



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



SEROPREVALENCIA DE *Neospora caninum* EN VACUNOS
BROWN SWISS EN CINCO COMUNIDADES DEL DISTRITO DE
ILAVE – 2017

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. JAMILETH IVONNE RAMOS VILCA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2020



DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a mi familia por haber sido mi apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria y a lo largo de mi vida. A todas las personas especiales que me acompañaron en esta etapa, aportando a mi formación tanto profesional y como ser humano.

A mi padre AURELIO RAMOS CCAMA por su comprensión, apoyo, y todos sus consejos, a mí finada madre MARIA VIRGINIA VILCA RUIZ, a mis hermanos, en especial EDINHO por su apoyo incondicional.

A mi director de tesis D. Sc. NATALIO LUQUE MAMANI, a mis jurados de tesis por su tiempo, a todos mis docentes, por sus largas horas de enseñanza, apoyo profesional y moral a lo largo de mi formación como Médico Veterinario Zootecnista.

Jamileth Ramos



AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerle a ti Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A la UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO, por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

También me gustaría agradecer a mis profesores durante toda mi carrera profesional porque todos han aportado con un granito de arena a mi formación.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Jamileth Ramos



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE DE TABLAS

INDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 10

ABSTRACT..... 11

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Objetivos de la investigación 13

1.1.1. Objetivo general..... 13

1.1.2. Objetivos específicos 13

CAPÍTULO II

REVISION DE LITERATURA

2.1. Marco Teórico 14

2.1.1. Definición de la Neosporosis bovina. 14

2.1.2. Generalidades..... 15

2.1.3. Ciclo Biológico 17

2.1.4. Epidemiología..... 19

2.1.5. Factores Predisponentes..... 23

2.1.6. Patogénesis..... 27

2.1.7. Signos Clínicos 30

2.1.8. Lesiones 32

2.1.9. Inmunidad 33

2.1.10. Diagnóstico 34



2.1.11. Tratamiento	41
2.1.12. Control y prevención	41
2.1.13. Antecedentes	43

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación geográfica del Estudio.....	47
3.2. Procedencia del Material Utilizado	47
3.3. Población y Muestra del Estudio	49
3.4. Diseño estadístico	50
3.5. Procedimiento.....	51

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados	54
4.1.1. Prevalencia de neospora caninum.....	54
4.1.2. Según sexo.....	55
4.1.3. Según edad.....	55
4.1.4. Según estado productivo.....	56
4.1.5. Según estado reproductivo.....	56
4.2. Discusión	57
V. CONCLUSIONES.....	62
VI. RECOMENDACIONES.....	63
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
ANEXOS.....	80
ANEXO 1: Absorbancias de las muestras de ELISA	80
ANEXO 2: Absorbancias calculadas con la fórmula del inserto	81
ANEXO 3: Validación de muestras según inserto IDEXX de Neospora caninum.....	83
ANEXO 4: Base de datos de toda la población analizada, según sexo y edad	86



ANEXO 5: Base de datos de todas las hembras analizadas, según estado productivo y reproductivo	89
ANEXO 6: Resultados de prueba de Chi-cuadrado según edad	92
ANEXO 7: Resultados de prueba de Chi-cuadrado según sexo	93
ANEXO 8: Resultados de prueba de Chi-cuadrado según estado reproductivo	94
ANEXO 9: Resultados de prueba de Chi-cuadrado según estado productivo	95
ANEXO 10: Distribución general de la población analizada	96
ANEXO 11: Evidencia fotográfica	98

Área: Salud Animal

Tema: Neosporiosis en vacas Brown Swiss

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 26 de diciembre de 2019



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Estadios de <i>Neospora caninum</i>	17
Tabla 2: Distribución de animales muestreados.	49
Tabla 3: Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos Brown Swiss en el distrito de Ilave.	54
Tabla 4: Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos Brown swiss en el distrito de Ilave - según sexo.	55
Tabla 5: Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos del distrito de Ilave, según edad.....	55
Tabla 6: Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos del distrito de Ilave, según estado productivo.....	56
Tabla 7: Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos del distrito de Ilave, según estado reproductivo.....	56
Tabla 8: Absorbancias de las muestras de ELISA.....	80
Tabla 9: Absorbancias calculadas con la fórmula del inserto.....	81
Tabla 10: Absorbancias calculadas con la fórmula del inserto.....	82
Tabla 11: Validación de muestras según inserto IDEXX de <i>Neospora caninum</i>	83
Tabla 12: Base de datos de toda la población analizada, según sexo y edad.....	86
Tabla 13: Base de datos de todas las hembras analizadas, según estado productivo y reproductivo.....	89
Tabla 14: Distribución general de la población analizada.....	97



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución general de la población analizada.....	96
Figura 2. Toma de muestra en la vena yugular.....	98
Figura 3. Colocación de tubos Vacutainer a la centrifugadora en posición inclinada...	98
Figura 4. Muestras de Suero	99
Figura 5. Resultado de la placa tamizada con antígeno.....	99
Figura 6. Lectura en ELISA.....	100



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

FMVZ = Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

C/P = Con producción

S/P = Sin Producción

ELISA = Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

UNA = Universidad Nacional del Altiplano

T.M. = Toneladas métricas

RIA = Radio inmunoensayo

rpm = Revoluciones por minuto

nm = Nanómetros

Ig G = Inmunoglobulinas G

Ig M = Inmunoglobulinas M

IL = Interleucina

μ L = Microlitros

mL = Mililitros

ADN = Ácido desoxirribonucleico

IFN- γ = Interferón gamma

CD4 = Acumulo de diferenciación 4



RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en vacunos Brown Swiss del distrito de Ilave provincia de El Collao en los meses de noviembre, diciembre del año 2017, con el objetivo de determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum*, considerando los siguientes factores: sexo, (machos y hembras), por edad (menores a 2 años y mayores a 2 años) y estado reproductivo (preñadas y vacías), donde las hembras menores a 2 años se consideraran vacías, y los machos menores a 2 años se consideran reproductores, las hembras mayores a 2 años se subdividieron vacías sin producción, vacías en producción y preñadas sin producción, preñadas en producción, en un sistema de crianza al pastoreo, Se trabajó al azar con 81 vacunos Brown Swiss , donde se obtuvo 05 mL de sangre de la vena yugular de cada animal, la técnica diagnóstica fue mediante la prueba de ELISA indirecta, para la detección de anticuerpos contra *Neospora caninum*, con una sensibilidad del 95%, donde fue analizado en el laboratorio de Salud Animal del CIP Chuquibambilla de la F.M.V.Z, UNA-PUNO. Los datos fueron procesados mediante la prueba estadística de Chi-cuadrado, determinando que en dicho distrito el resultado de la seroprevalencia general de *Neospora caninum* fue 8.64%, la seroprevalencia de la *Neospora caninum* en vacunos machos fue 6,25% y hembras 9.23% ($P>0.05$). En menores de dos años fue 8.33% y mayores de 2 años 8.88% ($P>0.05$). Las vacas en producción 9.09%, y en seca 9.30% ($P>0.05$). Vacías 20.00%. y las preñadas 4.44% ($P\leq 0.05$). La seroprevalencia de *Neospora caninum* es independiente pues este protozoo afecta a machos y hembras, sin importar la edad, el estado reproductivo y ni el estado productivo, pero si entre vacías y preñadas.

Palabras Clave: Neospora, Seroprevalencia, ELISA, Vacunos, The Collao.



ABSTRACT

The present study was carried out in Brown Swiss cattle from the district of Ilave province of El Collao in the months of November, December of 2017, with the objective of determining the prevalence of *Neospora caninum*, considering the following factors: sex, (males and females), by age (under 2 years and over 2 years) and reproductive status (pregnant and non-pregnant), where females under 2 years are considered empty, and males under 2 years are considered reproductive / fattening, the females older than 2 years were subdivided empty without production, empty in production and pregnant without production, pregnant in production, in a grazing rearing system, We randomly worked with 81 Brown Swiss cattle, where 05 ml of blood was obtained from the jugular vein of each animal, The technique diagnosed was by means of the indirect ELISA test, for the detection of antibodies against *Neospora caninum*, with a sensitivity of 95%, where it was analyzed in the laboratory Animal Health ratory of the CIP Chuquibambilla of the FMVZ, UNA-PUNO, the data were processed by means of the Chi-square statistical test, concluding that in the dairy basin of said district, there is a prevalence of 8.64% in the activity of *Neospora caninum*, the seroprevalence of *Neospora caninum* in male cattle was 6.25% and females 9.23% ($P > 0.05$). Under two years was 8.33% and over 2 years 8.88% ($P > 0.05$). Cows in production 9.09%, and dry 9.30% ($P > 0.05$). Empty 20.00%. Pregnant women 4.44% ($P \leq 0.05$). The seroprevalence of *Neospora caninum* is independent because this protozoan affects males and females, regardless of age, reproductive status and productive status.

Keywords: *Neospora*, Seroprevalence, ELISA, Vaccines



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Entre los problemas que producen mayores pérdidas económicas a nivel pecuario se encuentran los reproductivos, destacando los abortos de diversa etiología (Anderson et al., 1994). En los últimos años se ha identificado al parásito *Neospora caninum* como uno de los principales agentes infecciosos causantes de problemas reproductivos en ganado bovino lechero. El *Neospora caninum* pertenece a un nuevo género de la familia *Sarcocystidae*, del *Phylum Apicomplexa* y está estrechamente relacionado al *Toxoplasma gondii* (Holmdahl et al., 1994).

El aborto, principal signo clínico producido por este parásito en el ganado bovino, se puede presentar en cualquier momento de la gestación, aunque con mayor frecuencia entre el cuarto y sexto mes de gestación (Anderson et al., 1994). También puede provocar la muerte de terneros neonatos o nacimiento de animales enfermos con signos nerviosos, o el nacimiento de otros sin infección aparente, los cuales pueden comportarse como diseminadores de la enfermedad dentro del hato (Schaes et al., 1998; Dubey, 1999). La única forma de transmisión reconocida en bovinos es la vertical de madre a cría, vía transplacentaria. La transmisión horizontal en cambio es frecuente en caninos (Bergeron et al., 2000).

Una característica importante de esta enfermedad en el vacuno es que el parásito puede permanecer latente como una infección crónica, de allí que la transmisión vertical o transplacentaria sea un elemento crucial en el establecimiento y la diseminación de la infección. Si la infección del feto no resulta en aborto, la cría resultante puede convertirse



en portador clínicamente sano (asintomático) pero que podrá transmitir la infección a las siguientes generaciones (Anderson *et al.*, 2000).

Este estudio se realizó en las comunidades de Ccaccata, Callatapacuncani, Apacheta, Caritamayo, Cutipa, con la finalidad de determinar la presencia de este agente patógeno, ya que este viene afectando al sector pecuario productivamente, produciendo grandes pérdidas económicas, lo cual, mediante este estudio, se busca impactos esperados, en ciencia y tecnología, económicos, sociales y ambientales.

Estudios recientes indican que el *Neospora caninum* se viene convirtiendo en un agente parasitario de gran importancia en el Perú, según los estudios de prevalencia realizados en las diversas cuencas lecheras (Rivera, 2001).

1.1. Objetivos de la investigación

1.1.1. Objetivo general

Evaluar la seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos Brown Swiss del Distrito de ILAVE en el año 2017.

1.1.2. Objetivos específicos

Detectar la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en vacunos Brown Swiss considerando los niveles según sexo (machos y hembras) menores a 2 años, edad (menores y mayores a dos años), según estado reproductivo: vacías y preñadas (con producción y seca).



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Marco Teórico

2.1.1. Definición de la Neosporosis bovina.

La neosporosis bovina en general es una enfermedad protozoaria, que se caracteriza por ser abortigénica, de importancia mundial en la explotación bovina. Esta enfermedad parasitaria de carácter reproductivo, muy común dentro de la ganadería bovina, afecta principalmente a hembras gestantes y a terneras recién nacidas, es conocida como *Neospora* bovina, Neosporosis fetal y Neosporosis abortiva. En las terneras recién nacidas presentan signos clínicos de ataxia neuromuscular y contractura articular y en las hembras gestantes, muerte fetal acompañada de retención placentaria y/o aborto. Signos clínicos semejantes han sido descritos en otros rumiantes como la cabra y la oveja, aunque muy esporádicamente (Cordero del Campillo., *et al.*, 1999).

La Neosporosis bovina se caracteriza por ser típicamente asintomática y de transmisión congénita por lo que las hembras infectadas perpetúan el parasitismo de generación en generación, en las explotaciones ganaderas. En los casos donde se presenta clínicamente, la principal manifestación es el aborto con las consecuentes pérdidas económicas por la reducción en la producción de leche, la muerte de neonatos y la pérdida de animales adultos (Gamón, 2003).

El aborto se puede dar entre los 3 meses de gestación hasta su término. Sin embargo, la mayoría ocurre alrededor de los 5 a 6 meses de gestación. En cuanto al feto, éste puede morir en el útero, ser reabsorbido, momificado, sufrir autólisis,



nacer vivo y morir inmediatamente o nacer clínicamente normal, pero congénitamente infectado (Echaide, 2000).

2.1.2. Generalidades.

a) Etiología de la Neosporosis

La Neosporosis bovina es producida por un protozoo formador de quistes perteneciente a la familia Sarcocystidae, Género Neospora. Solo una especie ha sido citada, *Neospora caninum* por Dubey en 1998, como agente productor de una encefalomiелitis congénita y ataxia locomotora en los cachorros, también afecta a las principales especies de ganado doméstico, animales de compañía y a algunos animales salvajes (Radostis, 2002).

b) Taxonomía

Neospora caninum pertenece al:

-Reino: Protista

-Subreino: Protozoo

-Phylum: Apicomplexa

-Clase: Esporozoa

-Orden: Eucoccidia

-Suborden: Eimeriina

-Familia: Sarcocystidae

-Genero: Neospora

-Especie: *Neospora caninum* (Vignau, et al, 2005).



c) Características morfológicas

c.1) Taquizoitos: Es uno de los tres estados infecciosos de *Neospora 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. Se dividen por endodiogénesis en forma rápida, miden aproximadamente 7,5 μm , (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. (Anderson *et al.*, 2000).

c.2) Bradizoitos: Los bradizoitos se dividen por endodiogénesis, en forma lenta, encontrándose dentro de los quistes tisulares, miden aproximadamente 7-8 μm presentan, un número menor de roptries, morfológicamente son similares a los taquizoitos, los quistes tisulares han sido observados en tejido nervioso y muscular (Anderson *et al.*, 2000).

c.3) 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).

c.4) Ooquistes no esporulados: Son los eliminados por los perros infectados experimentalmente, midiendo entre 11.7 a 11.3 mm de diámetro (Lindsay *et al* 1993).

c.5) Ooquistes esporulados: Los ooquistes no esporulados luego de tres días en el medio ambiente desarrollan dos esporo-quiste 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).

Tabla 1: Estadios de *Neospora caninum*.

Estadio	Ubicación
Taquizoito	Huésped intermedio
Bradizoito	Huésped intermedio (quistes tisulares)
Esporozoito	Huésped definitivo, eliminado por las heces

FUENTE: Escalona *et al.*, 2010

2.1.3. Ciclo Biológico

El *Neospora caninum* comprende un ciclo biológico indirecto, es decir requiere de hospedadores intermediarios y definitivos que favorecen su diseminación (Martínez *et al.*, 2012). Hasta la fecha se han descrito como hospedadores definitivos, el perro, el coyote, el dingo y el lobo (Dubey, Schares, & Mora, 2007).

