

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



**“SEROPREVALENCIA DE *Neospora caninum* EN VACUNOS
BROWN SWISS EN LA COMUNIDAD DE HUISACOLLANA-
ESPINAR - CUSCO”**

TESIS

PRESENTADA POR:

ALFREDO FLORENTINO ROJAS QUISPE

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2018

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

**“SEROPREVALENCIA DE *Neospora caninum* EN VACUNOS BROWN SWISS
EN LA COMUNIDAD DE HUISACOLLANA- ESPINAR - CUSCO”**

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. ALFREDO FLORENTINO ROJAS QUISPE

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:



PRESIDENTE:

Dr. MÁXIMO MELO ANCCASI

PRIMER MIEMBRO:

MSc. WILBUR RUBÉN AYMA FLORES

SEGUNDO MIEMBRO:

MSc. OSCAR DAVID OROS BUTRÓN

DIRECTOR / ASESOR:

Dr. JULIO MÁLAGA APAZA

Área : Salud Animal

Tema : Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacuno *Brown swiss*

Fecha de sustentación 28 de diciembre de 2018

DEDICATORIA

A mi madre ALEJANDRINA QUISPE por su comprensión, apoyo, cariño, por todos sus consejos y buen ejemplo que supo inculcarme, y hacerme una persona de bien.

A toda familia ROJAS QUISPE en especial a mi hermano DEMETRIO ROJAS por acompañarme en este largo periplo y darme las fuerzas para seguir, gracias por su comprensión.

A mi director de tesis Dr. JULIO MÁLAGA APAZA y a todos mis docentes, por sus largas horas de enseñanza, apoyo profesional y moral a lo largo de mi formación como Médico Veterinario y Zootecnista

AGRADECIMIENTO

A DIOS, ya que sin su buen guiar no hubiera sido posible el desarrollo de este trabajo.

A los miembros de mi jurado Dr. MÁXIMO MELO ANCCASI, MSc. WILBUR RUBÉN AYMA FLORES, MSc. OSCAR DAVID OROS BUTRÓN. Por estar siempre dispuesto a resolver dudas, aportando sabiduría y orientación en la realización del presente trabajo.

A mis amigos MVZ Ronnie Mask Condori Morales, Carlos Flores y Huildo Abado por su apoyo en el presente trabajo.

A mis docentes de la carrera profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por el tiempo prestado para la revisión de presente trabajo.

A la Universidad Nacional del Altiplano Puno, mi alma mater.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	4
ÍNDICE GENERAL	5
ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	10
RESUMEN.....	11
ABSTRACT.....	12
I. INTRODUCCIÓN.....	13
OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION.....	14
1.1.1. OBJETIVO GENERAL.....	14
1.1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	14
II. REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1. MARCO TEÓRICO.....	15
2.1.1. HISTORIA DE LA NEOSPOROSIS.....	15
2.1.2. GENERALIDADES	15
2.1.3. CICLO BIOLÓGICO.....	18
2.1.4. EPIDEMIOLOGIA	19
2.1.5. FACTORES DE 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	33
2.1.11. TRATAMIENTO.....	39
2.1.12. CONTROL Y PREVENCIÓN.....	39
2.2. ANTECEDENTES.....	41
III. MATERIALES Y MÉTODO	44
3.1 LUGAR DE ESTUDIO.....	44
3.2 MATERIAL DE ESTUDIO	44
3.3 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.	46
3.3.1 MATERIALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS.....	46
3.3.2. MATERIALES PARA ÉL ENVIÓ DE MUESTRAS	46
3.3.3. MATERIALES PARA LA PRUEBA DE ELISA.	46

3.3.4. REACTIVOS	47
3.4. METODOLOGÍA	48
3.4.1. PARA SEROPREVALENCIA DE <i>Neospora caninum</i>	48
3.5. CÁLCULO DE PREVALENCIA	50
3.6. METODOLOGÍA PARA FACTOR DE RIESGO.....	50
3.7. CUESTIONARIO PARA VALIDACIÓN DE LA PRUEBA ELISA	50
3.7.1 VALIDACIÓN DE PRUEBA DE DIAGNÓSTICA	51
3.8. MÉTODO ESTADÍSTICO.....	51
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
4.1. PREVALENCIA DE <i>Neospora caninum</i>	52
4.2. SEGÚN CLASE ANIMAL	53
4.3. SEGÚN SEXO.....	54
4.3. SEGÚN EDAD	55
4.4. SEGÚN ESTADO PRODUCTIVO	56
4.5. IDENTIFICACIÓN DE FACTORES DE RIESGO	57
4.6. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA DE DIAGNÓSTICO.....	58
V. CONCLUSIONES	60
VI. RECOMENDACIONES.....	61
VII. REFERENCIAS	62
ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estadios de <i>Neospora caninum</i>	17
Tabla 2. Distribución de la muestra sexo y edad.	45
Tabla 3. Distribución de muestra según clase y estado productivo.	45
Tabla 4. Tabla dicotómica para validación de prueba.	51
Tabla 5. Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos Brown swiss en la comunidad de Huisacollana– Espinar -Cusco	52
Tabla 6. Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos Brown swiss en la comunidad de Huisacollana– Espinar – Cusco. Según clase animal.	53
Tabla 7. Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos <i>Brown swiss</i> en la comunidad de Huisacollana– Espinar - Cusco. Según sexo animal.	54
Tabla 8. Prevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos <i>Brown swiss</i> en la comunidad de Huisacollana– Espinar – Cusco. Según edad animal.....	55
Tabla 9. Prevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos <i>Brown swiss</i> en la comunidad de Huisacollana – Espinar – Cusco. Según estado productivo.....	56
Tabla 10. Identificación de factores de riesgo para la ocurrencia de la Neosporosis....	57
Tabla 11. Relación entre test ELISA y aborto, en vacunos <i>Brown swiss</i> de comunidad de Huisacollana – Espinar -Cusco	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos <i>Brown swiss</i> en la comunidad de Huisacollana– Espinar -Cusco.	87
Figura 2. Prevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos <i>Brown swiss</i> en la comunidad de Huisacollana– Espinar -Cusco. Según clase animal.....	87
Figura 3. Prevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos <i>Brown swiss</i> en la comunidad de Huisacollana– Espinar -Cusco. Según sexo animal.	88
Figura 4. Prevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos <i>Brown swiss</i> en la comunidad de Huisacollana– Espinar -Cusco.Según edad animal.....	88
Figura 5. Prevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos <i>Brown swiss</i> en la comunidad de Huisacollana– Espinar -Cusco.Según estado productivo.....	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Foto 1. Hoja de trabajo para elisa indirecta	76
Foto 2. Resultados laboratorio veterinario del sur	78
Foto 3. Lugar de recolección de muestras	90
Foto 4. Extracción de muestra sanguínea	90
Foto 5. Rotulado de muestras sanguíneas	90
Foto 6. Centrifugar muestras sanguineas.....	91
Foto 7. Extracción de suero y conservación de muestras para envío a lavetsur	91
Foto 8. Recepción de muestras al laboratorio	92
Foto 9. Reactivos para la realización del análisis laboratorio.	93
Foto 10. Colocación de las muestras al equipo laboratorio.....	93

