-00,80	-
84	Sabina	0,970	02,67	-
85	Martina	0,969	02,76	-
86	Nancy	1,093	-03,83	-
87	Sara	0,919	07,23	-
88	Elena	1,037	-03,30	-
89	Nilda	1,019	-01,69	-

N°	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
90	María	1,104	-09,28	-
91	Nancy	0,953	04,19	-
92	Melanie	0,884	10,35	-
93	Rubí	1,213	-19,01	-
94	Salomé	0,758	21,60	-
95	Delia	0,892	09,64	-
96	Blanca	1,067	-05,98	-
97	Nelly	1,211	-18,83	-
98	Chuño	1,224	-20,00	-
99	Darí	1,212	-18,92	-
100	Laura	1,190	-16,96	-
101	Huajchallo	1,414	-36,96	-
102	Negra	1,233	-20,80	-
103	Lafracho	1,324	-28,92	-
104	Orta	1,270	-24,10	-
105	Quello	1,319	-28,48	-
106	Mocha	1,303	-27,05	-

RESULTADOS DE ELISA PARA *Neospora caninum*

Muestra : Suero sanguíneo de vacas lecheras en producción
Lugar : Microcuenca de Cabanillas, Provincia de San Román
Fecha : 25 de Abril del 2008.
Interpretación: <30% (-); >30 % (+)
Lectura de controles: Control (-): 1,120; Control (+): 0,389

Nº	IDENTIFICACIÓN	DENS. ÓPTICA	% DE INH	RESULTADO
1	MA-1409	1,367	-22,05	-
2	MA-1416	1 727	-54,19	-
3	MA-1406	1,330	-18,75	-
4	MA -Arete amarillo	1,141	-01,87	-
5	Socsa	0,845	24,55	-
6	Rina	1519	-35,62	-
7	Negra	1,459	-30,26	-
8	Carmen	1,428	-27,50	-
9	Marilyn	1433	-27,94	-
10	Rosita	1,389	-24,01	-
11	Dina	1,560	-39,28	-
12	Lidia	1,527	-36,33	-
13	Marlene	1,470	-31,25	-
14	Bea	1,446	-29,10	-
15	Jeanet	1,383	-23,48	-
16	Villa	1,809	-61,51	-