Se ha definido a diferentes animales domésticos como hospedadores intermediarios entre ellos los caninos, bovinos, ovinos, caprinos, búfalos y animales silvestres como lobos, coyotes, zorros, ciervos y alces. El perro actúa como hospedador intermedio y hospedador definitivo, desarrollando las fases de reproducción asexual (merogonia) y sexual (gametogonia), respectivamente; luego de ingerir los quistes tisulares con bradizoitos (infección transversal). Consecuentemente en las heces los perros excretan los ooquistes inmaduros, que



luego de unos pocos días esporulan y entonces están listos para infectar al bovino y a otros animales. En el bovino ocurre una reproducción asexual (merogonia), asintomática, pero con capacidad de infección vertical o transplacentaria, para generar patología fetal y aborto. En estos tejidos hay taquizoitos y bradizoitos, que al ser ingeridos por el perro complementan el ciclo (Cordero del Campillo & Vazquez, 1999).

Los huéspedes intermediarios, por ejemplo, los bovinos ingieren los ooquistes con agua o alimento contaminados, los mismos se abren en el intestino, y penetrando las células se transforman en taquizoitos que se dividen rápidamente y se distribuyen por todo el organismo. Estos proliferan en diversas células, las destruyen, se liberan e infectan otras células vecinas. También son capaces de cruzar la placenta e infectar el feto. Cuando el huésped desarrolla una respuesta inmunitaria suficiente, se forman los quistes tisulares en el sistema nervioso (Fisher y McGarry, 2007).

En humanos no existen antecedentes de infección con este parásito (Petersen *et al.*, 1999; Tranas *et al.*, 1999). Sin embargo, existe la posibilidad que sea subdiagnosticado como toxoplasmosis (Bjerkås *et al.*, 1994; Tranas *et al.*, 1999). Se considera que tiene un potencial zoonótico debido a que experimentalmente se ha logrado infectar a 2 monos Rhesus, pero, aún no existe evidencia de infección en humanos (Dubey, 2003).

- a) Fase Sexual: En el tracto gastrointestinal del perro liberan ooquistes esporulados que miden 10 a 11 micras (Quispe *et al.*, 2016).
- b) Fase Asexual: El taquizoito; forma infectiva y bradizoitos de forma latente.

La neospora es un endoparásito ya que se encuentra Ubicado en el intestino



tanto en perros (h. definitivo) como en el del vacuno (h. intermediario). También se ubican en hígado, pulmón, cerebro, placenta y músculos (Paz, 2005).

2.1.4. Epidemiología.

a) Agente Causal.

La *Neospora caninum* es un Coccidio que afecta principalmente caninos y bovinos. La neosporosis fue inicialmente descrita en caninos y posteriormente se postuló como causa de aborto epidémico en bovinos de leche a finales de los años 80, en Nuevo México. No obstante, sólo en 1989 se reconoció la enfermedad en los bovinos y su diseminación mundial. La neosporosis bovina se caracteriza por ser típicamente asintomática y de transmisión congénita por lo que las hembras infectadas perpetúan el parasitismo de generación en generación, en las explotaciones ganaderas. En los casos en donde se presenta sintomatología clínica la principal manifestación es el aborto con las consecuentes pérdidas económicas por la reducción en la producción de leche, la muerte de neonatos y la pérdida de animales adultos citado por (Vargas & Cortés, 2001).

El ciclo completo de este parásito no es muy claro. Sin embargo, como todos los Coccidios, debe tener un ciclo de vida heteroxeno con 2 hospederos; se ha postulado y confirmado experimentalmente que los caninos son los hospederos definitivos mientras que los herbívoros son los hospederos intermediarios. Aunque el hombre no ha sido involucrado dentro del ciclo de *Neospora caninum*, se ha logrado infectar experimentalmente primates no humanos por lo que podría ser una zoonosis potencial (McAllister *et al.*, 1998).



Los taquizoitos, los quistes tisulares que contienen los bradizoitos y los ooquistes del parásito ya han sido descritos. Los estados patógenos corresponden a los taquizoitos que se replican por endodiogenia y son estadios intracelulares en diferentes tejidos, igual a lo que sucede con *Toxoplasma gondii* (Vargas & Cortés, 2001). Los taquizoitos de *Neospora caninum* han sido observados en la mayoría de tejidos de terneros infectados de forma congénita asociados con las lesiones, cuando se observa por microscopio. Los taquizoitos crecen en cultivos celulares de fibroblastos y son fuente de antígeno para las pruebas de diagnóstico serológico. Los quistes tisulares han sido aislados en cerebro y cordón espinal de fetos infectados y normalmente no se encuentran asociados a las lesiones. Estos quistes contienen numerosos bradizoitos (más de 200), su pared es gruesa de 2 a 4 micras de grosor. Los caninos excretan ooquistes no esporulados después de la ingestión de quistes tisulares. Se asume que existe una fase asexual en el intestino del perro antes del ciclo sexual pero el tiempo necesario para excretar los ooquistes después de la infección no se conoce. La esporulación se lleva a cabo en el medio ambiente durante 3 días y se observan ooquistes de 10 a 11 μm que contienen dos esporoquistes con cuatro esporozoitos, estos ooquistes son difíciles de visualizar por las técnicas convencionales de flotación cuando las infecciones son bajas (McAllister *et al.*, 1998; Vargas & Cortés, 2001).

A comienzos de la década de los 90, Anderson *et al.*, (1994) y Barr *et al.*, (1997) reconocieron a la neosporosis como la principal causa de aborto en el ganado bovino lechero de California, hecho que fue apoyado por los resultados obtenidos por diferentes grupos investigadores de otros países. Desde entonces, se han multiplicado los estudios para la obtención y caracterización de diversos aislados



de *N. caninum*, no solo de origen canino sino también bovino (Anderson *et al.*, 1994).

b) Hospedador Definitivo.

El descubrimiento del perro como un hospedador definitivo para *N. caninum* puso de manifiesto la posible transmisión horizontal de la infección, ya que se detectó la eliminación de ooquistes en las heces del perro (Lindsay *et al.*, 1993).

Los hospederos definitivos adquieren la infección al ingerir tejidos conteniendo quistes (Del Campo *et al.*, 2003). En el hospedador definitivo, los jugos gástricos se encargan de degradar el quiste liberando así los estadios parasitarios que iniciarán el ciclo entero epitelial, allí en el intestino, se realiza un fase de reproducción sexual (gametogonia) para eliminar los ooquistes no esporulados al medio ambiente 8 o 14 días post infección en las heces del hospedador definitivo (Moore *et al.*, 2005).

La infección en los canes ha sido reportada en varios países, aunque los casos de enfermedad clínica son escasos. Estudios epidemiológicos demuestran que los perros presentan prevalencias variadas, sin embargo, los perros de zonas urbanas presentan una tasa de infección menor que aquellos que viven en establos; y además dicha infección aumenta cuando los animales proceden de establos con problemas de abortos (Cornejo *et al.*, 1999).

c) Hospedador Intermediario.

Se describen diversos hospederos intermediarios, tanto animales domésticos (caninos, bovinos, ovinos, caprinos, búfalos y equinos) como silvestres (lobos, coyotes, zorros, ciervos y alces) (Moore *et al.*, 2002).



El primer reporte de *Neospora caninum* en bovinos, lo realizaron Thilsted y Dubey en 1989, en cerebro de fetos de bovinos abortados, de vacas de nuevo México. Sin embargo, el diagnóstico fue confirmado por Lindsay y Dubey en 1989 quienes identificaron al parásito en tejido bovino. (Oviedo., *et al*, 2006).

Adicionalmente, existen diferentes estudios en los cuales se ha encontrado serología positiva a *Neospora* en animales salvajes, incluyendo el zorro rojo y gris, el zorro de Chiloé y el león, como también en animales marinos (Buxton *et al.*, 2002; Dubey, 2003).

En el hospedador intermediario, se lleva a cabo la reproducción asexual (merogonia), posteriormente de que estos animales consumen agua o alimentos contaminados con ooquistes esporulados provenientes de materia fecal de hospedadores definitivos (perros principalmente). Por lo anterior, se puede indicar que la mayoría de las infecciones se llevan a cabo en épocas de lluvia, ya que la viabilidad de los ooquistes disminuye en época seca, se debe tener presente que sólo son necesarios 300 ooquistes esporulados para infectar una ternera (Gondim *et al.*, 2004).

Los hospedadores susceptibles se infectan ingiriendo forraje y agua contaminada con heces que contienen ooquistes de *N. caninum*. Seguidamente a la ingestión los esporozoitos son liberados en el tracto intestinal. Estos se dividen rápidamente, causando daño tisular y diseminando la infección a otros tejidos del hospedador (Dubey and Lindsay, 1996).

También este protozoo puede ser eliminado a través del semen en toros 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; sin embargo, esta posibilidad aún no ha sido investigada (Moore., *et al*, 2005).

2.1.5. Factores Predisponentes.

a) Edad

Existen trabajos donde se ha demostrado que en rodeos endémicamente infectados con *N. caninum*, los valores de seroprevalencia no difieren en cuanto a la edad de los animales (Paré *et al.*, 1996). Sin embargo, también existen trabajos realizados sobre rodeos bovinos infectados endémicamente, donde se ha observado un patrón en el título de anticuerpos en relación a la edad, existiendo valores significativamente más elevados en terneros precalostrados y calostrales comparados con el título promedio de grupos de otras edades. (Anderson *et al.*, 1995; Davison *et al.*, 1999; Pereira-Bueno *et al.*, 2000).

Las diferencias encontradas en relación con el riesgo de aborto de los animales y la edad han sido poco sólidas o no son significativas, señalando que la infección se ha diagnosticado en fetos abortados por vacas de edad muy variable (Dubey; Lindsay, 1996).

b) Sistema de Producción

El sistema de manejo en las explotaciones de leche normalmente es intensivo, mientras que en las de carne es más frecuente extensivo, por tanto, el hacinamiento de los animales podría contribuir a una mayor exposición a posibles fuentes de contaminación de ooquistes (alimento, cama, agua, etc.) facilitando las posibilidades de contagio (Dijkstra *et al.*, 2002).



Se han descrito abortos por *Neospora* tanto en vacas de aptitud cárnica como lechera, aunque se dispone de más datos sobre vacuno de leche; no se cree que exista predisposición racial, sino que la mayor tasa de abortos en ganado lechero estaría relacionada con el manejo, la mayor densidad de animales en explotaciones intensivas y la mayor facilidad de que los alimentos se contaminen con heces del hospedador definitivo. Asimismo, es más fácil que los abortos pasen desapercibidos en ganaderías extensivas (Cebrián, 2003).

Respecto de la presencia de hospedadores definitivos e intermediarios, se cree que en las grandes explotaciones existe un menor control sobre el consumo, por parte de los perros, de placentas, fetos abortados y otras fuentes de infección, interviniendo en la diseminación horizontal de la enfermedad (Bartels *et al.*, 1999).

A su vez, se han encontrado seroprevalencias mayores en aquellas explotaciones bovinas más próximas a zonas urbanizadas, lo cual es explicable por una mayor densidad de la población canina (Schaes *et al.*, 2003). En otros estudios de seroprevalencia para *Neospora caninum*, muestran una seropositividad más alta en perros de áreas periurbanas que en perros de áreas urbanas (Fernández, 2004).

c) Animales adquiridos

En los rodeos seronegativos existe un mayor riesgo de infección cuando se utilizan para reposición vaquillonas de compra (Schaes *et al.*, 2004). Mientras que, si la enfermedad es endémica en un establecimiento, la reposición con vientres propios conlleva al mantenimiento de la infección (Barling *et al.*, 2001; Otranto *et al.*, 2003; Dubey *et al.*, 2007).



En un estudio realizado en Alemania, grandes rebaños tenían un mayor riesgo, siendo los de leche de mayor positividad. Las explicaciones posibles son que al aumentar el tamaño del hato hay una mayor probabilidad de adquirir *Neospora caninum*, por ejemplo, al comprar vaquillas de reposición (Dubey *et al.*, 2007).

d) Alimentación

Las diferentes prácticas de manejo nutricional, como el traslado del ganado fuera del establecimiento, de forma permanente o temporaria, en busca de recursos forrajeros, fue asociado con incremento en la seroprevalencia. Por otro lado, el uso de suplementos nutricionales o cercos podría incrementar la población de hospedadores intermediarios, como roedores, constituyendo una posible fuente de infección para los hospedadores definitivos (Dubey *et al.*, 2007). Pastos, forrajes y agua de bebida contaminados con ooquistes son considerados como potenciales fuentes de infección postnatal del ganado. Alimentación de vaquillas con forrajes de baja calidad o forrajes remanentes durante el verano, pueden ser un factor de riesgo para la presentación de *Neospora caninum* asociados a abortos en los países bajos. (Dubey *et al.*, 2007).

e) Clima

Las condiciones climáticas tienen efecto sobre la esporulación de los ooquistes y sobrevivencia del parásito en el medio ambiente. Temperaturas cálidas y alta humedad incrementan el riesgo de infección postnatal. A su vez estas condiciones hacen propenso al crecimiento de hongos y producción de micotoxinas que tras su consumo tienen un efecto inmunosupresor sobre los bovinos, posiblemente favoreciendo la reactivación del parásito (Bartels *et al.*, 1999).



Se puede indicar que la mayoría de las infecciones se llevan a cabo en épocas de lluvia, ya que la viabilidad de los ooquistes disminuye en época seca, se debe tener presente que sólo son necesarios 300 ooquistes esporulados para infectar una ternera (Gondim, *et al.*, 2004).

f) Raza

La actividad pecuaria es una de las principales actividades que realizan las familias 32 rurales de la región Puno, en lo económico la crianza de vacunos es muy importante 33 para la actividad agropecuaria, aprovechando la producción de leche en su crianza a su 34 vez se encuentra en manos de pequeños, medianos y grandes productores. La mayoría 35 de estas se dedican a la cría de la raza Brown Swiss, raza que posee mejores 36 condiciones de producción en la región a esto se suma mayor cantidad de manejo 37 reproductivo los cuales son inadecuado en el momento de su empleo. A esto se suman 38 el riesgo de contaminación y otros problemas sanitarios del ganado, (Ministerio de 39 agricultura, 2006).

Las diferencias de prevalencia entre razas en estudios realizados en Europa, no sería por variaciones en susceptibilidad, sino por los diferentes sistemas de producción e intensidad en los manejos a los que están sujetos cada una (Bartels *et al.*, 2006).

Se ha confirmado la Neosporosis en más de 30 razas incluyendo el Yorkshire terrier, el West Highland White Terrier, el Border Collie, el Springer Spaniel, el Husky, el Gran Danes y el Bernés de la montaña. Los labradores y los bóxer están bien representados, pero estas son razas muy populares (Barber, 1998). No se conoce si existe una mayor susceptibilidad por raza o sexo. Solo se tiene el



antecedente de que la mayoría de los casos se han descrito en labradores, bóxers, Greyhounds, golden Retriever, y Basset Hounds (barr *et al.*, 1997).

g) Presencia de infección

Debemos considerar la existencia de infecciones concurrentes por otros patógenos, agentes inmunosupresores infecciones y no infecciosos que pueden predisponer al aborto de fetos infectados por *Neospora caninum* (Barr *et al.*, 1991).

Algunos autores sugieren que la infección por el virus de la diarrea viral bovina (DVB) favorece la manifestación clínica de la neosporosis bovina por la inmunosupresión que ocasiona en el animal facilitando la reactivación de las infecciones latentes o la infección postnatal (Dubey *et al.*, 2007). En estos casos las infecciones por *Neospora caninum* afectan significativamente el riesgo de aborto en los hatos con presencia de DVD (Bjorkman *et al.*, 2000).