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

FMVZ = Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

C/P = Con producción

S/P = Sin Producción

ELISA = Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas

UNA = Universidad Nacional del Altiplano

T.M. = Toneladas métricas

RIA = Radio inmunoensayo

Nm = Nanómetros

Ig G = Inmunoglobulinas G

IL-12: Interleucinas 12

Ig M = Inmunoglobulinas M

μL = Microlitros

mL = Mililitro

ADN = Ácido desoxirribonucleico

IB: Inmunoblot

IFI: Inmunofluorescencia indirecta

IHQ: Inmunohistoquímica

OD: Densidad Óptica

SNC: Sistema nervioso central

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

vDVB : Virus de la diarrea viral bovina

LABVETSUR: Laboratorio veterinario de Sur

IRPC: Índice Relativo x 100

RESUMEN

La Neosporosis es una enfermedad parasitaria causada por *Neospora caninum*, y asociada con altas tasas de aborto en vacunos. El objetivo fue determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos *Brown swiss* de la comunidad de Huisacollana, según clase, sexo, edad y estado productivo (producción y seca), e identificar factores de riesgo para la presentación de la enfermedad. Se utilizaron 119 animales, de los cuales se obtuvieron sangre de la vena coccígea en tubos vacutainer y el suero se trasvasó a los viales; los que se trasladó a LABVETSUR - Arequipa, donde se analizaron por Inmunoadsorción Ligada a Enzima (ELISA). La seroprevalencia de *Neospora caninum* fue de 4.71 % en 119 animales. Según clase, la ternera, vaquilla y vacas mostraron prevalencias de 5.56 %, 11.11 % y 5.81 %, respectivamente ($P \geq 0.05$). Los machos no mostraron seropositividad, mientras las hembras mostraron 5.82%. Los animales menores a dos años mostraron 4.88% (2/41) y los animales mayores de 2 años 5.13 % (4/78). Las vacas en producción mostraron 7.84 % (4/51), y vacas en seca (0/18) ($P \geq 0.05$). Los factores de riesgo identificados fueron: la tenencia de caninos por los criadores, consumo de placenta de vacas postparturientas por los caninos, adquisición de animales sin evaluación serológico o cuarentena. En la validación del test de seroprevalencia (test ELISA y aborto), resultó Sensibilidad 60%, Especificidad 98.6%, Falsos (-) 2.78%, Falsos (+) 25%, y para los Valores Predictos al Test (+) 75%, Valores Predictos al Test (-) 98.59%, Prevalencia real 3.95 % y prevalencia aparente 5.26 %.

Palabras Clave: ELISA, *Neospora*, Seroprevalencia, Vacunos.

ABSTRACT

Neosporosis is a parasitic disease caused by *Neospora caninum*, and associated with high rates of abortion in cattle. The objective was to determine the seroprevalence of *Neospora caninum* in *Brown swiss* cattle of the Huisacollana community, according to class, sex, age and productive status (production and dry), and to identify risk factors for the presentation of the disease. 119 animals were used, from which blood was obtained from the coccygeal vein in vacutainer tubes and the serum was transferred to the vials; those who moved to LABVETSUR - Arequipa, where they were analyzed by Immunoabsorption Linked to Enzyme (ELISA). The seroprevalence of *Neospora caninum* was 4.71% in 119 animals. According to class, calf, heifer and cows showed prevalences of 5.56%, 11.11% and 5.81%, respectively ($P \geq 0.05$). The males did not show seropositivity, while the females showed 5.82%. The animals under two years showed 4.88% (2/41) and the animals older than 2 years 5.13% (4/78). The cows in production showed 7.84% (4/51), and dry cows (0/18) ($P \geq 0.05$). The identified risk factors were: the possession of canines by the breeders, placental consumption of postparturient cows by the canines, acquisition of animals without serological or quarantine evaluation. In the validation of the seroprevalence test (ELISA test and abortion), Sensitivity 60%, Specificity 98.6%, False (-) 2.78%, False (+) 25%, and for the Test Predicted Values (+) 75%, Predicted Values to the Test (-) 98.59%, Actual Prevalence 3.95% and Apparent Prevalence 5.26%.

Keywords: ELISA, *Neospora*, Seroprevalence, Cattle.

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 *N. 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, es el 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 (Dubey, 1999; Schares *et al.*, 1998). La única forma de transmisión reconocida en bovinos es la vertical de madre a cría, vía trasplacentaria. La transmisión horizontal en cambio, es frecuente en caninos (Bergeron *et al.*, 2000).

Estudios iniciales en nuestro país indican que los problemas reproductivos, entre los que destacan los abortos, son frecuentes en algunos hatos lecheros del valle de Lima y que *Neospora caninum* se encuentra presente en el 62% de vacas que abortan (Rivera *et al.*, 2014).

La neosporosis, enfermedad producida por *Neospora caninum*, es causa de aborto en hatos lecheros a nivel mundial (Anderson *et al.*, 2000; Dubey *et al.*, 2003) y por lo tanto genera pérdidas económicas directas, como también costos indirectos asociados a

la asesoría veterinaria para establecer un diagnóstico, la repetición de la inseminación o cruza, aumento del tiempo de lactancia, pérdidas de producción láctea y los costos de reemplazo en los casos de eliminación de las vacas (Barr *et al.*, 1997)

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).

Estudios recientes indican que el *N. 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 INVESTIGACION

1.1.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos de la raza *Brown swiss* de la comunidad de Huisacollana,

1.1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos de la raza *Brown swiss* según clase animal, sexo, edad y estado productivo (producción y seca).