2.1.6. Patogénesis

a) Transmisión en perros

Los caninos que consumen tejidos infectados eliminan ooquistes manteniendo así su condición de seronegativos, por otro lado, cuando el perro actúa como hospedador intermediario puede ser seropositivo y transmitir verticalmente la infección a sus cachorros, también puede desarrollar la enfermedad presentando signos clínicos como parálisis, miositis y dermatitis (Moore *et al.*, 2005).

b) Transmisión en bovinos

La transmisión de la infección se realiza mediante dos formas: vertical (congénita o endógena) y horizontal (exógena). En la vertical, la madre infecta el



feto a través de la placenta, se presenta en el hospedador intermediario ya sea carnívoro o herbívoro y frecuentemente se describe en los bovinos y en el perro. En la horizontal, el hospedador intermediario debe consumir alimento o agua contaminados con ooquistes esporulados provenientes de heces del hospedador definitivo (Santana *et al.*, 2010).

También este protozoo puede ser eliminado a través del semen en toros 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; sin embargo, esta posibilidad aún no ha sido investigada (Moore *et al.*, 2005).

c) Transmisión vertical

La transmisión vertical vía transplacentaria se produce tanto en animales en los que no se observa patología abortiva como en aquellos que han abortado (Dubey & Lindsay, 1996). La infección vertical ocurre en hembras preñadas, generalmente con infección subclínica, en las cuales se produciría la infección de los fetos como consecuencia de una parasitemia durante la preñez. (Trees; 1999).

La transmisión vertical es la forma más frecuente de infección en los bovinos a nivel mundial, en diversas investigaciones se ha demostrado que la transmisión transplacentaria es la ruta más dominante de infección, ya que un 75-95% de terneras nacidas de vacas infectadas, nacen infectadas. (Jiménez & Zambrano, 2012), (Spilovská *et al.*, 2015).

La transmisión de madre a hija fue sugerida como la principal vía por varios autores. Demostraron que *Neospora caninum* puede ser mantenida por varias



generaciones a un nivel constante de prevalencia, aparentemente sin la necesidad de dispersión de un hospedador definitivo, corroborando la teoría de que la ruta transplacentaria es la más importante en la especie bovina. (Shares *et al.*, 1998).

Desde el punto de vista del origen de la infección transplacentaria, se han descrito dos modos de transmisión, la exógena y la endógena (Trees & Williams, 2005). Ambos modos presentan consecuencias patogénicas y epidemiológicas diferentes, por lo que sus medidas de control también lo son. La transmisión transplacentaria endógena ocurre tras la recrudescencia de una infección crónica durante la gestación en una hembra persistentemente infectada. En cambio, la transmisión transplacentaria exógena se presenta en vacas que adquieren la infección por primera vez por el consumo de ooquistes esporulados durante la gestación, transmitiendo la infección a su descendencia. Las granjas infectadas crónicamente presentan abortos de manera endémica, como consecuencia de una transmisión transplacentaria endógena. Por el contrario, las granjas que sufren una primera exposición a la infección por el contacto con ooquistes esporulados presentan un brote de abortos (30-57%) que son debidos a una transmisión transplacentaria exógena (Trees & Williams, 2005; Dubey *et al.*, 2007).

En este sentido, la transmisión transplacentaria endógena aparece como el modo de transmisión predominante en muchos rebaños, mientras que existe controversia en cuanto a la relevancia de la transmisión transplacentaria exógena para dar lugar a una infección crónica (McCann *et al.*, 2007; Dijkstra *et al.*, 2008).

d) Transmisión horizontal

El perro es el huésped definitivo por lo tanto el principal factor de difusión de la enfermedad, contaminando con su materia fecal las pasturas, aguas y



alimentos donde las vacas conviven y al ingerir dichos focos de contaminación adquieren la enfermedad (Echaide, 2000).

El contagio horizontal se produce por la ingestión de tejidos bovinos infectados o de ooquistes que contaminan el medio ambiente (formas de resistencia del parásito eliminadas por los perros con las heces luego de ingerir tejidos infectados de un hospedador intermediario) (Cuddon; 2002).

2.1.7. Signos Clínicos

La infección por *Neopora caninum* en el ganado bovino no gestante es, generalmente, asintomática, mientras que en animales gestantes tiene como signo clínico más relevante el aborto (Dubey, 2005).

El aborto es el único signo clínico observado en las vacas infectadas. Los fetos pueden fallecer intrauterino, con reabsorción, maceración o aborto; no obstante, las terneras pueden nacer vivas con enfermedad o pueden ser clínicamente normales, pero con infección crónica (Radostits & Arundel, 2002).

Éste puede ocurrir a partir del tercer mes de gestación, aunque suele observarse con más frecuencia entre los 5 y 7 meses (Dubey *et al.*, 2007; Almería & López, 2013).

Si la infección ocurre en el primer tercio de la gestación, el feto suele ser reabsorbido y lo que se observa, clínicamente, es una repetición del celo. No obstante, no se ha encontrado una asociación entre la infección por *N. caninum* y el fallo reproductivo temprano (Almería & López, 2013).



Por otra parte, si la muerte fetal se produce entre los meses 3 y 8 de gestación, el feto suele ser eliminado presentando una autólisis moderada. Sin embargo, algunos fetos que mueren antes del quinto mes podrían momificarse y quedar retenidos en el útero durante meses (Dubey, 2005).

Si la infección ocurre en etapas de la gestación más avanzadas, a partir del quinto mes, disminuye el riesgo de muerte fetal y el signo más frecuente será el nacimiento de terneros sanos, pero congénitamente infectados que generalmente, presentarán anticuerpos precalostrales (Williams & Trees, 2006).

Las lesiones producidas por *N. caninum* son más graves en los fetos abortados en el primer y segundo tercio de gestación que en aquellos abortados al final de la misma (Fernandes *et al.*, 2004).

En la histopatología del feto abortado, se pueden observar lesiones microscópicas en órganos como el cerebro, médula, hígado y corazón, en algunas ocasiones se pueden ver lesiones en riñones y pulmones las cuales consisten en encefalitis multifocal necrotizante no supurativa, miocarditis e hidropericardio; el parásito tiene tropismo por los vasos sanguíneos de la placenta y el epitelio corio-fetal, generando así vasculitis, inflamación y degeneración del corion con degeneración difusa de la placenta, las únicas lesiones macroscópicas que pueden ser observadas es la autólisis fetal (Fredes & Fernando, 2000).

En estos animales que nacen vivos, los primeros signos clínicos aparecen, frecuentemente, a los 4-5 días del parto o pueden retrasarse hasta 2 semanas. La casuística de la neosporosis congénita clínica es reducida. Estos animales suelen presentar problemas neuromusculares muy variables desde incoordinación ligera hasta parálisis completa, debilidad y dificultad para levantarse. Los miembros



anteriores y posteriores están flexionados o hiperextendidos y el examen neurológico revela ataxia, disminución del reflejo patelar y pérdida de coordinación (Barr *et al.*, 1997).

La infección congénita subclínica parece ser más frecuente, produciéndose el nacimiento de terneros clínicamente sanos, aunque infectados en útero (Anderson *et al.*, 2000). Las vacas infectadas muestran una disminución en la producción de leche durante la primera lactancia, produciendo aproximadamente 1 litro menos de leche/vaca/día que las vacas no infectadas, tienen tendencia al aborto y presentan una posibilidad mayor de ser eliminadas del rebaño a una edad menor (Radostitis., *et al.*, 2002).

2.1.8. Lesiones

Las lesiones asociadas a la infección se pueden observar en diversos órganos, dependiendo de la etapa y gravedad de la misma, siendo, en general, de naturaleza inflamatoria no supurativa. En la placenta se suelen observar focos de necrosis y zonas de intensa inflamación con infiltración de células mononucleares que, en procesos avanzados, pueden progresar hacia la regeneración conjuntiva con hiperplasia, fibrosis e incluso calcificación de los focos necróticos (Barr *et al.*, 1994b; Maley *et al.*, 2003).

Estas infiltraciones comienzan primero en las carúnculas maternas y luego se extienden al cotiledón fetal, con aparición de áreas de hemorragia y necrosis. Con frecuencia se observa separación de la carúncula y el cotiledón con liberación de suero en el septo materno-fetal. Las lesiones placentarias son más graves y la necrosis más amplia cuando se ha producido muerte fetal que cuando el feto sobrevive (Gibney *et al.*, 2008).



En el SNC, este parásito invade de forma activa neuronas y astrocitos, por lo que provoca trastornos neuromusculares graves por destrucción de las células nerviosas, incluyendo nervios craneales y espinales, afectando la transmisión del impulso nervioso (Mayhew *et al.*, 1991; Dubey & de Lahunta, 1993).

2.1.9. Inmunidad

Neospora caninum es un parásito intracelular obligado, por lo cual tanto la respuesta de anticuerpos, cuya puesta en evidencia es de gran ayuda en el diagnóstico y en estudios epidemiológicos, como los mecanismos implicados en la respuesta celular son importantes elementos de la respuesta inmune frente a *N. caninum*. En este sentido, los diversos estudios de la respuesta inmune desarrollada por el hospedador frente al parásito, tanto en el modelo murino como en el modelo bovino han demostrado que tras la infección se induce una respuesta inmune humoral y celular. (Gondim *et al.*, 2004).

Dichos mecanismos se ponen en funcionamiento en los primeros momentos tras la infección, activándose componentes de la inmunidad innata como células dendríticas, células NK y macrófagos. Estos tipos celulares actúan como primera línea de defensa, destruyendo las células infectadas por el parásito y liberando citoquinas del tipo IL-12 e IFN- γ (Klevar *et al.*, 2007).

La resistencia a parásitos Apicomplexa está asociada a una respuesta inmunitaria T helper 1 (Th1) mediada por linfocitos T CD4, con producción de IFN- γ (interferón gamma), IL-12 (interleucina 12), FNT- α (factor de necrosis tumoral α) e IgG2 (inmunoglobulina G2) (Innes *et al.*, 2001; 2002). La respuesta Th1 se desencadenada en respuesta al parásito, al comienzo de la preñez genera una serie de procesos inmunopatológicos que son incompatibles con el mantenimiento de la



gestación. Por otro lado, en la gestación tardía, cuando la respuesta Th1 es moderada, la lesión en la placenta es menor y el feto sobrevive (Innes *et al.*, 2002). La disminución de la transmisión vertical en las sucesivas preñeces y el bajo nivel de repeticiones de abortos en animales infectados sugieren la existencia de mecanismos inmunitarios adaptativos de protección (McAllister *et al.*, 2000).

La respuesta inmune Th2, es favorecida por los altos niveles de progesterona y se encarga de mantener la preñez a través de la producción de IL4, IL5, IL6, IL9 e IL10, así mismo disminuye la producción de moléculas pro-inflamatorias como IL12 e IFN- γ , siendo estas últimas perjudiciales para la vida fetal (Quinn, Ellis & Smith, 2002).

Uno de los mecanismos más importantes durante el proceso de rechazo fetal establece un desequilibrio entre la respuesta Th1/Th2 a favor de la respuesta Th1 alterando el sincitiotrofoblasto, por consiguiente, se genera la producción de IFN- γ que es capaz de interferir en ese tejido directamente causando abortos espontáneos, y otras citoquinas asociadas a este tipo de respuesta (Innes *et al.*, 2001).

2.1.10. Diagnóstico

Para el diagnóstico de la neosporosis bovina se deben analizar el feto, y los sueros del feto y de la madre. Frecuentemente, los resultados que sugieren la neosporosis como causa de aborto, cobran solidez cuando no hay indicios de la acción de otra enfermedad abortigénica. La identificación de *N. caninum* en los tejidos de fetos o temeros perinatales, mediante técnicas directas, ofrecen mayor certeza al diagnóstico (Echaide, 2000).



El diagnóstico de la neosporosis bovina se hace complejo debido a la falta de signos clínicos patognomónicos y a su fácil asociación con otro tipo de enfermedades que generan problemas reproductivos entre ellos el aborto (Campero, 2002). Sin embargo, se hace indispensable asociar la anamnesis, el estado sanitario de la explotación, la presentación de signos clínicos y lesiones halladas, aun así, el diagnóstico final que confirmará la presencia de la enfermedad será dado por pruebas que identifiquen antígenos o anticuerpos contra *N. Caninum* (Cebrián *et al.*, 2003).

Por otra parte, técnicas como IFI, micro aglutinación, inmunoblot y un considerable número de ELISA han sido descriptos considerablemente. Estas técnicas varían en sus características, cualidades y sus objetivos como prueba. Algunas son optimizadas para la detección de animales seropositivos mientras que otras preferentemente reconocen rodeos que han tenido episodios de aborto por infección con *N. canium*. Un número de ELISA han sido también modificados para estudios de avidez de los anticuerpos encontrados en animales infectados (Bartels *et al.*, 2006; Schares *et al.*, 2002). A nivel mundial, no existe ningún protocolo estandarizado para su diagnóstico (Dubey *et al.*, 2007). En establecimientos con problemas de abortos, deberían llevarse a cabo la serología materna de vacas abortadas y vacas gestantes del mismo rodeo, así como también el examen de los fetos y de las placentas (Anderson *et al.*, 2000; Dubey *et al.*, 2007).

Entre los tipos de diagnóstico se tiene:

a) Inmunoblot

El inmunoblot o electrotransferencia, es una técnica analítica usada para detectar proteínas específicas en una muestra determinada. Mediante una



electroforesis en gel se separan las proteínas de los taquizoitos. Luego son transferidas a una membrana adsorbente, típicamente de nitrocelulosa o de PVDF (polifluoruro de vinilideno) para poder buscar la proteína de interés con anticuerpos específicos contra ella (Towbin *et al.*, 1979 & Renart *et al.*, 1979).

Finalmente, se detecta la unión antígeno-anticuerpo por actividad enzimática, fluorescencia entre otros métodos. De esta forma se puede estudiar la presencia de la proteína en el extracto y analizar su cantidad relativa respecto a otras proteínas. Como el IB combina la resolución de la electroforesis en gel con la especificidad de detección inmunoquímica, el método tiene una alta especificidad. Sin embargo, es también una técnica engorrosa, consume tiempo y diferentes laboratorios informaron sobre variación en la sensibilidad (Baszler *et al.*, 1996).

b) Inmunofluorescencia Indirecta.

Diferentes estudios realizados en distintas especies animales han demostrado que esta técnica presenta una muy baja reactividad cruzada con otros parásitos coccidiales. Por esto IFAT es utilizada frecuentemente como prueba serológica de referencia para la detección de anticuerpos contra *Neospora caninum* (Lasri *et al.*, 2004). Una característica de esta técnica es la de preservar la morfología del parásito y detectar antígenos de membrana, no existiendo reacción cruzada. La IFI detecta, fundamentalmente, anticuerpos que se unen a los antígenos localizados en la superficie celular de *Neospora caninum*. Se considera como resultado positivo cuando se observa la fluorescencia en toda la superficie del taquizoíto, que normalmente aparece cuando se analizan sueros con títulos moderados o altos. El patrón de IFI varía cuando se analizan sueros con títulos bajos, reduciéndose considerablemente la fluorescencia o quedando restringida a la



parte apical del taquizoíto. Sin embargo, el resultado de la fluorescencia apical también puede aparecer como resultado de reacciones cruzadas con *T. gondii*, *Eimeria* spp, *T. gondii* y *N. caninum*, ya que contienen epítomos comunes asociados al complejo apical (Sasai; 1998).

c) Microaglutinación

Es una prueba serológica relevante en el diagnóstico de la neosporosis. No requiere conjugados de difícil adquisición y permite analizar sueros de varias especies simultáneamente. Tiene alta repetitividad entre operarios, es barata, de fácil lectura, utiliza poco equipamiento y materiales (Moore., *et al.*, 2001).

d) Elisa

Se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una 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 ha 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).



Las pruebas ELISA basadas en la proteína recombinante presentan niveles mayores de sensibilidad y especificidad que las basadas en lisados de taquizoitos completos (Radostitis., *et al*, 2002). Esta técnica, utiliza los anticuerpos a los que se han enlazado covalentemente las enzimas de modo que quedan sin alteración las propiedades catalíticas de la enzima y la especificidad del anticuerpo. Las enzimas enlazadas, típicamente incluyen peroxidasa, fosfatasa alcalina y galactosidasa, todas las cuales catalizan reacciones cuyos productos son de color y se pueden determinar en cantidades muy pequeñas (Gamón, 2003).

Dentro de los tipos de ELISA, el más utilizado es ELISA indirecto, el cual emplea antígeno soluble de taquizoito, mezcla de antígenos intracelulares y de membranas de los diferentes aislados de *Neospora caninum*, puede ser usado con muestra de suero, leche y líquidos fetales para la detección de anticuerpos, además los resultados pueden ser expresados como valores de Densidad Óptica, valores Porcentuales de Positividad, o valores de cociente entre Muestra/Control Positivo. (Ortega-Mora *et al.*, 2006).

La técnica de ELISA tiene la ventaja del costo/tiempo, ante exámenes de un gran número de muestras de suero de bovinos, lo cual es aplicable en hatos en los cuales es necesario el análisis de un gran número de animales. En cuanto a especies menores, los laboratorios de diagnóstico veterinario, reciben pocas muestras, tal es el caso de las muestras de perros, por lo cual en estos casos el IFI es utilizado como examen de rutina, por causa de su flexibilidad (Bjorkman *et al.*, 1999)

En la práctica, el ELISA indirecto que emplea antígeno soluble, mezcla de antígenos intracelulares y de membrana de los diferentes aislados de *Neospora*



caninum, es la técnica de diagnóstico que se emplea con mayor frecuencia en la detección de anticuerpos específicos en suero y líquidos fetales (Bjorkman., 1999).

En el ELISA indirecto las placas 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 secundarios por cada primario. Es el ensayo más empleado como lo es la inmunofluorescencia indirecta, pues un mismo secundario marcado y un mismo sistema enzimático cuantifican gran cantidad de antígenos (Williams *et al.*, 1999).

La metodología para la detección y cuantificación de anticuerpos específicos frente a los taquizoítos de *N. caninum* se hizo mediante ELISA indirecto utilizando el kit CIVTEST Bovis Neospora (Lab. Hipra) complementado con el kit ELISA VMRD 280-5 *N. caninum* antibody Test Kit (Lab. Multivet), siguiendo los protocolos recomendados por los laboratorios fabricantes. Los controles positivo y negativo lo procesaron por duplicado, las lecturas de las absorbancias se hicieron en la lectora de placas Biotek Modelo ELx800 (Arauco, 2018).

e) Diagnostico no serológico

e.1. Reacción en cadena de la polimerasa

La técnica de PCR ha sido notable, permitiendo esclarecer ciertos aspectos epidemiológicos. Debido a la alta eficiencia que tiene *Neospora 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).

Los órganos generalmente usados para este fin son el cerebro, corazón e hígado ya que estos son los órganos comúnmente más afectados, así mismo se ha informado que mediante PCR es posible detectar ADN del parásito en células como leucocitos, linfocitos y sangre, lo cual demuestra la presencia del parásito de manera directa en animales vivos con infecciones naturales o experimentales (Santana *et al.*, 2010).

e.2. Inmunohistoquímica

La técnica se lleva a cabo en tejidos fetales conservados en formol al 10% y que posean lesiones compatibles por histopatología con *Neospora caninum*; la IHQ logra identificar con gran precisión al parásito por lo que adquiere un importante valor diagnóstico, aun así se debe tener presente que la sensibilidad es baja, esto se debe a la baja población de parásitos que pueden ser hallados en tejidos autolizados, por esta misma razón, continúa siendo una técnica vigente y necesaria ya que la visualización e identificación de los parásitos sólo con la tinción de hematoxilina y eosina (Moore *et al.*, 2001).

Las lesiones más significativas son: meningoencefalitis necrotizante multifocal, miocarditis y miositis no supurativa, nefritis, hepatitis periportal no supurativa, neumonía intersticial y adrenalitis focales no supurativas. Mediante



IHQ se observan taquizoitos de *Neospora caninum*, aislados o en ocasiones, agrupados en forma de racimo, los cuales reaccionan positivamente con el antisuero primario utilizado. Los mismos están asociados a los focos inflamatorios y/o necróticos en el cerebro (Campero, 2002).

2.1.11. Tratamiento

El éxito del tratamiento depende en gran parte del tiempo de evolución de la enfermedad y del daño ya producido Cuddon; (2002). En la actualidad, no hay un tratamiento efectivo para las vacas infectadas que pueda prevenir la transmisión vertical Anderson *et al.* (2000).

Sin embargo, experimentos en ratones han evidenciado que el uso de los anticoccidiales derivados de la triazina, como toltrazuril y ponazuril, previenen la formación de lesiones cerebrales y además disminuye la detección de DNA parasitario por medio de PCR en más de 95% McAllister, (2016).

Aún no existe información concluyente respecto a la eficacia de la vacuna muerta en reducir la infección fetal o abortos en vacas infectadas o en prevenir la infección post natal en vacas no infectadas. Sin embargo, estudios preliminares indican que la vacuna tiene la capacidad de reducir la incidencia de abortos, pero no genera protección contra la transmisión vertical del parásito (Paz, 2005).

2.1.12. Control y prevención

El control se basa principalmente en eliminar los animales infectados y evitar la transmisión tanto vertical como horizontal (Cebrián *et al.*, 2003). En la actualidad, las vacunas que se encuentran disponibles a nivel mundial son vacunas muertas, aun así, su eficacia en la prevención de la infección congénita ha



demostrado ser deficiente. Uno de los principales problemas de la vacunación es que todos los animales serán seropositivos por lo que el uso de la serología como diagnóstico se hace imposible de utilizar en un hato Valenzuela, (2005), Jiménez y Zambrano, (2012).

Se cree que la ruta de contagio postnatal es a través de la ingestión de carne cruda, por lo que tiene sentido recomendar a los dueños de los perros que cocinen la carne completamente antes de dársela a los perros Barber, (1998). También evitar el acceso de perros y otros carnívoros a los recintos ganaderos, especialmente a los almacenes de alimentos, para evitar la contaminación fecal, rápida eliminación de placentas, fetos abortados y animales muertos para evitar su ingestión por carnívoros y desinfección de los materiales contaminados por el aborto Rojas, (2003).

Se ha comprobado una asociación epidemiológica entre perros y vacas con serología positiva, es recomendable disminuir el contacto entre estos animales. En este mismo sentido, debe disminuirse la contaminación fecal de alimentos y agua. Para cortar el ciclo hacia el hospedero definitivo, además se deben retirar los tejidos potencialmente infectados, como fetos abortados y membranas fetales (Dubey, 1999; Anderson *et al.*, 2000; Dijkstra *et al.*, 2001)

Otra medida de control de la Neosporosis podría incluir la transferencia de embriones a vacas negativas a *N. caninum*, ya que es improbable que este patógeno se transmita por esa vía debido a que los embriones bovinos con zona pelucida intacta en estado de pre implantación son resistentes a la invasión de este parasito. De esta manera se estaría también controlando la transmisión vertical de la enfermedad. La vaca donadora positiva a *Neospora caninum* será estimulada



hormonalmente para producir varios embriones en forma simultánea, los cuales serán recuperados y transferidos a vacas receptoras libres de *N. caninum*. De esta manera, los embriones tendrán la calidad genética de la madre donadora, pero serán retirados antes que ocurra la transmisión transplacentaria. (Dubey *et al.*, 2007). Realizar exámenes serológicos a las hembras para reposición, tanto las nacidas en el hato, como las adquiridas de otras ganaderías (Valverde, 2007).

Se deben eliminar a las vacas infectadas ya que portan, la enfermedad de por vida. Cuando no es posible eliminar todas las vacas seropositivas, se recomienda eliminar sólo las vacas que abortan (Anderson *et al.*, 2000).

Realizar controles sanitarios en el ganado, durante un manejo reproductivo tecnificado como lo es la inseminación artificial y la transferencia de embriones, resulta conveniente para evitar la transmisión vertical del *Neospora caninum* (Dubey *et al.*, 2007).

2.1.13. Antecedentes

A nivel mundial, 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 obtuvo 53% de prevalencia 65 (Duong, 2004).

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 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 (Rivera, 2001).

En una muestra de bovinos lecheros del valle de Lima, se reporta una seroprevalencia para *N. caninum* del 40.83% \pm 8.79% (Silva & Pimentel, 2017).

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%. 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*(Horna *et al.*,1999).

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 más años de Molinopampa y Leymebamba de la provincia de Chachapoyas- Amazonas (Quevedo *et al.*, 2006), reporta una prevalencia del 40,4%.

A nivel regional, para el CIP Chuquibambilla, provincia de Melgar, se obtiene una prevalencia del 15,28% (Huarachi, 2005).

En el estudio para establecer la seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros criados al pastoreo de la provincia de Melgar, departamento de Puno 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 $18.1 \pm 3.7\%$ (Atoccsa *et al.*,2005).

La seroprevalencia de *Neospora caninum*, en Taraco fue de 9,42%, Progreso 8, 49% y 0% para Cabanillas. La coexistencia de DVB y *Neospora caninum* de



ambos agentes en el huésped bovino, para Taraco fue de 5,07%, Progreso 5,66% y 0% para Cabanillas (Laura, 2010).

En el estudio realizado por Mamani (2013). Se muestrearon 65 vacas de comunidad de Katañiray, provincia de Anta, región Cusco. Para lo cual se empleó el método de ELISA indirecta, en donde se encontró una prevalencia del 35.38% de *N. caninum*. En otro estudio realizado por Altamirano (2016), seroprevalencia de *Neospora caninum* en el establo lechero de la granja Kayra de la Facultad de Agronomía y Zootecnia UNSAAC, muestran seroprevalencia de 17% (15/88).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación geográfica del Estudio

Este trabajo de investigación se realizó en el distrito de Ilave de la provincia de El Collao, en el Departamento de Puno, Perú. Está ubicado al sur de la provincia de El Collao, a una distancia de 50 km de la ciudad de Puno, por encima de los 3850 msnm. (SENAMHI, 2012). El análisis de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Salud animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia con sede en el C.I.P – Chuquibambilla de la UNA-PUNO.

3.2. Procedencia del Material Utilizado

a). Materiales para la toma de muestras sanguíneas.

- Frascos colectores de suero sanguíneo (viales criogénicos) x 2mL
- Tubos vacutainer de 5mL
- Algodón.
- Alcohol yodado al 3%
- Agujas Hipodérmicas 20 G. X 1 pulgadas.
- Lapiceros de tinta indeleble.
- Pipetas automáticas y manuales.
- Guantes de exploración.

b). Materiales para la prueba de ELISA.



- Micropipetas de precisión.
- Tips de 10µl y de 100µl
- Probetas graduadas de 500µl
- Bandejas.
- Papel toalla.
- Algodón.
- Agua destilada.

c). Reactivos.

- Control negativo (Negativo control ELISA 1 x 0.9 ml)
- Control positivo (Positivo control ELISA 1 x 0.9 ml)
- Placa tapizado con antígeno de *Neospora caninum*.
- Conjugado 1 x 24ml
- Solución de lavado concentrada (10X).
- Diluyente de la muestra.
- Substrato TMB n.º12.
- Solución de frenado n.º3

d). Equipos de Laboratorio.

- Cronómetro de tiempo.
- Estufa incubadora a 37°C



- Lector de ELISA ChroMate Manager
- Refrigeradora convencional
- Congeladora a -20°C
- Potenciómetro.
- Micro pipeta canal simple 20 a 200 µl.
- Micropipeta canal simple 100 a 1000 µl
- Micro pipetas multicanal 50 – 300 UI

3.3. Población y Muestra del Estudio

Se trabajó con una población de 81 animales, bovinos de la raza Brown Swiss del Distrito de Ilave, tomando los siguientes criterios de inclusión:

- Hembras menores y mayores a dos años.
- Machos menores a dos años.
- Vacas en seca y producción.
- Vacas preñadas y vacías, todas seleccionadas por registro, arete y dentición.

Criterios de exclusión: Machos > 2 años

Se determinó el tamaño de muestra utilizando el muestreo por conveniencia, con un nivel de confianza de 95% así obteniendo (81 animales) para el muestreo, de las comunidades de Ccaccata, Callatapacuncani, Apacheta, Caritamayo, Cutipa, para lo cual se distribuyó los animales de la siguiente manera.

Tabla 2: Distribución de animales muestreados.



Sexo	Hembras	Machos	Hembras (>) A 2 Años			
Edad / estado reproductivo	Menores (<) a 2	Menores (<) a 2 años	Vacías / sin producción	Vacías / en producción	Preñadas/ en seca	preñadas / en producción
N° de animales	20	16	7	11	16	11
Sud total	36		45			
Total	81					

3.4. Diseño estadístico

a) Cálculo de seroprevalencia

El Cálculo de la seroprevalencia fue mediante la siguiente fórmula:

$$Prevalencia (\%) = \frac{\text{Número de muestras positivas}}{\text{Número total de muestra}} \times 100$$

Cálculos de control de validación Kit ELISA según inserto IDEXX

Control Negativo (CN)

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 A (450) + CN2 A (450)}{2}$$

Control Positivo (CP)

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 A (450) + CP2 A (450)}{2}$$

Muestras:



$$M/P \% = 100 \times \frac{\text{Muestra A (450)} - CN X}{CP X - CN X}$$

Interpretación

Negativo: $M/P \% < 30$

Dudoso: $30 \leq M/P \% < 40$

Positivo: $M/P \% \geq 40$

b) Método estadístico

Los datos cuantitativos discretas de la variable estudiada fue analizada mediante la prueba estadística de Ji – cuadrada, cuya fórmula es la siguiente:

$$\chi^2 = \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

Dónde:

χ^2 = Valor calculado de Ji cuadrado

o_{ij} = Valor observado de casos positivos o negativos

e_{ij} = Valor esperado de casos positivos o negativos

$i = (1,2)$

3.5. Procedimiento

a) Toma de muestra de suero sanguíneo

Se tomaron aproximadamente 5.0 ml de sangre de la vena yugular, en tubos vacutainer al vacío sin anticoagulante a 81 vacunos, con el fin de favorecer el



activador de coagulación, tubos fueron colocados en posición inclinada a temperatura ambiente durante un aproximado de 2 horas, luego se centrifugo a 3500 rpm x 5 minutos, posteriormente los sueros sanguíneos se aislaron en viales y se conservaron en congelación a -20°C , hasta el momento del análisis en el laboratorio de Salud Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia con sede en el C.I.P – Chuquibambilla.

b) Procesamiento de la prueba de ELISA según inserto IDEXX NEOSPORA NET1135T

1.- Las placas fueron tapizadas con antígeno y anotando la posición de las muestras. Si no se utiliza toda la placa, separar únicamente los pocillos necesarios para analizar las muestras. Guardar el resto de pocillos, junto con el desecante, en la bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable y volver a almacenar a $2-8^{\circ}\text{C}$.