Identificar factores de riesgo para la presentación de la Neosporosis en vacunos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. HISTORIA DE LA NEOSPOROSIS

Esta enfermedad esta difundida por los cinco continentes. Es ocasionada por un protozoo denominado *Neospora caninum* y es una afección que causa importantes pérdidas económicas en explotaciones lecheras y de carne (Perera, 2015).

El agente causal de la Neosporosis bovina, es un parasito intracelular descrito por primera vez en los cachorros de un perro que presentaron parálisis y muerte temprana en Noruega (Bjerkås *et al.*, 1984). Se denominó Neospora por ser un nuevo género de coccidia identificado y caninum por del perro el primer hospedador del cual se caracterizó y se aisló (Dubey *et al.*, 1988).

Con respecto al ganado bovino el parasito se identificó por primera vez en el ganado lechero con problemas de aborto en los estados unidos (Thilsted & Dubey, 1989). En 1989 se identificó el feto abortado de un bovino y el 1993 se lo aísla en cultivos en vitro (Echaide, 2000).

2.1.2. GENERALIDADES

a) ETIOLOGÍA

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 (Cordero del Campillo & Vázquez, 1999), también afecta a las principales especies de ganado doméstico, animales de compañía y a algunos animales salvajes (Radostits & Arundel, 2002).

b) TAXONOMIA

Neospora caninum pertenece al:

- Reino Protista
- Subreino Protozoo
- Phylum Apicomplexa
- Clase Esporozoa
- Orden Eucoccidia
- Suborden Eimeriina
- Familia Sarcocystidae
- Genero Neospora
- Especie Caninum

Fuente. (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. Los taquizoitos se dividen por endodiogénesis en forma rápida, miden aproximadamente 7,5 μm aprox. (3-7 μm) de longitud, (1- 5 μm) de ancho, tiene entre 6-16 roptries y en algunos casos presentaron entre 4-6 roptries localizados posterior al núcleo, raramente se observa un microporo. Son de forma ovoide, semilunar o globosa (Anderson *et al.*, 2000).

c.2. BRADIZOITOS

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

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).

- 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)

- OOQUISTES ESPORULADOS

Los ooquistes no esporulados luego de tres días en el medio ambiente desarrollan dos esporo-quistes con cuatro esporozoitos cada uno morfológicamente similar a los ooquistes de *T. gondii* y *Hammondia* en perro, los estados enteroepiteliales en el perro no han sido descritos hasta el presente (Paz, 2005).

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 (Martinez *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 intermediario 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 & Vázquez, 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 nerviosos (Fisher & McGarry, 2007)

En humanos no existen antecedentes de infección con este parásito (Schaes *et al.*, 1998). Sin embargo, existe la posibilidad que sea subdiagnosticado como toxoplasmosis (Barr *et al.*, 1997). 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 ASEJUAL

El Taquizoíto; forma infectiva y bradizoítos de forma latente. La neospora es un endoparásito ya que se encuentra ubicado en el intestino tanto de 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. EPIDEMIOLOGIA

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 una 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.*, 2005).

El primer reporte de *Neospora caninum* en bovinos, lo realizaron Thilsted y Dubey 1989, en cerebro de fetos de bovinos abortados, de vacas de nuevo México. Sin embargo, el diagnóstico fue confirmado por Lindsay y Dubey (1989) quienes identificaron al parásito en tejido bovino (Oviedo *et al.*, 2007)

Adicionalmente, existen diferentes estudios en los cuales se ha encontrado serología positiva a *N. caninum* en animales salvajes, incluyendo el zorro rojo y gris, el zorro de Chiloé y el león (Dubey, 2003), como también en animales marinos (Dubey *et al.*, 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 (Lindsay *et al.*, 1993).

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 DE PREDISPONENTES

a) EDAD

Como factor de riesgo, hay referencias que a medida que aumenta la edad, la incidencia de abortos se incrementa pudiendo ocurrir desde tres meses hasta el término de la gestación; las vaquillonas con infección congénita tienen alto riesgo de aborto de 3 a 7 veces más que vacas seronegativas existiendo una mayor predisposición en novillas (Fredes & Fernando, 2000).

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 (Pare *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.*, 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, 1999).

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 *N. caninum* 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 *et al.*, 2003).

Los estudios epidemiológicos indican que la presencia de perros en los hatos es un factor de riesgo para la ocurrencia de abortos por *Neospora caninum* en vacas y el riesgo aumenta cuando existen de tres a más perros (Puray *et al.*, 2006).

c) 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 (Sanchez, 2008).

d) ANIMALES ADQUIRIDOS

En los rodeos seronegativos existe un mayor riesgo de infección cuando se utilizan para reposición vaquillonas de compra (Schaes *et al.*, 2003). 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).

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)

e) ALIMENTACIÓN

Las diferentes prácticas de manejo nutricional, como el traslado de los rodeos 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)

El efecto de la alimentación forrajera de calidad inferior puede suponer un impacto negativo por la presentación de hongos en el sistema inmunológico del ganado. El forraje remanente puede contener una mayor proporción de contaminación como heces de los perros que son los hospedadores definitivos del parásito (Dubey *et al.*, 2007).

f) 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 posnatal (Bartels *et al.*, 1999). 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).

g) RAZA

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 Boxers están bien representados, pero estas son razas muy populares (Barber, 1998). No se conoce si existe una mayor susceptibilidad por raza o sexo. Sólo se tiene el antecedente de que la mayoría de los casos se han descrito en Labradores, Boxers, Greyhounds, Golden Retriever y Basset Hounds (Barr *et al.*, 1997).

h) 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.*, 1997).

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 DVB (Bjerkås *et al.*, 1984).

2.1.6. PATOGÉNESIS

a) TRANSMISIÓN EN PERROS

Estos animales adquieren la infección al consumir tejidos con quistes tisulares de hospedadores intermediarios, y posteriormente liberarán ooquistes al medio ambiente a través de las heces (Perera, 2015).

Los caninos que consumen los 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 de esta forma la infección verticalmente

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 o congénita (endógena) y horizontal (exógena). En la primera, 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 segunda, 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 (Barber, 1998)

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 (Jimenez & Zambrano, 2011)

La transmisión de madre a hija fue sugerida como la principal vía por varios autores. (Bergeron *et al.*, 2000), demostraron que *N. 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.

Desde el punto de vista del origen de la infección transplacentaria, se han descrito dos modos de transmisión, la exógena y la endógena (Barber & Trees, 1998). 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 (Williams & Trees, 2006).