2.- Se dispensó 90 μl de Diluyente de muestra en cada pocillo.

3.- Se dispensó 10 μl de control positivo (CP) no diluido en pocillos duplicados.

4.- Se dispensó 10 μl de control negativo (CN) no diluido en pocillos duplicados.

5.- Se dispensó 10 μl de muestra no diluida en los pocillos apropiados.

6.- Se mezcló los contenidos de los pocillos removiendo levemente la placa.

7.- Se cubrió la placa e incubamos a 60 minutos ($\pm 5\text{min}$) a $+37^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3^{\circ}\text{C}$), para ambas opciones las placas estuvieron selladas herméticamente para evitar la evaporación.



8.- Se eliminó el contenido líquido de cada pocillo y lavamos cada pocillo con aproximadamente 300 μ l de solución de lavado 3 veces. Después de lavado final, eliminamos el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.

9.- Se dispense 100 μ l conjugado en cada pocillo.

10.- Se cubrió la placa para incubar durante 60 min. (\pm 5min.) a $+37^{\circ}\text{C}$ (\pm 3°C).

11.- Se eliminó el contenido líquido de cada pocillo y lavamos cada pocillo con aproximadamente 300 μ l de solución de lavado 3 veces. Después de lavado final, eliminamos el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.

12.- Se dispense 100 μ l de sustrato TMB n.º12 en cada pocillo.

13.- Se incubo a $18-26^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos (\pm 1min).

14.- Se dispense 100 μ l de solución frenado n.º3 en cada pocillo.

Y finalmente letramos los resultados a una longitud de onda de 450 nm.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Prevalencia de neospora caninum

Tabla 3: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos Brown Swiss en el distrito de Ilave.

	Numero	Porcentaje %
Negativo	74	91.36
Positivo	7	8.64
Total	81	100

Elaborado por el equipo de trabajo

En la Tabla 3 se observa la prevalencia de *Neospora caninum* en vacunos Brown swiss en la comunidad del Distrito de Ilave; encontrándose un 8.64 % de prevalencia general de la enfermedad, en 81 muestras tomadas se encontraron 7 animales que presentan anticuerpos contra *Neospora caninum*, mientras que 74 animales muestreados representan un 91.36% que no presentaban anticuerpos contra *Neospora caninum*.

4.1.2. Según sexo.

Tabla 4: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos Brown swiss en el distrito de Ilave - según sexo.

Sexo	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Machos	16	1	6,25
Hembras	65	6	9,23
Total	81	7	

Elaborado por el equipo de trabajo

En la Tabla 4 se observa la variable de prevalencia de 6.25% en machos y 9.23% en hembras, a la prueba de Chi-calculado es ($P>0.05$), lo cual nos indica que no existe significancia, demostrando que no existe alguna relación entre la presentación de la neosporosis con el factor sexo.

4.1.3. Según edad

Tabla 5: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos del distrito de Ilave, según edad.

Edad	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Menor a 2años	36	3	8,33
Mayor a 2años	45	4	8,88
Total	81	7	

Elaborado por el equipo de trabajo

En la Tabla 5 se observa la variable prevalencia según edad; 8.33% menores a dos años y 8.88% mayor a dos años, a la prueba de Chi-calculado es ($P>0.05$), lo

cual nos indica que no existe significancia, demostrando nuevamente que no existe alguna relación entre la presentación de la neosporosis con el factor edad.

4.1.4. Según estado productivo

Tabla 6: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos del distrito de Ilave, según estado productivo.

Producción	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Producción	22	2	9,09
Seca	43	4	9,30
Total	65	6	

Elaborado por el equipo de trabajo

En la Tabla 6 se observa que la variable prevalencia según estado productivo; 9.09% en producción y 9.30% en seca, el Chi-calculado es ($P>0.05$), lo cual nos indica que no existe significancia, demostrando nuevamente que no existe relación alguna entre la presentación de la neosporosis con el factor de estado productivo.

4.1.5. Según estado reproductivo.

Tabla 7: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos del distrito de Ilave, según estado reproductivo.

Reproducción	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Vacías	20	4	20,00
Preñadas	45	2	4,44
Total	65	6	

Elaborado por el equipo de trabajo



En la tabla 7 se observa la variable prevalencia de *Neospora caninum* según estado reproductivo; 20.0% vacías y 4.44% en preñadas, el Chi-calculado es ($P < 0.05$), lo cual nos indica que, si existe significancia, así demostrando que existe relación entre la presentación de la neosporosis con el factor de estado reproductivo, si afecta en la presentación de la enfermedad.

4.2. Discusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio, mediante la técnica de ELISA indirecta, resultan ser inferiores a comparación de Laura, (2010), quien encontró 9.42% de prevalencia en vacunos del distrito de Taraco y 8.49% de prevalencia para vacunos del Centro Poblado de Progreso.

Estos valores son inferiores en comparación al estudio reportado por Atoccca, (2005) con la técnica de inmunofluorescencia indirecta para la provincia de Melgar, con 18.10 % de prevalencia, esto se debe mayormente al tipo de manejo (crianza extensiva, intensiva y/o mixta) y a la presencia del hospedero definitivo en las zonas de pastoreo, en la mayoría de los fundos de estudio practican el sistema de hatos abiertos; es decir, que introducen animales de reemplazo y es posible que la infección se haya establecido en la zona con la llegada de animales infectados con *neospora caninum* procedentes de zonas con prevalencias altas. La informalidad y ausencia de un control sanitario básico en la adquisición del ganado habrían facilitado el ingreso de una infección como también la presencia de canes en todos los fundos. Igualmente, (Huarachi, 2008) reporta en vacunos Brown Swiss y criollos del CIP Chuquibambilla 15.28 %, a su vez señala que el hospedador definitivo es el perro quien cumple el rol de propagar el parásito y contaminar el pastizal en las zonas de pastoreo.



Por otro lado, se encontro valores muy inferiores al presente estudio, donde (Silva, 2003), quién en muestras de bovinos lecheros del valle de Lima, encuentra una seroprevalencia de $40.83\% \pm 8.79\%$ para *Neospora caninum*. a estos resultados (Horna *et. al.*, 2003) manifestando que el *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%. En Arequipa según zonas zo ecológicas: La campiña, San Isidro, San camilo, Santa Rita, La Cano, Yuramayo, La Joya, El pedregal (Manrique, 2007) determinó en el año 2000 (56,2%), 2001 (22,7%), 2002 (67,9%), 2003 (50,8%), 2004 (68,4%) y 2005 (66.6%) de presencia de Neosporosis en bovinos lecheros.

Thurmond *et al.* (1997) menciona que las diferencias en la prevalencia varían en función del país, región, técnica diagnóstica utilizada, tamaño de muestra seleccionado y características del muestreo. A su vez, existen trabajos que demuestran una asociación entre la seroprevalencia y los factores de manejo (Barling *et al.* 2001; Fort *et al.* 2015). Según nuestro resultado en la zona de estudio existiría una propagación de *Neospora caninum*, debido probablemente a que existen animales infectados con el parásito.

Según sexo, los resultados del presente estudio son seroprevalencias inferiores, que podría deberse a la escasa y esporádica introducción de animales de reemplazo en los hatos de las comunidades. Barber (1998) manifiesta que no existe una mayor susceptibilidad por raza o sexo.

Moore *et.al.* (2005), manifiesta que los machos con *N. caninum* se comportarían como hospedadores intermediarios, pues estos podrían diseminar al protozoo a través del semen, por otro lado, en caso de adquirir un semental infectado la posible transmisión de



la enfermedad sería muy baja, ya que, pese a haberse demostrado que puede ser eliminado a través de semen y haberse detectado su ADN en semen congelado, las cantidades de *N. caninum* serían insuficientes para producir la infección. Considerando también que en las comunidades que se realizó dicho estudio, ya cuentan con el servicio de inseminación artificial y se redujo lo que es la monta natural, razón por la cual nos hace ver que no existe relación con el factor sexo.

Los valores encontrados en el presente estudio son inferiores al reporte de (Silva *et al.* (2002), quién en muestras de bovinos lecheros del valle de Lima, encuentra una seroprevalencia de $40.83\% \pm 8.79\%$ para *N. caninum*; y Del Campo *et al.*, (2002) en un estudio para determinar la presencia de abortos en establos lecheros del valle de Lima, se obtuvieron una prevalencia de $32.7 \pm 9.0\%$ de *N. caninum*. A estos resultados coadyuva (Horna *et. al.*, 2003) manifestando que el *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%.

Según edad, con respecto a nuestro resultado no se encuentra una relación entre la edad y la seropositividad. Anderson *et al.* (1997) menciona que la infección de *Neospora caninum* es más evidente en vaquillas que en vacas y decrece con el número de partos, al parecer la inmunidad maternal se va incrementando con la edad. Considerando que una vaca adulta es más propensa adquirir dicha enfermedad, mayormente por tener más números de partos, mayor posibilidad a la infección por cada servicio reproductivo

Como también, Bedoya, *et al.* (2018) en estudios de seroprevalencia de *Neospora caninum* en Colombia, indican que, según la edad, las prevalencias más bajas se



encontraron en animales jóvenes de 17 meses de edad 19,8% y que las más altas prevalencias se encontraron en hembras mayores de 3 años de edad 31.1%; ($p < 0.05$). Según Pare *et al.* (1996) indica que la Neosporosis difiere de la edad de los animales.

Según estado productivo, los valores encontrados en el presente trabajo son inferiores a los reportes de Rivera, (2000) donde determino un 40% de *Neospora caninum* en el valle de Lima, como principal causa de abortos y pérdidas embrionarias. Por lo tanto, se asume que, en el valle de Lima, se tienen vacas de alta producción, donde estos animales tienen alta demanda de energía y proteína para la producción de leche, por lo tanto, los diferentes estados de lactación y el mayor número de vacas, conllevan a la presentación alta de *Neospora caninum*.

Bedoya *et al.*, (2018) no encontró diferencias de seroprevalencia de *Neospora caninum* de acuerdo al estado de lactación, producción de leche y estado de gestación.

El resultado es inferior a los reportes Anderson *et al.* (1994) con 42% de abortos debido a la Neosporosis en vacunos en producción lechera y esta es considerada uno de los mayores problemas en los establos. En los hatos de Gran Bretaña y Nueva Zelanda, las tasas de aborto anual fueron de 16 y 30% respectivamente. Los abortos en el ganado debido a *N. caninum*, se reportan en fetos de aproximadamente 3.5 meses de gestación a término (Dubey *et al.*, 1997).

Según estado reproductivo, Bedoya *et al.*, (2018) no encontró diferencias de seroprevalencia de *Neospora caninum* de acuerdo al estado de lactación, producción de leche y estado de gestación. Estos valores encontrados en el presente trabajo son inferiores a los reportes de (Rivera, 2000) donde determino un 40% de *Neospora caninum* en el valle de lima, como principal causa de abortos y pérdidas embrionarias.



Shares *et al.* (1998) manifiesta que la transmisión de *Neospora caninum* entre madre y cría puede ser mantenida por varias generaciones, pues una de las vías de contagio principales es la transplacentaria. Así mismo, hatos que reportaron más de tres casos de retención de placenta fueron aquellos con prevalencias altas de neosporosis ($P > 0.05$). La frecuencia de presentación de casos de vacas repetidoras (vacías) en los hatos evaluado, donde 13 de ellos (52%) registraron de 1-3 casos, 11 (44%) registraron más de 3 casos y un hato (4%) no los tuvo, el mayor número de hatos con casos positivos de neosporosis estuvo asociado con la presencia de 1-3 y >3 casos de vacas repetidora Arauco (2018).

Cebrian *et al.* (2003) reporta que el aborto en ganado lechero estaría relacionado con el manejo, la mayor densidad de animales en explotaciones intensivas y la mayor facilidad de que los alimentos se contaminen con heces del hospedador definitivo. Asimismo, es más fácil que los abortos pasen desapercibidos en ganaderías extensivas (Cebrián, 2003).

En los hatos de Gran Bretaña y Nueva Zelanda, las tasas de aborto anual fueron de 16 y 30% respectivamente. Los abortos en el ganado debido a *N. caninum*, se reportan en fetos de aproximadamente 3.5 meses de gestación a término (Dubey *et al.*, 1997; Slotved *et al.*, 1999).

En Argentina para las provincias de Santa Fe y Córdoba, se registra 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 12,5% de abortos, en España tasas de 17,9% en fetos bovinos abortados y 83,2% en rebaños lecheros y para México 36,5% (Andersen, 1999).



V. CONCLUSIONES

- La seroprevalencia de *Neospora caninun* fue de 8.64% de 81 animales; analizados en las comunidades del distrito de Ilave. La seroprevalencia según edad es independiente pues este parasito afecta de igual forma tanto a los menores de 2 años y mayores de 2 años. En cuanto al factor sexo es independiente lo cual indica que no existe alguna relación entre la presentación de la neosporosis con el factor sexo. Lo mismo indica en el factor productivo, donde no existe significancia, demostrando nuevamente que no existe relación alguna entre la presentación de la neosporosis con el factor productivo.
- La seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacas en estado reproductivo indica que sí existe significancia, demostrando que existe una relación entre la presentación de la neosporosis con el factor reproductivo.



VI. RECOMENDACIONES

- Establecer registros de control donde se puedan identificar a las vacas que muestran antecedentes con problemas de abortos.
- Reemplazar a las vacas seropositivas, evitando la transmisión vertical de *neospora caninum* dentro de los establos.
- Implementar programas de sensibilización de tendencias de crianza de canes, a fin de cambiar la conducta de crianza de estos animales para evitar la propagación de la enfermedad.
- No alimentar a los perros con fetos y placentas, ya que esto sería un factor predisponente para su diseminación del protozoo.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almería S, López-Gatius F, (2013). *Bovine neosporosis: clinical and practical aspects*.
Research in veterinary science 95 (2), 303-309.
- Altamirano, A. (2016). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en el establo lechero de la granja Kayra de la fac. de Agronomía y Zootecnia UNSAAC. Universidad Nacional del Altiplano.
- Anderson, M. L., C. W. Palmer, M. C. Thurmond, J. P. Picanso, P. C. Blanchard, R. E. Breitmeyer, A. W. Layton, M. McAllister, B. Daft, and H. Kinde. (1995). *Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California*. J.Am.Vet.Med.Assoc. 207:1206-1210.
- Anderson, M., Andrianarivo, A., & Conrad, P. (2000). Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, 60–61, 417–31. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10844212>.
- Anderson, M., Barr, B., & Conrad, P. (1994). Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. *Pub Med*, 10. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7728629>.
- Andresen H. (1999). *Neosporosis en el Perú y en el Mundo*. Mv. *Revista de Ciencias Veterinarias*.
- Atoccca J., Chávez A., Casas E., Falcón P. (2005). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros criados al pastoreo en la provincia de Melgar, Puno. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 16(1), 71–75. <https://doi.org/10.15381/rivep.v16i1>



- Aycachi R. (2005) *Neospora caninum* –Parasitología. Agosto (Internet).
(Consultado 20/02/2011.) Disponible:
<http://www.monografias.com/trabajos30/neospora-caninum/neosporacanium.shtml>
- Barber, J. S. (1998). Neosporosis Canina. Waltham Focus Volumen 8 No 1.
- Barling, K.S., McNeill, J.W., Paschal, J.C., McCollum F.T., Craig, T.M., Adams, L.G., Thompson, J.A. (2001). *Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for Neospora caninum in consignments of beef calves in Texas, USA.* Prev Vet Med. 52(1): 53-61.
- Barr B, Bjerkäs I, Buxton D, Conrad P, Dubey J, Ellis J, Jenkins M, Johnston S, Lindsay D, Sibley D, Trees A, Wouda W. (1997). *Neosporosis. Report of the international Neospora workshop.* Parasitology; 19:120-126.
- Barr BC, Rowe JD, Sverlow KM (1994), *Experimental reproduction of bovine fetal Neospora infection and death with a bovine Neospora isolate.* J Vet Diagn Invest. 6: 207–215
- Barr, B. C., P. A. Conrad, R. Breitmeyer, K. Sverlow, M. L. Anderson, J. Reynolds, A. E. Chauvet, J. P. Dubey, and A. A. Ardans. (1993). *Congenital Neospora infection in calves born from cows that had previously aborted Neospora-infected fetuses: four cases (1990-1992).* J.Am.Vet.Med.Assoc. 202:113-117.
- Barr, B.C., Conrad, P.A., Dubey, J.P., Anderson M. L. (1991). *Neospora-like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, and immunoreactivity.* J Vet Diagn Invest. 3: 39-46.



- Bartels, C.J., Wouda, W., Schukken, Y.H. (1999). *Risk factors for Neospora caninum associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997)*. Theriogenology. 52: 247-257.
- Bartels, C.J.M., Arnaiz-Seco, J.I., Ruiz S, Bjorkman (2006). *Supranational comparison of Neospora caninum seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden*. Vet Parasitol. 137(1): 17-27.
- Baszler, T.V., Knowles, D.P., Dubey, J.P., Gay, J.M., Mathison, B.A., McElwain, T.F. (1996). *Serological diagnosis of bovine neosporosis by eospora*
- Bedoya H, Guimaraes M, Martins R, Polo G, Caetano A, (2018). *Seroprevalence and risk factors for Neospora caninum infection in cattle from the eastern Antioquia, Colombia*. Veterinary and Animal Science, Volume 6, Pages 69-74.
- Bergeron, N., Fecteau, G., Paré, J., Martineau, R., & Villeneuve, A. (2000). Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Québec. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 41(6), 464-7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10857030>
- Bjerkäs I, Jenkins M, Dubey J. (1994). *Identification and characterization of Neospora caninum tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis*. Clinic Diag Lab Immunol; 1: 214-221.
- Bjorkamn, C., Alenius, S., Manuelsson, U., Ugglå, A. (2000). *Neospora caninum and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion*. Vet J. 159: 201-206.



- Bjorkman, C., Naslund, K., Stenlund, S., Maley, S. W., Buxton, D., Uggla, A. (1999). *An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic Neospora caninum infection. J Vet Diagn Invest.* 11(1): 41-44.
- Buxton D, McAllister MM, Dubey JP, (2002) *the comparative pathogenesis of neosporosis.* Trends in parasitology 18 (12), 546-552.
- Cabrera, M., P. Ortiz, J. Cloxton, and D. Williams. (2000). Evidencia serológica de infección por *neosporea caninum* en ganado vacuno en Perú. *IV Congreso Peruano de parasitología. Lima.*
- Campero, Carlos. (2002). *Pérdidas Provocadas por Neospora caninum en Bovinos. Disertación de la reunión de Especialistas en Parasitología Veterinaria de Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay 11° Encuentro de Veterinarios Endoparasitólogos Rioplatenses.* Tandil 22 al 24 de Mayo del 2002.
- Cebraín L. Barberán M. Ferrer L. (2003) *Neosporosis y Aborto en elGanado Bovino.* Dpto. de Patología Animal. Facultad de Veterinaria Zaragoza.
- Cole R, Lindsay DS. (1995) Blagburn BL, Dubey JP. (1995). Vertical transmission of *Neospora caninum* in mice. *J Parasitol* 81: 730-732.
- Cordero del Campillo M, Rojo F, Martínez A, Sánchez C, Hernández S, Navarrete I, (1999) *Parasitosis del sistema reproductor.* 1ª Edición. Madrid: McGrawHill – Interoamericana. Pág. 330, 331, 332.
- Cordero del Campillo, M., & Vázquez, F. (1999). *Parasitologia veterinaria.* McGraw-Hill, Interamericana de España. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=489596>



- Cornejo, P., Chávez, V., Casas, A., & Arana, D. (1999). *Seroprevalencia de Neospora caninum en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* (Vol. 15). Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172004000100010
- Cuddon, P. (2002). “*Acquired canine peripheral neuropathies*”. *The Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice* 32 (1): 207-249.
- 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* 1482): 145-149
- Dijkstra T, Lam TJ, Bartels CJ, Eysker M, Wouda W, (2008). *Natural postnatal Neospora caninum infection in cattle can persist and lead to endogenous transplacental infection. Veterinary parasitology* 152 (3-4), 220-225.
- Dijkstra, T., Barkema, H.W., Hesselink, J.W., Wouda. W. (2002). *Point source exposure of cattle to Neospora caninum consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. Vet Parasitol.* 105: 89-98.
- Dubey JP, (2005). *Neosporosis in cattle. The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* 21 (2), 473-483.
- Dubey JP, Lindsay DS, (1996). *A review of Neospora caninum and neosporosis. Veterinary parasitology* 67 (1-2), 1-59.



- Dubey JP, Zarnke R, Thomas N, Wong S, Van Bonn W, Briggs M, Davis J, Ewing R, Mense M, Kwok O, Romand S, Thulliez P. (2003). *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. *Vet Parasitol.* 116:275-296.
- Dubey, J. P. (1999). *Recent advances in Neospora and neosporosis.* *Vet., Parasitol*, 84: 349-367.
- Dubey, J. P., & Dubey, J. (2003). Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*, 41(1), 1–16. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12666725>.
- Dubey, J. P., A. L. Hatel, D. S. Lindsay, and M. J. Tropper. (1988). Neonatal *Neospora caninum* infection in dog: humoral and cellular immune responses. *Int J Parasitol.* 29: 1647 – 1657.
- Dubey, J.P., G. Schares, and L. Ortega-Mora (2007). *Epidemiology and control of Neosporosis and Neospora caninum.* *Clin Microbial Rev.* 20: 323-367.
- 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.
- Echaide I, (2000) *La Neosporosis Bovina. Jornada sobre enfermedades emergentes del bovino.* Santa Fe –Argentina.
- Escalona, Jorge., García, Francisco., Mosquera, Ortelio., Vargas, Francisco., y Corro, Ana. (2010). *Factores de riesgo asociados a la prevalencia de neosporosis Bovina*



en el municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 28(2), 201-212.

Fernández B.C, Gennari, S.M., Souza, S.L., Carvalho, J.M., Olivera, W.G., Cury, M.C. (2004). *Prevalence of Anti-Neospora caninum Antibodies in Dogs from Urban, Periurban and Rural Areas of the City of Uberlândia, Minas Gerais-Brazil*. *Veterinary Parasitology* 123. Issues 1-2. Pages 33-40.

Fisher, M., y J, McGarry. (2007). *Fundamentos de Parasitología en Animales de Compañía 1ra Edición (español)*. Editorial Inter-Medica. Buenos Aires.

Gamon J. (2003). *Detección de anticuerpos de Neospora caninum en la zona norte de la cuenca lechera del departamento de Santa Cruz*. (Tesis de Grado). (En línea). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Bolivia Disponible en: http://www.fcv.uagrm.edu.bo/sistemabibliotecario/doc_tesis/GAMON%20A.%20EDUARDO-20101119-105009.pdf

Georgieva, D., Prelezov, P., Koinarski, T. (2006). *Neospora caninum and neosporosis en animals A. review*. *Bulg. J. Vet. Med.* 9, N°1, 1-26.

Gibney EH, Kipar A, Rosbottom A, Guy CS, Smith RF, Hetzel U, Trees AJ, Williams DJ, (2008). *The extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following Neospora caninum infection in early and late gestation correlates with foetal death*. *International journal for parasitology* 38 (5), 579-588.



- Gondim LF, Laski P, Gao L, McAllister MM, (2004). *Variation of the internal transcribed spacer 1 sequence within individual strains and among different strains of Neospora caninum*. The Journal of parasitology 90 (1), 119-122.
- Gondim, L.F.P., McAllister, M.M., Pinilla, N.E., Pitt, W.C., & Mech, L.D. (2004). *Transmission of Neospora Caninum between wild and domestic animals*. Iranian Journal of Parasitology, 90(6), 1361-1365. <https://doi.org/10.1645/GE-341R>
- Holmdahl, O. J., Mattsson, J. G., Uggla, A., & Johansson, K. E. (1994). The phylogeny of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* based on ribosomal RNA sequences. *FEMS Microbiology Letters*, 119(1–2), 187–92. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8039658>
- Horna, M., Chavez, A., Rivera, H., Casas, A., & Serrano, E. (1999). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en caninos en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 14(2), 150–154. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009
- Huarachi, G. (2005). *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.
- Innes, E.A., Wright, S.E. Maley. S., Rae, A., Schock, A. Kirvar, E. Bartley, P., Hamilton, C., Carey, I.M. (2001). *Protection against vertical transmission in bovine neosporosis*. Int J Parasitol. 31: 1523-1534.



- Innes, E. A., Andrianarivo, A.G Bjorkman, C, Williams, D.J. (2002). Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitol.* 18: 497-504.
- Jiménez, C. y Zambrano, J. (2012). *Enfermedades que afectan la reproducción bovina en Colombia, no sujeta a control oficial.* 2a ed., 53-57. Bogotá: Produmedios.
- Klevar, S., Kulberg, S., Boysen, P., Storset, A. K., Moldal, T., Björkman, C., & Olsen, I. (2007). Natural killer cells act as early responders in an experimental infection with *Neospora caninum* in calves. *International Journal for Parasitology*, 37(3–4), 329–339. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2006.11.002>
- Lasri, S., De Meerschman, F., Rettigner, C., Focant, C., & Losson, B. (2004). Comparison of three techniques for the serological diagnosis of *Neospora caninum* in the dog and their use for epidemiological studies. *Veterinary Parasitology*, 123(1–2), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.05.025>
- Lindsay, D. S., Speer, C. A., Toivio-Kinnucan, M. A., Dubey, J. P., & Blagburn, B. L. (1993). Use of infected cultured cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. *American Journal of*
- Maley S, Buxton D, Rae A, Wright S, Schock A, Bartley P, Esteban-Redondo I, Swales C, Hamilton C, Sales J, Innes E. (2003) *The pathogenesis of neosporosis in pregnant cattle: inoculation at mid-gestation.* *J Comp Path*; 129:186-195.
- Mamani, M. (2013). Incidencia de Neosporosis en vacunos con antecedentes de aborto e infertilidad en la comunidad campesina de Catañiray-Anta. Tesis de Ing



Zootecnista. Cusco: facultad de Agronomía y Zootecnia. Univ.Nac.San Antonio
Abad del Cusco.

Manrique, G. (2007). *Series históricas 2000-2005 de seroprevalencia de Diarrea viral bovina (DVB), Rinotraqueitis infecciosa (IBR) y Neosporosis bovina por zonas zoecológicas de la Región Arequipa*. Revista Medicina A de la Producción, LABVETSUR.

Martínez, Alexander., Moreno, Giovanni., y Cruz, Anastasia. (2012). *Actualización de la Neosporosis Bovina*. Conexión Agropecuaria, 2(1), 50-66.

Mayhew, I. G., K. C. Smith, J. P. Dubey, L. K. Gatward and N.J. McGlennon. (1991). *Treatment of encephalomyelitis due to Neospora caninum in a litter puppies*. J. Small Anim. Pract. 32, 609-612.

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

McAllister, M. M. (2016). *Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis*. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 32(2), 443-463.
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.012>

McAllister, M.M., Bjorkan, C. Anderson-Sprecher, R. Rogers. D.G. (2000). *Evidence of point-source exposure to Neospora caninum and protective immunity in a herd of beef cows*. J Am Vet Med Assoc. 217: 881-887.

McCann CM, McAllister MM, Gondim LF, Smith RF, Cripps PJ, Kipar A, Williams DJ, Trees AJ, (2007). *Neospora caninum in cattle: Experimental infection with*



oocysts can result in exogenous transplacental infection, but not endogenous transplacental infection in the subsequent pregnancy. International journal for parasitology 37 (14), 1631-1639.

Moore D. Odeón A y Campero C. (2001) Vet. Ar: *Neosporosis bovina*. Dic. (Consultado 05/02/2011) Vol. XVIII. N° 180: 752. Disponible: http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/bovinos/sanidad/enf_repro/MooreNcanimun.PDF

Moore, D., C. Campero, A. Odeon, M. Posso, D. Cano, M. Leunda, W. Basso, M. Venturini, and E. Spath. 2002. Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora Caninum* in Argentina. Vet Parasitol 107: 303 – 316.

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

Ortega-Mora LM, Fernández-García A, Gómez-Bautista M, (2006). *Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives.* Acta Parasitológica 51 (1), 1-14.

Otranto, D., Llazari, A., Testini, G., Traversa, D., Di Regalbono, A.F., Badan, M., Capelli, G. (2003). *Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy.* Vet Parasitol. 118 (1): 7-18.

Oviedo T, Betancur C, Maestra A, González M, Mestra P, Reza L. Rev.MVZ: *Estudio serológico sobre neosporosis en bovinos con problemas reproductivos en Montería, Córdoba, Colombia.* Junio (2006). Vol. 12(1): Pág. 929-933. URL Disponible en: www.unicordoba.edu.co/revistas/revistamvz/mvz-121/121-7.pdf.



- Paré, J., M. C. Thurmond, and S. K. Hietala. (1996). *Congenital Neospora caninum infection in dairy cattle and associated calfhood mortality*. *Can.J.Vet.Res.* 60:133-139.
- Patitucci A.; Perez M.; Israel K.; Rojas M.; (2000). Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en ds rebaños lecheros de la IX Regio de Chile. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Catolica de Temuco, Proyecto Interno UCT, N° 98-3-03.
- Paz, V. (2005). *Neosporosis en Bovinos y caninos*. *Mon. Electr. Patol Vet.* 2(1): 17- 33. ISSN 0718-0780
- Paz, V. (2005). *Neosporosis en bovinos y caninos*. Retrieved from <http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET1-2005/PDF/Mepavet08.pdf>
- Perera, I. (2015). *Manejo de hembras durante la gestación, el parto y la lactancia de las crías*. (Editorial ELearning, Ed.) (Edition 1). Retrieved from <https://www.amazon.es/Manejo-hembras-durante-gestación-lactancia/dp/8416492832>
- Petersen E, Lebech M, Jensen L, Lind P, Rask M, Bagger P, Björkman C, Uggla A. (1999). *Neospora caninum infection and repeated abortions in humans*. *Emerg Infect Dis*; 5: 278-280.
- Quinn, H.E., Ellis, J.T., Smith, N.C. (2002). *Neospora caninum: a cause of immune-mediated failure of pregnancy*. *Trends Parasitol.* 18: 391-394.