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 (Dijkstra *et al.*, 2002).

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 *et al.*, 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.*, 1994).

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. 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 (Barr *et al.*, 1997).

2.1.9. INMUNIDAD

N. 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).

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 terneros 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 descritos 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 avidéz 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).

a) INMUNOBLOT (IB)

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. 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 IFI

Diferentes estudios realizados en distintas especies animales han demostrado que esta técnica presenta una muy baja reactividad cruzada con otros parásitos coccidiales. Por esto IFI es utilizada frecuentemente como prueba serológica de referencia para la detección de anticuerpos contra *N. 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 *N. 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, estos resultados deberían interpretarse con cautela, ya que la fluorescencia apical también puede aparecer como resultado de reacciones cruzadas con *T. gondii*, *Eimeria spp* y *N. caninum*, ya que contienen epítomos comunes asociados al complejo apical (Sasai; 1998).

c) MICROAGLUTINACIÓN

La 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. Aunque la técnica descrita por

Romand destruye la Ig M por utilización del 2 – mercaptoetanol, la temprana aparición de la Ig G en la neosporosis bovina permite la utilización de esta prueba en el diagnóstico serológico (Moore *et al.*, 2005).

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 (Jara *et al.*, 2011). 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.

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 (OD), valores Porcentuales de Positividad (PP), o valores de cociente entre Muestra/Control Positivo (S/P) (Bartels *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 (Bartels *et al.*, 2006).

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)

e) DIAGNÓSTICO NO SEROLÓGICO

e.1. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

La técnica de PCR ha sido notable, permitiendo esclarecer ciertos aspectos epidemiológicos. Debido a la alta eficiencia que tiene *N. caninum* para transmitirse en forma vertical, los resultados positivos por IHQ o PCR deberán estar siempre asociados a problemas reproductivos y utilización de otras técnicas diagnósticas, no sólo para identificar dicho protozoo sino también para descartar otras causas de aborto. El aislamiento de *N. caninum* es difícil y costoso como técnica diagnóstica, se han logrado

aislamientos en regiones ganaderas de todo el mundo (Williams *et al.*, 1999; Moore *et al.*, 2005).

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 (IHQ)

La técnica se lleva a cabo en tejidos fetales conservados en formol al 10% y que posean lesiones compatibles por histopatología con *N. 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 *N. 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 parásito. 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).

2.2. 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 Fac. de Agronomía y Zootecnia UNSAAC, muestran seroprevalencia de 17% (15/88).

III. MATERIALES Y MÉTODO

2.1.1. 3.1 LUGAR DE ESTUDIO

El trabajo de investigación se realizó en comunidad de Huisacollana conformada por los sectores: Quetara, Lequemarca, Chokapito, Lota Kconcha, Chicta, Paucarpata, Pururu, Pinacollo Paucarpata, Inapi, Orpaya, Hullatira riego, Cañon de Pururú y Acuani; perteneciente a la provincia de Espinar-Cusco. El ámbito se encuentra a una Latitud Sur: 14° 49' 35" y Longitud Oeste: 71° 24' 0.5" Altitud: 3932 msnm. (SENAMHI, 1998). Las muestras fueron remitidas al Laboratorio Veterinario del Sur (LABVETSUR), con dirección en Av. Alfonso Ugarte N 500-A (Arequipa-Perú).

2.1.2. 3.2 MATERIAL DE ESTUDIO

Tamaño de muestra se determinó mediante el método de muestreo al azar estratificado, considerando 9.1 % de la enfermedad en estudios anteriores en vacas con un nivel de confianza de 95 % y un error de precisión de 5 %, mediante la siguiente fórmula (Miranda, 1987).

a) CÁLCULO DE LA MUESTRA INICIAL

$$n_i = \frac{Z^2(p \times q)}{d^2}$$

$$n_i = \frac{(1.96)^2(0.091 \times 0.909)}{(0.05)^2} \quad n_i = 127.109$$

Donde:

n_i = tamaño inicial de la muestra.

Z^2 = nivel de confianza 95 %.

p = proporción de la población objeto de estudio, prevalencia.

q = complemento (1-p)

d^2 = precisión con la que se generaliza los resultados, margen de error (5%).

La muestra inicial estimada es de 127 animales.

b) CÁLCULO DE LA MUESTRA FINAL

$$n = \frac{n_i}{1 + \frac{n_i}{N}} \quad n = \frac{127}{1 + \frac{127}{1800}} \quad n = 118.71$$

Donde:

n = Tamaño definitivo de la muestra.

n_i =Tamaño inicial de muestra

N = Tamaño de la población: 1800 vacunos de la raza *Brown swiss*.

La muestra final estimada es de 119 animales.

Para el presente estudio se trabajó con una población de 119 vacunos de la raza *Brown swiss* de la comunidad de Huisacollana, aquellos involucrados en el estudio son los vacunos según clase, menores a 2 años, mayores de 2 años, según sexo y en producción y seca.

Tabla 2. Distribución de la muestra sexo y edad.

DISTRIBUCIÓN MUESTREAL			
Según Edad		Según Sexo	
< 2 años	> 2 años	Hembra	Macho
41	78	103	16
119		119	

Tabla 3. Distribución de muestra según clase y estado productivo.

DISTRIBUCIÓN MUESTREAL									
Según clase							Según producción		
Tenera	Vaquilla	Vaquillona	Vaca	ternero	Torete	Toro	Producción	Seca	Excluidos (terneros-toros)
18	09	07	69	07	06	03	51	18	50
119							119		

2.1.3. 3.3 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.

3.3.1 MATERIALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS

- Adaptador para vacutainer, agujas de doble vía.
- Frascos colectores de suero sanguíneo (viales criogénicos) x 2mL
- Tubos vacutainer de 10 mL.
- Algodón.
- Alcohol yodado al 3%.
- Lapiceros de tinta indeleble.
- Pipetas automáticas o manuales.
- Guantes de exploración.

3.3.2. MATERIALES PARA ÉL ENVIÓ DE MUESTRAS

- Cajas térmicas (tecnopor).
- Geles.
- Plástico y papel.

3.3.3. MATERIALES PARA LA PRUEBA DE ELISA.

- Micropipetas de precisión y micropipetas de multi dispensadores.
- Puntas de pipetas desechables.
- Probetas graduadas para la solución de lavado.
- Lector de placas de 96 pocillos (equipo con filtro de 405 nm).
- Lavador de placas, manual semiautomática o automática.
- Bandejas para depósito de reactivos.

- Papel toalla.
- Papel de aluminio.
- Cámara húmeda.
- Incubadora.
- Algodón.
- Agua destilada

3.3.4. REACTIVOS.

- Placa tapizado con antígeno Neospora.
- Control negativo (negativo control ELISA (bovine) 50 uL)
- Control positivo (positivo control ELISA (bovine) 50 uL)
- Conjugado.
- Diluyente de la muestra.
- Substrato TMB.
- Solución de frenado.
- Solución de lavado concentrada (10X).

3.3.5. EQUIPOS

- Estufa incubadora a 37°C
- Balanza analítica
- Refrigeradora convencional.
- Congeladora a -20°C.

- Potenciómetro (pH-metro).
- Cronómetro de tiempo.
- Lector de placas ELISA
- Agitador tipo Vortex
- Micro pipeta canal simple 20 a 200 μ l.
- Micropipeta canal simple 100 a 1000 μ l
- Micro pipetas multicanal 20-200U1

2.1.4. 3.4. METODOLOGÍA

3.4.1. PARA SEROPREVALENCIA DE *Neospora caninum*

a) TOMA DE MUESTRA DE SUERO SANGUÍNEO

Se tomaron aproximadamente 7.0 mL de sangre de la vena coccígea, en tubos al vacío sin anticoagulante (vacutainer) a 119 vacunos, los cuales fueron centrifugados a 2000 rpm/min durante 10 minutos para la extracción del suero, posteriormente los sueros sanguíneos se trasvasaron en viales y se mantuvieron en congelación a -20°C, y se trasladaron al laboratorio veterinario (LABVETSUR) con ubicación Av. Alfonso Ugarte N 500-A (Arequipa-Perú).

b) PROCESAMIENTO DE LA PRUEBA DE ELISA.

1. Las placas fueron tapizadas con antígeno y se anotó la posición de la muestra.
Se separó únicamente los pocillos necesarios para analizar las muestras. Se guardó el resto de los pocillos, junto con el desecante, en la bolsa de plástico de cierre hermético reutilizable y volvió a almacenar a 2-8°C.
2. Se Dispensó 90 μ L de diluyente de muestra en cada pocillo.
3. Se ha dispensado 50 μ L de control positivo (CP).

4. Se dispensó 50 μL de control negativo (CN).
5. Luego se dispertó 50 μL de muestra NO DILUIDA en los pocillos apropiados.
6. Se mezcló el contenido de los pocillos agitando levemente para este procedimiento se usó un agitador de placas.
7. Se cubrió la placa para incubar a 60 minutos ($\pm 5\text{min}$) a $+37^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3^{\circ}\text{C}$).
8. Se eliminó el contenido de líquido de cada pocillo y se lavó pocillo con aproximadamente 300 μl de solución de lavado 3 veces. Evitar que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente. Después del lavado final, se eliminó el fluido de lavado residual de cada placa golpeándolos sobre el material absorbente.
9. Se dispensó 50 μL conjugado en cada pocillo.
10. Se cubrió la placa para encubar durante 20 min. ($\pm 5\text{min.}$) a $+37^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3^{\circ}\text{C}$).
Las placas deben de estar selladas herméticamente e incubo en una cámara húmeda usando cubiertas de placa para evitar evaporación.
11. Se lavó por 3 veces.
12. Se dispensó 50 μL de sustrato TMB en cada pocillo.
13. Se incubó a $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos ($\pm 1\text{min}$).
14. Se ha dispensado 50 μL de solución frenado en cada pocillo.
15. Leer los resultados a una longitud de onda de 405 nm.
16. Validación delo ensayo: si la densidad del control positivo es mayor 0.9 y la relación (control positivo/ control negativo) es mayor a 5.0.

C) INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

$$IRPC = \left(\frac{MUESTRA - Control\ Negativo}{Control\ Positivo - Control\ Negativo} \right) \times 100$$

Fuente: CIVTEST BOVIS NEOSPORA

Valor de IRPC	ESTADO INMUNE FRENTE A <i>Neospora caninum</i>
<30	NEGATIVO
≥30	POSITIVO

2.1.5. 3.5. CÁLCULO DE PREVALENCIA

El Cálculo de la prevalencia fue mediante la siguiente fórmula (Thrusfield 1990 y Wayne *et al.* 1997):

$$Prevalencia (\%) = \frac{\text{Número de animales positivos a la neospora}}{\text{Número total de muestras}} \times 100$$

2.1.6. 3.6. METODOLOGÍA PARA FACTOR DE RIESGO

Para identificar los factores de riesgo se utilizó observación directa en el manejo de los hatos de vacunos de la comunidad de Huisacollana.

2.1.7. 3.7. CUESTIONARIO PARA VALIDACIÓN DE LA PRUEBA ELISA

- Se elaboró preguntas para determinar la relación entre la prueba ELISA y el aborto.
- Se visitó a los criadores ó dueños de los animales seropositivos para hacer la entrevista.
- Se hizo una entrevista a los dueños sobre el comportamiento de las vacas (con presencia de aborto y las que no presentaban aborto).
- Sistematización de los datos.
- Interpretación de validación de prueba diagnóstica (sensibilidad, especificidad, valor predicho al test (+), valor predicho al test (-), falso positivos y falsos negativos).

3.7.1 VALIDACIÓN DE PRUEBA DE DIAGNÓSTICA

Tabla 4. Tabla dicotómica para validación de prueba.

	ENFERMEDAD <i>N. caninum</i>		Total
	Abortaron	No abortaron	
Test (+) ELISA	a	b	a + b
Test (-) ELISA	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	N

$$\text{Sensibilidad} = \frac{a}{a+c} \times 100 \quad \text{Especificidad} = \frac{d}{b+d} \times 100$$

$$\text{Falso (+)} = \frac{b}{a+b} \times 100 \quad \text{Falso (-)} = \frac{c}{c+d} \times 100$$

$$\text{Valor Predicto al Test (+)} = \frac{a}{a+b} \times 100$$

$$\text{Valor Predicto de Test (-)} = \frac{d}{c+d} \times 100$$

2.1.8. 3.8. MÉTODO ESTADÍSTICO

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

$$X_c^2 = \sum_{i=1}^k \sum \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Dónde:

X_c^2 = Valor calculado de Ji cuadrado.