- Quispe, J., Belizario, C., Apaza, E., Maquera, Z., & Quisocala, V. (2016). Desempeño productivo de vacunos *Brown swiss* en el altiplano peruano., *18*, 411–421. Retrieved from file:///C:/Users/pc/Downloads/233-362-1-PB (2).pdf
- Radostis, Otto. (2002). Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. (9a ed.). Madrid: S.A. Mcgraw-Hill / Interamericana de España.
- Renart, J., Reiser, J., Stark, G.R. (1979). *Transfer of proteins from gels to diazobenzyloxymethyl-paper and detection with antisera: a method for studying antibody specificity and antigen structure*. Proc Natl Acad Sci USA. 76 (7): 3116-3120.
- Rivera, H. (2001). Etiología infecciosa del aborto bovino. Rev. Inv. Vet. Perú Supl. 1: 95-99.
- Rivera, H., Nelson, D., Tabachi, L. (2000). *Neospora caninum* y otros agentes en 471 fetos abortados de bovinos lecheros del valle de Lima. Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú).
- Rojas, C.M. (2003). Neosporosis canina. Rev virt parasitol vet peru. 2003
- 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.
- Santana, Omar., Cruz, Carlos., Medina, Leticia., Ramos, Miguel., castellano, Ciro., y Quezada, Daniel. (2010). *Neospora caninum: Detección de ADN en sangre durante la primera gestación de vaquillas infectadas naturalmente*. Publicación digital de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 41(10), 131-137.



Recuperado de: <http://www.revistas.unam.mx/index.php/Veterinaria-Mexico/article/view/18362>.

- Sasai, K., Lillehoj, H. S., Hemphill, A., Matsuda, H., Hanioka, Y., Fukata, T., Baba, E., Arakawa, A. (1998). *A chicken anti-conoid monoclonal antibody identifies a common epitope which is present on motile stages of Eimeria, Neospora, and Toxoplasma*. J.Parasitol. 84, 654-656.
- Schares G., Bärwald A., Staubach C., Ziller M., Klob D., Wurm R., Rauser R M., Labohm R., Dräger K., Fasen W., Hess R.G., Conraths F.J. (2003). *Regional distribution of bovine Neospora caninum infection in the German state of Rhineland-Palatinate modelled by logistic regression*. Int J Parasitol. 33: 1631-1640.
- Schares, G., Barwald, A., Staubach, C., Sondgen, P., Rauser, M., Schroder, R., Peters, M., Wurm, R., Selhorst, T., Conraths, F.J. (2002). *P38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic Neospora caninum-associated bovine abortion*. Vet Parasitol. 106: 293-305.
- Schares, G., Barwald, A., Staubach, C., Sondgen, P., Rauser, M., Schroder, R., Peters, M., Wurm, R., Selhorst, T., Conraths, F.J. (2002). *P38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic Neospora caninum-associated bovine abortion*. Vet Parasitol. 106: 293-305.
- Schares, G., Peters, M., Wurm, R., Barwald, A., Conraths. F.J. (1998). *The efficiency of vertical transmission of Neospora caninum in dairy cattle analysed by serological techniques*. Vet Parasitol. 80: 87-98.



- SENAMHI. (n.d.). Yauri. Retrieved November 30, 2018, from http://www.senamhi.gob.pe/include_mapas/_dat_esta_tipo.php estaciones=000757
- 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.
- Spilovsa, Silvia., Reiterová, Katarina., & Antolová, Daniela. (2015). *Neospora caninum - Associated Abortions in Slovak Dairy Farm. Iranian Journal Of Parasitology*, 10(1), 96-101. Recuperado de: <http://ijpa.tums.ac.ir/index.php/ijpa/article/view/347>.
- Towbin, H., Sstaehelin, T., Gordon, J. (1979). *Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications*. Proc Natl Acad Sci USA. 76 (9): 4350-4354
- Tranas J, Heinzen R, Weiss L, Mcallister M. (1999). *Serological evidence of human infection with the protozoan Neospora caninum*. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology; 765-767.
- Trees AJ, Davison HC, Innes EA, Wastling JM, (1999). *Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. International journal for parasitology* 29 (8), 1195-1200.
- Trees AJ, Williams DJL, (2005). *Endogenous and exogenous transplacental infection in Neospora caninum and Toxoplasma gondii. Trends in parasitology* 21 (12), 558-561.



- Thilsted, J.P., Dubey, J.P. (1989). *Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle*. J Vet Diagn Invest. 1(3): 205-209.
- Valenzuela P. *Neosporosis en bovinos y caninos. Monografías Electrónica de Patología Veterinaria*. (2005) Vol.:2(1): Págs.: 17-33.
- Valerde, E. (2007) *Epidemiología de la Neosporosis en los rumiantes (Monografía de grado)* Universidad de Cuenca: Págs. 29, 30, - 32.
- Vargas, J. J., & Cortés, J. A. (2001). *Neospora caninum, ¿Una Zoonosis Potencial?* Rev. Salud Pública (Vol. 3). Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v3n1/v3n1a07.pdf>
- Williams DJ, Guy CS, McGarry JW, Guy F, Tasker L, Smith RF, MacEachern K, Cripps PJ, Kelly DF, Trees AJ, (2000). *Neospora caninum-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival*. Parasitology 121 (Pt 4), 347-358.
- Williams, D.J., Davison, H.C., et al. (1999). *Evaluation of a comercial ELISA for detecting serum, antibody to Neospore caninum in cattle*. Vet.Rec.1999; 154:571-575.

ANEXOS

ANEXO 1: Absorbancias de las muestras de ELISA

Tabla 8: Absorbancias de las muestras de ELISA.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,203	0,174	0,204	0,278	0,164	0,178	0,188	0,183	0,230	0,216	0,271	102,15
B	0,251	0,184	0,173	0,225	0,162	2,606	0,255	0,185	0,170	0,212	0,233	755,325
C	1,758	0,192	0,157	0,185	1,267	0,188	0,191	0,185	0,230	0,229	0,203	653,175
D	1,599	0,222	0,191	1,700	0,169	0,219	0,175	0,197	0,179	0,207	0,218	
E	0,195	0,186	0,162	1,423	0,155	0,195	0,184	0,199	0,191	0,171	0,186	
F	0,172	0,201	0,200	0,236	0,589	0,284	0,206	0,176	0,238	0,183		
G	0,179	0,172	0,217	0,234	0,214	1,947	0,177	0,189	0,176	0,188		
H	0,176	0,157	0,231	1,254	1,484	0,199	0,187	0,177	0,167	0,169		

ANEXO 2: Absorbancias calculadas con la fórmula del inserto

Tabla 9: Absorbancias calculadas con la fórmula del inserto

A	-1,653	-3,651	-1,585	3,514	-4,340	-3,376	-2,687	-3,031	0,207	-0,758	3,031
B	1,653	-2,962	-3,720	-0,138	-4,478	163,899	1,929	-2,894	-3,927	-1,033	0,413
C	105,477	-2,411	-4,823	-2,894	71,650	-2,687	-2,480	-2,894	0,207	0,138	-1,653
D	94,523	-0,344	-2,480	101,481	-3,996	-0,551	-3,583	-2,067	-3,307	-1,378	-0,620
E	-2,205	-2,825	-4,478	82,398	-4,960	-2,205	-2,962	-1,929	-2,480	-3,858	-2,825
F	-3,789	-1,791	-1,860	0,620	24,940	3,927	-1,447	-3,514	0,758	-3,031	
G	-3,307	-3,789	-1,860	0,482	-0,896	118,498	-3,445	-2,618	-3,514	-2,687	
H	-3,514	-4,823	-1,860	70,754	86,600	-1,929	-2,756	-3,445	-4,134	-3,996	

Tabla 10: Absorbancias calculadas con la fórmula del inserto

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,203	0,174	0,204	0,278	0,164	0,178	0,188	0,183	0,230	0,216	0,271	102,15
B	0,251	0,184	0,173	0,225	0,162	2,606	0,255	0,185	0,170	0,212	0,233	755,325
C	1,758	0,192	0,157	0,185	1,267	0,188	0,191	0,185	0,230	0,229	0,203	653,175
D	1,599	0,222	0,191	1,700	0,169	0,219	0,175	0,197	0,179	0,207	0,218	
E	0,195	0,186	0,162	1,423	0,155	0,195	0,184	0,199	0,191	0,171	0,186	
F	0,172	0,201	0,200	0,236	0,589	0,284	0,206	0,176	0,238	0,183		
G	0,179	0,172	0,217	0,234	0,214	1,947	0,177	0,189	0,176	0,188		
H	0,176	0,157	0,231	1,254	1,484	0,199	0,187	0,177	0,167	0,169		



ANEXO 3: Validación de muestras según inserto IDEXX de *Neospora caninum*

Tabla 11: Validación de muestras según inserto IDEXX de *Neospora caninum*

N° Muestra	Densidad Óptica	M/P %	Resultado
1	0,195	-2,205	Negativo
2	0,172	-3,789	Negativo
3	0,179	-3,307	Negativo
4	0,176	-3,514	Negativo
5	0,174	-3,651	Negativo
6	0,184	-2,962	Negativo
7	0,192	-2,411	Negativo
8	0,222	-0,344	Negativo
9	0,186	-2,825	Negativo
10	0,201	-1,791	Negativo
11	0,172	-3,789	Negativo
12	0,157	-4,823	Negativo
13	0,204	-1,585	Negativo
14	0,173	-3,720	Negativo
15	0,157	-4,823	Negativo
16	0,191	-2,480	Negativo
17	0,162	-4,478	Negativo
18	0,200	-1,860	Negativo
19	0,217	-0,689	Negativo
20	0,231	0,276	Negativo
21	0,278	3,514	Negativo
22	0,225	-0,138	Negativo
23	0,185	-2,894	Negativo
24	1,700	101,481	Positivo
25	1,423	82,398	Positivo
26	0,236	0,620	Negativo
27	0,234	0,482	Negativo
28	1,254	70,754	Positivo



29	0,164	-4,340	Negativo
30	0,162	-4,478	Negativo
31	1,267	71,650	Positivo
32	0,169	-3,996	Negativo
33	0,155	-4,960	Negativo
34	0,589	24,940	Negativo
35	0,214	-0,896	Negativo
36	1,484	86,600	Positivo
37	0,178	-3,376	Negativo
38	2,606	163,899	Positivo
39	0,188	-2,687	Negativo
40	0,219	-0,551	Negativo
41	0,195	-2,205	Negativo
42	0,284	3,927	Negativo
43	1,947	118,498	Positivo
44	0,199	-1,929	Negativo
45	0,188	-2,687	Negativo
46	0,255	1,929	Negativo
47	0,191	-2,480	Negativo
48	0,175	-3,583	Negativo
49	0,184	-2,962	Negativo
50	0,206	-1,447	Negativo
51	0,177	-3,445	Negativo
52	0,187	-2,756	Negativo
53	0,183	-3,031	Negativo
54	0,185	-2,894	Negativo
55	0,185	-2,894	Negativo
56	0,197	-2,067	Negativo
57	0,199	-1,929	Negativo
58	0,176	-3,514	Negativo
59	0,189	-2,618	Negativo
60	0,177	-3,445	Negativo
61	0,230	0,207	Negativo



62	0,170	-3,927	Negativo
63	0,230	0,207	Negativo
64	0,179	-3,307	Negativo
65	0,191	-2,480	Negativo
66	0,238	0,758	Negativo
67	0,176	-3,514	Negativo
68	0,167	-4,134	Negativo
69	0,216	-0,758	Negativo
70	0,212	-1,033	Negativo
71	0,229	0,138	Negativo
72	0,207	-1,378	Negativo
73	0,171	-3,858	Negativo
74	0,183	-3,031	Negativo
75	0,188	-2,687	Negativo
76	0,169	-3,996	Negativo
77	0,271	3,031	Negativo
78	0,233	0,413	Negativo
79	0,203	-1,653	Negativo
80	0,218	-0,620	Negativo
81	0,186	-2,825	Negativo

ANEXO 4: Base de datos de toda la población analizada, según sexo y edad

Tabla 12: Base de datos de toda la población analizada, según sexo y edad

	Nombre	dx	sexo	edad
1	susi	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
2	fiorela	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
3	dora	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
4	dora	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
5	paty	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
6	mily	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
7	paola	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
8	andrea	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
9	luna	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
10	jinez	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
11	dina	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
12	sofia	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
13	pilar	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
14	teo	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
15	sara	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
16	thalia	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
17	reveca	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
18	yen	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
19	blady	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
20	nely	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
21	gloria	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
22	sole	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
23	ivon	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
24	ovejita	positivo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
25	niko	positivo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
26	neri	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
27	suki	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
28	keyko	positivo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS



29	ceniza	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
30	barbara	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
31	negra	positivo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
32	gringo	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
33	karla	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
34	bella	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
35	paty	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
36	fany	positivo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
37	sonriza	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
38	katy	positivo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
39	gorda	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
40	yosep	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
41	pata	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
42	sonriso	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
43	ciega	positivo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
44	pepe	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
45	candy	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
46	pepe	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
47	clara	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
48	lola	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
49	luly	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
50	susi	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
51	kelly	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
52	celene	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
53	coqui	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
54	lupe	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
55	pilar	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
56	yudy	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
57	rous	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
58	karo	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
59	daylin	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
60	estrella	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
61	lola	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS



62	tika	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
63	luna	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
64	nora	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
65	jose	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
66	chola	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
67	flaca	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
68	ana	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
69	blanca	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
70	niko	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
71	karin	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
72	nicolasa	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
73	bety	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
74	dina	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
75	eriko	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
76	nely	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
77	erika	negativo	HEMBRA	MENOR A DOS AÑOS
78	lola	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
79	rinca	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS
80	liso	negativo	MACHO	MENOR A DOS AÑOS
81	clara	negativo	HEMBRA	MAYOR A DOS AÑOS



ANEXO 5: Base de datos de todas las hembras analizadas, según estado productivo y reproductivo

Tabla 13: Base de datos de todas las hembras analizadas, según estado productivo y reproductivo

	nombre	dx	edad	estado reproductivo	estado productivo
1	susi	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
2	fiorela	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
3	dora	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
4	dora	negativo	menores a dos años	vacía	seca
5	paty	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
6	mily	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
7	paola	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
8	andrea	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
9	luna	negativo	mayores a dos años	vacía	seca
10	dina	negativo	menores a dos años	vacía	seca
11	sofia	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
12	pilar	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
13	teo	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
14	sara	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
15	thalia	negativo	menores a dos años	vacía	seca
16	reveca	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
17	nely	negativo	menores a dos años	vacía	seca
18	gloria	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
19	ivon	negativo	menores a dos años	vacía	seca
20	ovejita	positivo	menores a dos años	vacía	seca
21	neri	negativo	mayores a dos años	vacía	seca
22	suki	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
23	keyko	positivo	mayores a dos años	vacía	producción
24	ceniza	negativo	mayores a dos años	preñada	seca



25	barbara	negativo	menores a dos años	vacía	seca
26	negra	positivo	mayores a dos años	preñada	seca
27	karla	negativo	mayores a dos años	vacía	seca
28	bella	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
29	paty	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
30	fany	positivo	mayores a dos años	vacía	producción
31	sonriza	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
32	katy	positivo	menores a dos años	vacía	seca
33	gorda	negativo	menores a dos años	vacía	seca
34	pata	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
35	ciega	positivo	mayores a dos años	preñada	seca
36	candy	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
37	clara	negativo	menores a dos años	vacía	seca
38	lola	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
39	luly	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
40	susi	negativo	menores a dos años	vacía	seca
41	kelly	negativo	menores a dos años	vacía	seca
42	celene	negativo	menores a dos años	vacía	seca
43	lupe	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
44	pilar	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
45	yudy	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
46	rous	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
47	daylin	negativo	menores a dos años	vacía	seca
48	estrella	negativo	menores a dos años	vacía	seca
49	lola	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
50	tika	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
51	luna	negativo	menores a dos años	vacía	seca
52	nora	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
53	chola	negativo	menores a dos años	vacía	seca
54	flaca	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
55	ana	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
56	blanca	negativo	menores a dos años	vacía	seca
57	karin	negativo	menores a dos años	vacía	seca