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

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

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1.9. 4.1. PREVALENCIA DE *Neospora caninum*

Tabla 5. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos *Brown swiss* en la comunidad de Huisacollana– Espinar -Cusco

Variable	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Prevalencia	119	6	5.04

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 5, se observa la variable Prevalencia de *Neospora caninum* en vacunos *Brown swiss* de la comunidad de Huisacollana del Distrito de Yauri; se encontró el 5.04 % de prevalencia de la enfermedad en una población de 119 animales. El resultado refleja que la ocurrencia de la enfermedad es baja en la zona estudiada.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, mediante técnica de ELISA indirecta, resultan ser bajos en comparación a (Laura, 2016), quien encontró 9.42% de prevalencia en vacunos del distrito de Taraco, 8.49% de prevalencia para vacunos del Centro Poblado de Progreso; no obstante que, en el Distrito de Cabanillas no se encontró reactores positivos a *Neospora caninum*.

Valores elevados a comparación al presente estudio reporta (Atoccsa *et al.*, 2005) con la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la Provincia de Melgar, 18.10 % de prevalencia, además manifiesta que la edad y procedencia de los animales son factores de riesgo y que la seroprevalencia de *Neospora caninum* está relacionado con la población de canes. Igualmente, (Laura, 2016) 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.

En cuencas lecheras de tipo intensivo se encontraron prevalencias altas en Arequipa 57% (Andresen, 1999), Cajamarca 40% (Cabrera *et al.*, 2000) y Lima 29.6% (M. A. M. Silva & Pimentel, 2017); y en los distritos de Leymebamba y Molinopampa (Amazonas) encontraron una prevalencia de 40.4% (Quevedo *et al.*, 2003). A diferencia, en estudios realizados por (SENASA, 2010) encontraron para dichos departamentos las siguientes prevalencias: Arequipa 48.91% \pm 7.22, Cajamarca 19.59% \pm 3.20, Lima 50.51% \pm 6.96, Puno 6.68% \pm 2.27, Amazonas 17.22% \pm 5.52. Las diferencias podrían deberse al tipo de prueba utilizada (inmunofluorescencia indirecta-IFI, y ELISA indirecto), tipo de manejo de animales, presencia de huésped definitivo.

2.1.10. 4.2. SEGÚN CLASE ANIMAL

Tabla 6. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos *Brown swiss* en la comunidad de Huisacollana– Espinar – Cusco, según clase animal.

CLASE ANIMAL	N	Positivos	Porcentaje
Terneritas	18	1	5.56 %
Vaquillas	09	1	11.11 %
Vaquillonas	07	0	0.0 %
Vacas	69	4	5.81 %
Ternero	07	0	0.0 %
Torete	06	0	0.0 %
Toro	03	0	0.0 %

Fuente: Elaboración propia ($P \geq 0.05$)

Los resultados del presente estudio son inferiores a los estudios realizados por Escalona *et al.*, (2010), quienes indican seroprevalencias para vaquillas (21.8%, 24/110) y vacas (20.8%, 68/327), en concordancia con los resultados presentados también Torres (2006) evaluó 174 sueros sanguíneo en vacas, vaquillonas y terneras con sus respectivas

prevalencias de 44.6, 34.3, 31.2%, donde se observó mayor prevalencia en vacas que en vaquillas.

2.1.11. 4.3. SEGÚN SEXO

Tabla 7. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos *Brown swiss* en la comunidad de Huisacollana– Espinar – Cusco, según sexo animal.

Sexo	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Machos	16	0	0.00
Hembras	103	6	5.82

Fuente: Elaboración propia ($P \geq 0.05$)

Los valores encontrados 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%.

En Arequipa según zonas zoo ecológicas: La campiña, San Isidro, San camilo, Santa Rita, La Cano, Yuramayo, La Joya, El pedregal (Laura, 2016), 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.

Los resultados del presente muestran prevalencias más bajas, que podría deberse a la escasa y esporádica introducción de animales de reemplazo en los hatos de las comunidades, poco contacto con el hospedero definitivo.

2.1.12. 4.3. SEGÚN EDAD

Tabla 8. Prevalencia de *Neospora caninum* en vacunos *Brown swiss* en la comunidad de Huisacollana– Espinar – Cusco, según edad animal.

Edad animal	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
< a 2 años	41	2	4.88
> a 2 años	78	4	5.13

Fuente: Elaboración propia ($P \geq 0.05$)

En la tabla 8, se observa prevalencias inferiores al reporte de Altamirano (2016), quién determina seroprevalencia según grupo etario de bovinos > a 5 años de 6.8% positivos a *N. caninum*, los \leq a 5 años con una prevalencia de 10.2%; además, encontró bovinos positivos de 2, 3 y 4 años cuando el grupo etareo son menores e iguales a 5 años. Comparado con nuestros resultados difiere, lo cual indica que la Neosporosis está presente en todas las edades ó sin distinción de grupo etareo. Y (Quevedo et al., 2003), manifiesta que, la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* tiene una tendencia no significativa a incrementarse con la edad.

2.1.13. 4.4. SEGÚN ESTADO PRODUCTIVO

Tabla 9. Prevalencia de *Neospora caninum* en vacunos *Brown swiss* en la comunidad de Huisacollana – Espinar – Cusco, según estado productivo.

Vacas	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Vacas en Producción	51	4	7.84
Vacas en seca	18	0	0.0

Fuente: Elaboración propia ($P \geq 0.05$)

El resultado de la anterior, muestra una prevalencia de 7.84 % en vacas que está produciendo leche y es inferior a los reportes (Anderson *et al*, 1994) quienes reportaron 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).

Mientras, en Argentina para las provincias de Santa Fé y Córdoba, se registra una seroprevalencia de 24,4% en fetos abortados, 64,5% en bovinos lecheros; 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).

2.1.14. 4.5. IDENTIFICACIÓN DE FACTORES DE RIESGO

Tabla 10. Identificación de factores de riesgo para la ocurrencia de la Neosporosis.

FACTORES DE RIESGO	INDICADOR
Presencia de caninos en los hatos ganaderos	Tenencia de perros por criador
Ingreso de vacas sin la cuarentena en el hato	Presencia de vacas enfermas o subclínicas.
Vacas parturientas que eliminan placenta	Número de vacas postparturientas
Consumo de placenta por parte de caninos	Número de canes que consumen placenta.