58	nicolasa	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
59	bety	negativo	mayores a dos años	vacía	producción
60	dina	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
61	nely	negativo	mayores a dos años	vacía	seca
62	erika	negativo	menores a dos años	vacía	seca
63	lola	negativo	mayores a dos años	preñada	seca
64	rinca	negativo	mayores a dos años	vacía	seca
65	clara	negativo	mayores a dos años	vacía	producción



ANEXO 6: Resultados de prueba de Chi-cuadrado según edad

	Menor 2 años	Mayor 2 años
+	3	4
-	33	41

Total positivos 7

Total muestras analizadas 81

PREVALENCIA (P) =			8,642
Edad	Número Total	Positivos	Porcentaje
menor a 2a	36	3	8,333
mayor a 2a	45	4	8,889
total	81	7	

Chi-calculado es igual a 0.0078185, valor p=0.9295.

edad	Número total	negativos	porcentaje	% Total
menor a 2a	36	33	91,67	100,00
mayor a 2a	45	41	91,11	100,00
total	81	74		

Pearson's Chi-squared test

data: .Table

X-squared = 0.0078185, df = 1, p-value = 0.9295



ANEXO 7: Resultados de prueba de Chi-cuadrado según sexo

	MACHO	HEMBRA
+	1	6
-	15	59

Total positivos 7

Total muestras analizadas 81

PREVALENCIA (P) =	8,642
--------------------------	--------------

sexo	Número Total	Positivos	Porcentaje
machos	16	1	6,25
hembras	65	6	9,23
total	81	7	

Chi-calculado es igual a 0.14449, valor p=0.7039.

sexo	Número total	negativo	porcentaje	% Total
machos	16	15	93,750	100,00
hembras	65	59	90,769	100,00
total	81	74		

Pearson's Chi-squared test

data: .Table

X-squared = 0.14449, df = 1, p-value = 0.7039



ANEXO 8: Resultados de prueba de Chi-cuadrado según estado reproductivo

	VACIAS	PREÑADAS
+	4	2
-	16	43

Total positivos 6

Total muestras analizadas 65

PREVALENCIA (P) =			9,231
reproducción	número total	positivos	porcentaje
vacías	20	4	20,000
preñadas	45	2	4,444
total	65	6	

Chi-calculado es igual a 0.04553, valor p=3.9987.

reproducción	número total	negativo	porcentaje	% Total
vacías	20	16	80	100,00
preñadas	45	43	95,56	100,00
total	65	59		

Pearson's Chi-squared test

data: .Table

X-squared = 3.9987, df = 1, p-value = 0.04553



ANEXO 9: Resultados de prueba de Chi-cuadrado según estado productivo

	PRODUCCION	SECA
+	2	4
-	20	39

Total positivos 6

Total muestras analizados 65

PREVALENCIA (P) =	9,231
--------------------------	--------------

Producción	Número Total	Positivos	Porcentaje
producción	22	2	9,09
seca	43	4	9,30
total	65	6	

Chi-calculado es igual a 0.00077639, valor p=0.7039.

producción	Número total	negativos	porcentaje	% Total
producción	22	20	90,9090909	100,00
seca	43	39	90,6976744	100,00
total	65	59		

Pearson's Chi-squared test

data: .Table

X-squared = 0.00077639, df = 1, p-value = 0.9778

ANEXO 10: Distribución general de la población analizada

REGION: PUNO PROVINCIA: NEAYOKHA, DISTRITO: I. Iave

LUGAR: Asociacion:

A	—	1 PATY VP	1 PILAR PP	1 GLORIA PS	2 CENIZA PS	3 SOMRIZA PP	3 CANDY PS	5 COQUI ♂	7 LOLA PP	10 BLONCA ♀	11 ERIKA ♀		
B	—	1 MILY VP	1 TEO PP	1 SOLE ♂	2 BABACA ♀	3 KATY ♀	4 PEPE ♂	5 LUPE VS	7 TIKA PP	10 NIKO ♂	11 LOLA PS		
C	+	1 PAOLA VP	1 SARA PS	1 IVON ♀	2 NEGRA PS	3 GORZA ♀	4 CLARA ♀	5 PILAR VS	7 LORA ♀	10 KARIN ♀	11 RINCA VS		
D	+	1 ANDREA PS	1 THALIA ♀	2 OUEJITA ♀	2 GRINGO ♂	3 YOSEP ♂	4 LOLA PS	6 YUDY BS	7 NORA PS	10 NICOLASA VP	11 LISO ♀		
E	1 SUSI VP	1 LONA VS	1 REVECA PS	2 NIKO ♂	2 KARLA VS	3 PATA VP	4 LULY PS	6 ROUS VP	8 JOSÉ ♂	10 BETY PP	11 CLARA VP		
F	1 FIORELA VP	1 JINEZ ♂	1 YEN ♂	2 NEZI VS	2 BELLA PP	3 SOMRISO ♂	5 SOSI ♀	6 KARO ♂	8 CHOLA ♀	11 DINA PS			
G	1 DORA VP	1 DINA ♀	1 BLADY ♂	2 SUKI PS	3 PATY PP	3 CIEGA PS	5 KELLY ♀	6 DAYLIN ♀	9 FLACA PP	11 ERIKO ♀			
H	1 DORA ♀	1 SOFIA PS	1 NELY ♀	2 KEYKO PP	3 FANY VP	3 PEPE ♂	5 CELENE ♀	6 ESTRELLA ♀	9 ANA PP	11 NELY VS			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Figura 1. Distribución general de la población analizada

Tabla 14: Distribución general de la población analizada

NEOSPORA CANINUM - IL.AVE											
		PATY/VP	PILAR/PP	GLORIA/PS	CENIZA/PS	SONRIZA/PP	CANDY/PS	COQUI/M	LOLA/PP	BLANCA/H	ERIKA/H
A	-										
B	-	MILY/VP	TEO/PP	SOLE/H	BARBARA/H	KATY/H	PEPE/M	LUPE/VS	TIKA/PP	NIKO/M	LOLA/PS
C	+	PAOLA/VP	SARA/PS	IVON/H	NEGRA/PS	GORDA/H	CLARA/H	PILAR/VS	LUNA/H	KARIN/H	RINCA/VS
D	+	ANDREA/PS	THALIA/H	OVEJITA/H	GRINGO/M	YOSEP/M	LOLA/PS	YUDI/VS	NORA/PS	NICOLASA/VP	LISO/M
E	SUSI/VP	LUNA/VS	REVECA/PS	NIKO/M	CARLA/VS	PATA/UP	LULI/PS	ROUS/VP	JOSE/M	BETY/PP	CLARA/VP
F	IORELA/VP	JINEZ/M	YEN/M	NERY/VS	BELLA/PP	SONRISO/M	SUSI/H	KARO/M	CHOLA/H	DINA/PS	
G	DORA/VP	DINA/H	BLADY/M	SUKI/PS	PATY/PP	CIEGA/PS	KELLY/H	DAYLIN/H	FLACA/PP	ERIKO/M	
H	DORA/H	SOFIA/PS	NELY/H	KEYKO/PP	FANY/VP	PEPE/M	SELENE/H	ESTRELLA/H	ANA/PP	NELY/VS	
1		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

ANEXO 11: Evidencia fotográfica



Figura 2. Toma de muestra en la vena yugular



Figura 3. Colocación de tubos Vacutainer a la centrifugadora en posición inclinada

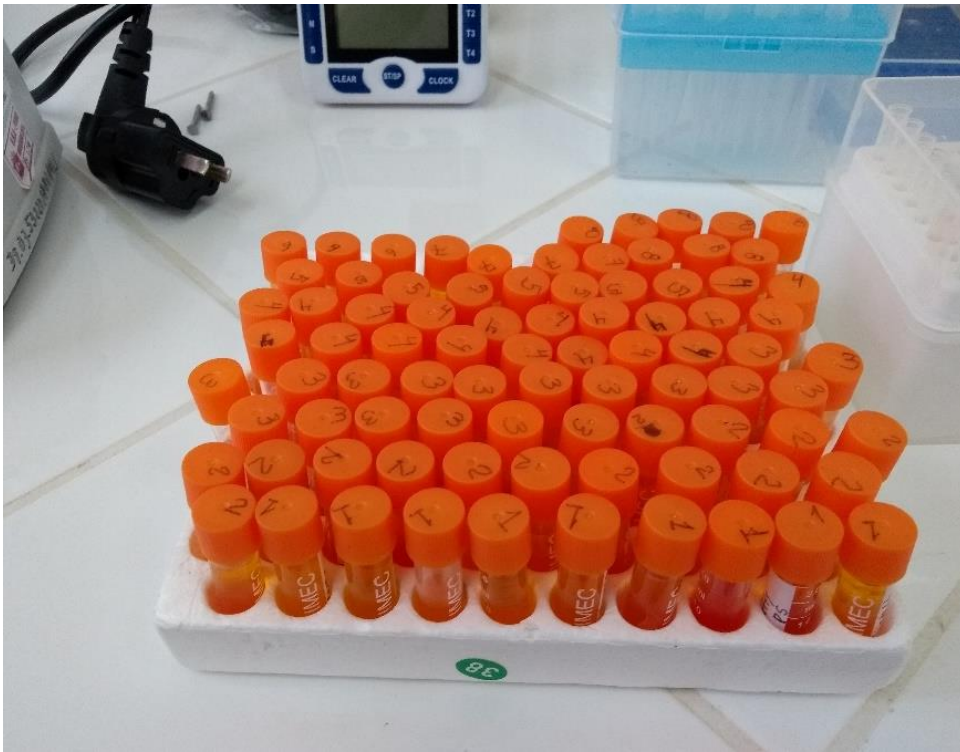


Figura 4. Muestras de Suero

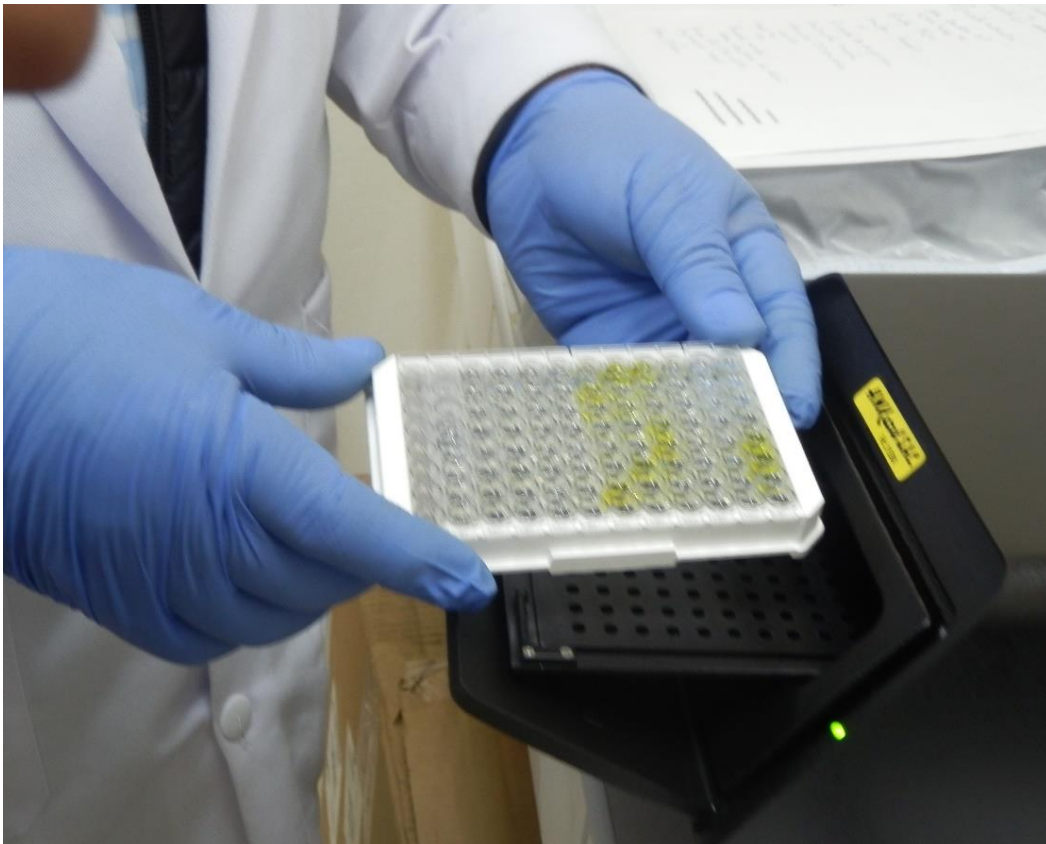


Figura 5. Resultado de la placa tamizada con antígeno

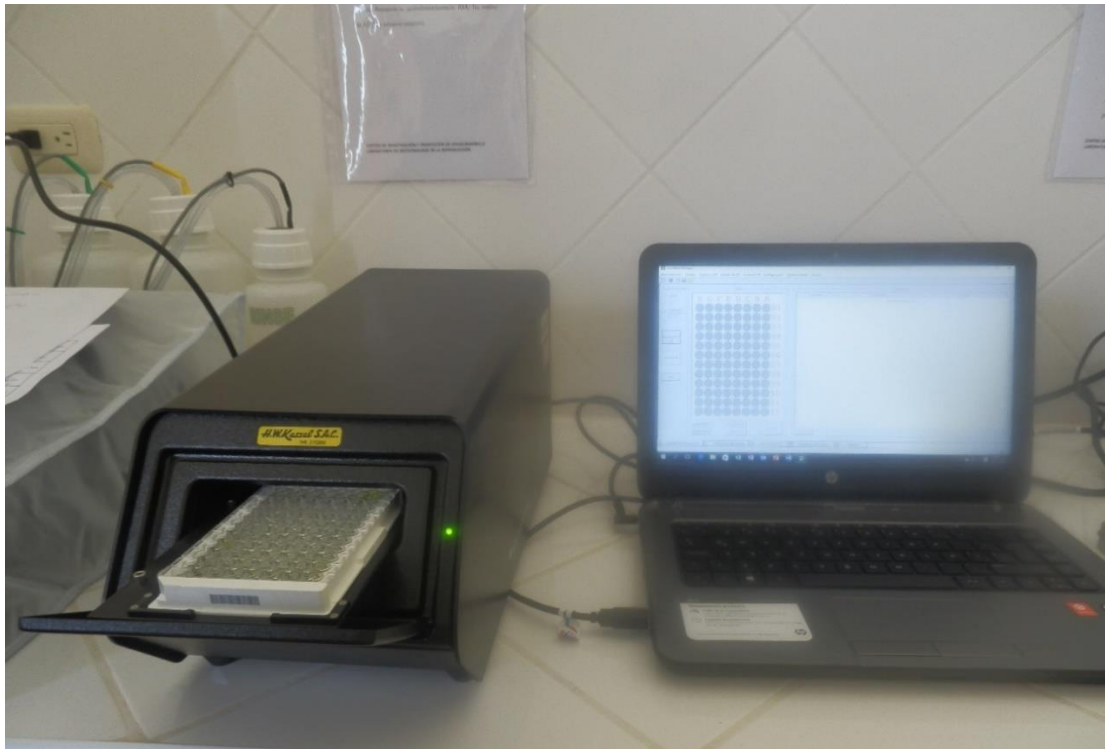


Figura 6. Lectura en ELISA