En la tabla precedente, se aprecia los 3 factores primordiales que tiene mucha relación para la ocurrencia de la enfermedad. La identificación de dichos factores de riesgo orienta en planificar e implementar medidas de control, prevención y la aplicación del desarrollo de capacidades en los criadores de vacunos. Un factor de riesgo es toda circunstancia o situación que aumenta las probabilidades de que un ser vivo expuesta contraiga una enfermedad o cualquier otro problema de salud; son características y atributos que se presentan asociados diversamente con la enfermedad o el evento estudiado. Debemos controlar los factores de riesgo, identificarlos en la comunidad de Huisacollana. (Miguel, 1998) señala que factores de riesgo no son necesariamente las causas, sólo están asociadas con el evento. Como constituyen una probabilidad medible, tienen valor predictivo y pueden usarse tanto en la prevención individual como en la población; pueden ser modificados por alguna forma de intervención, para disminuir la probabilidad de la ocurrencia de una enfermedad u otro daño específico.

4.6. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA DE DIAGNÓSTICO

Tabla 11. Relación entre test ELISA y aborto, en vacunos *Brown swiss* de comunidad de Huisacollana – Espinar -Cusco

	Enfermedad		Total
	Si abortan	No abortan	
Test (+) ELISA	3	1	4
Test (-) ELISA	2	70	72
Total	5	71	76

Fuente: Elaboración propia

La medición de la enfermedad en la población se hace a través de las pruebas diagnósticas, cuya fiabilidad casi siempre no alcanza el 100%, esta depende de la sofisticación de la técnica y de los equipos que está relacionado al costo. En los resultados de las pruebas se determina falsos positivos y falsos negativos, cuya proporción de su presentación en los resultados finales definen la calidad de la investigación epidemiológica. La cuantificación de este grado de error, se compara la prueba diagnóstica y prueba patrón (test oro), la que se aproxima a una fiabilidad del 100%. Esta fiabilidad de la prueba diagnóstica se mide la S, E, VPP, VPN, PR y PA.

En la tabla 11, se observa los valores encontrados en el presente estudio está en la tabla dicotómica y al someter a las fórmulas respectivas se obtuvieron medidas de precisión como la sensibilidad fue de 60% probabilidad que la prueba identifique correctamente a aquellos que presentan abortos; especificidad 98.59 % de probabilidad que la prueba identifique correctamente a aquellos que no tienen la enfermedad (abortos). Estos valores podrían usarse para estimar los abortos esperados en los animales positivos a *Neospora caninum* dentro de un hato en un periodo productivo (Echaide, 2000). Algunos autores establecieron la relación existente entre la seropositividad a *Neospora caninum* y el aborto del ganado bovino, esta fue siempre tangible, es decir, la mayoría de

episodios de aborto ocurren en vacas positivas (Anderson, 2005). También se encontró VPP de 75 %, VPN 98.59 %, PR 3.95 % y PA 5.26 %.

V. CONCLUSIONES

La seroprevalencia de *Neospora caninum* fue de 5.04 % de 119 animales; entre terneras, vaquillas y vacas fue similar la prevalencia; mientras en hembras fue 5.82 % y machos 0.0 %. Los animales menores a 2 años presentaron la mayor seroprevalencia que los animales mayores. Las vacas en producción mostraron seropositividad excepto las vacas secas.

Los factores de riesgo identificados fueron: presencia de caninos en los hatos ganaderos, consumo de placenta por los caninos e ingreso de vacas sin la cuarentena.

VI. RECOMENDACIONES

Los animales seropositivos deben destinarse para su beneficio y así evitar la difusión de la enfermedad.

Implementar programas de desarrollo de capacidades en sanidad animal a los criadores de vacunos de la comunidad de Huisacollana.

VII. REFERENCIAS

- 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.
- Andresen H. (1999). Neosporosis en el Perú y en el Mundo. Mv. Revista de Ciencias Veterinarias. Bolivis N. Neosporosis en Uruguay. Intervet.1999. (Consultado 15/12/2010) URL: http://www.sinervia.com/library_files/951429225_Neosporosis%20en%20Uruguay.pdf
- 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>
- Anderson. (2005, Julio 10). Produccion Animal, from http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/48 diagnostico_causas_infecciosas.pdf
- Atocsa H., J., Chávez V., A., Casas A., E., Falcón P., N., & P., N. F. (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.v16i1.1541>
- Barber, J. (1998). *Neosporosis canina*. Retrieved from [http:// repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6057/T14.09R196e.pdf;jsessionid=1906454AF412511DD0A4DE2D4F7DD756?sequence=1](http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6057/T14.09R196e.pdf;jsessionid=1906454AF412511DD0A4DE2D4F7DD756?sequence=1)
- Barber, J. S., & Trees, A. J. (1998). Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *International Journal for Parasitology*, 28(1), 57–64. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9504335>
- 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. *Preventive Veterinary Medicine*, 52(1), 53–61. Retrieved from [http:// www. ncbi. nlm. nih. gov/ pubmed/11566378](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11566378)
- Barr, B. C., Bjerckås, I., Buxton, D., Conrad, P. A., Dubey, J. P., Ellis, J. T., ... Wouda, W. (1997). *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* (Vol. 19). [Veterinary Learning Systems]. Retrieved from <https://ucdavis.pure.elsevier.com/en/publications/neosporosis-report-of-the-international-neospora-workshop>

- Bartels, C. J. M., Arnaiz-Seco, J. I., Ruiz-Santa-Quitera, A., Björkman, C., Frössling, J., von Blumröder, D., ... Ortega-Mora, L. M. (2006). Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden. *Veterinary Parasitology*, 137(1–2), 17–27. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.12.016>
- Bartels, C. J. M., 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(2), 247–257. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00126-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00126-0)
- 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 *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(6), 1423–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8735092>
- 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>
- Bjerkås, I., Mohn, S. F., & Presthus, J. (1984). Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Zeitschrift Fur Parasitenkunde (Berlin, Germany)*, 70(2), 271–4. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6426185>
- Campero M. (2002). Patología Veterinaria. INTA E.E.A.BALCARCE, Rev.lidia BS. AS,P.P. 127-131.
- Cebrián, L., Barberán, M., & Ferrer, L. (2003). Neosporosis y aborto en el gnado bovino. Retrieved November 30, 2018, from http://www.veterinaria.org/asociaciones/vet-uy/articulos/artic_bov/050/0009/bov009.htm
- 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., Chavez, 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., Lin, D. S., Bowman, D. D., Lindsay, D. S., Miller, T. K., Duncan, I. D., ... Cooper, B. (n.d.). *Neospora caninum* infection in English Springer Spaniel littermates. Diagnostic evaluation and organism isolation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 6(6), 325–32. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1484374>

- 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. *Veterinary Parasitology*, 105(2), 89–98. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11900922>
- Dubey, J. P. (1999). *Recent advances in Neospora and neosporosis*. *Veterinary Parasitology* (Vol. 84). Retrieved from <https://pubag.nal.usda.gov/pubag/downloadPDF.xhtml?id=24868&content=PDF>
- Dubey, J. P., Carpenter, J. L., Speer, C. A., Topper, M. J., & Uggla, A. (1988). Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 192(9), 1269–85. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3391851>
- 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., Schares, G., & Ortega-Mora, L. M. (2007). Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 323–367. <https://doi.org/10.1128/CMR.00031-06>
- Echaide, E. (2000). La Neosporosis Bovina. Retrieved from www.produccion-animal.com.ar
- Escalona J, García F, Mosquera O, Vargas F, Corro A. (2010). Factores de riesgo asociados a la prevalencia de neosporosis bovina en el municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. *Zootecnia Trop* 28: 201-212.
- Fernandes, B. C. T. ., Gennari, S. ., Souza, S. L. ., Carvalho, J. ., Oliveira, W. ., & Cury, M. . (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(1–2), 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.05.016>
- Fisher, M., & McGarry, J. (2007). *Fundamentos de parasitología en animales de compañía : una enciclopedia única que detalla los parásitos más importantes y peligrosos para la salud de los pequeños animales, su identificación y diagnóstico*. Retrieved from <https://booksmedicos.org/fundamentos-de-parasitologia-en-animales-de-compania/>
- Fredes, M., & Fernando, G. (2000). La neosporosis una parasitosis emergente. Retrieved November 30, 2018, from http://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D11542%2526ISID%253D464,00.html
- Gondim, L. F. P., McAllister, M. M., Mateus-Pinilla, N. E., Pitt, W. C., Mech, L. D., & Nelson, M. E. (2004). Transmission Of *Neospora caninum* Between Wild And Domestic Animals. *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
- Janios Quevedo, V., Amanda Chávez, V., Hermelinda Rivera, G., Eva Casas, A., & Enrique Serrano, M. (2003). Neosporosis En Bovinos Lecheros En Dos Distritos De La Provincia De Chachapoyas. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *14*(1), 33–37.
- Javier Jara, V., Amanda Chávez, V., Eva Casas, A., Nofre Sánchez, P., Moreno-López, J., & Merza, M. (2011). Determinación de anticuerpos contra *Neospora caninum* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en la Amazonía Peruana. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *22*(1), 61–65.
- Jimenez, C., & Zambrano, J. (2011). Enfermedades que afectan la reproducción bovina en Colombia, no sujetas a control oficial - 9789588214887 - LibreriadelaU. Retrieved November 30, 2018, from <https://www.libreriadelaU.com/enfermedades-que-afectan-la-reproduccion-bovina-en-colombia-no-sujetas-a-control-oficial-produmedios-9789588214887-agropecuario/p>
- Jorge Del Campo, S., Amanda Chávez, V., Alfredo Delgado, C., Néstor Falcón, P., Angela Ornelas, A., Eva Casas, A., & Enrique Serrano, M. (2003). Frecuencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros del valle de lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *14*(2), 145–149.
- 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>
- Lastri, 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>
- Laura, E. (2016). seroprevalencia y factores de riesgo asociados al virus de la diarrea viral bovina (vdvb) y *Neospora caninum* en tres cuencas lecheras de la región Puno. Universidad Nacional del Altiplano. https://doi.org/10.1007/8904_2014_350
- 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*

Veterinary Research, 54(1), 103–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8427452>

- Manrique, G. 2007. Series históricas 2000-2005 de seroprevalencia de Diarrea viral bovina (DVB), Rinotraqueitis infecciosa (IBR) y Neosporosis bovina por zonas zooecológicas de la Región Arequipa. *Revista Medicina A de la Producción, LABVETSUR*.
- 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.
- Martinez, A., Moreno, G., & Carrillo, A. (2012). *Actualización de la neosporosis bovina. Conexión Agropecuaria JDC* (Vol. 2). Retrieved from <https://www.jdc.edu.co/revistas/index.php/conexagro/article/view/340>
- 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., Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Jolley, W. R., Wills, R. A., & McGuire, A. M. (1998). Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, 28(9), 1473–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9770635>
- Moore, D., Odeon, A., Venturini, M., & Campero, C. (2005). Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. *Revista Argentina de Microbiología*, 37(4), 217–228. Retrieved from http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0325-75412005000400011
- Oviedo, T., Betancur, C., Mestra, A., González, M., Reza, L., & Calonge, K. (2007). *Estudio Serológico Sobre Neosporosis En Bovinos Con Problemas Reproductivos En Montería, Córdoba, Colombia. Rev.MVZ Córdoba* (Vol. 12). Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/693/69312108.pdf>
- PANAFTOSA. (2017). *Manual Veterinario de Toma y Envío de Muestras. Departamento Salud Animal* (1° edición).
- Pare, J., Thurmond, M., & Hietala, s. (1996). Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calf hood mortality. *Can J Vet Res*, 60, 133 citation_lastpage=139.
- 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.) (Edición 1). Retrieved from <https://www.amazon.es/Manejo-hembras-durante-gestación-lactancia/dp/8416492832>

- Puray, N., Chavez, A., Casas, E., & Falcon, N. (2006). PREVALENCIA DE *Neospora caninum*. En Bovinos De Una empresa Ganadera de la sierra central del Perú. *Investigaciones Veterinarias Del Perú, RIVEP*, 17, 189–194. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371838845018>
- 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
- Radostits, O. M., & Arundel, J. H. (2002). *Medicina veterinaria: tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. McGraw Hill Interamericana. Retrieved from <https://www.casadellibro.com/libro-medicina-veterinaria-tratado-de-las-enfermedades-del-ganado-bovino-ovino-porcino-caprino-y-equino/9788448603199/812378>
- Rivera G., H., Nelson, D., Tabacchi N., L., & N., L. T. (2014). *Neospora caninum* y otros agentes en fetos abortados de bovinos lecheros del valle de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 11(1), 1–7. <https://doi.org/10.15381/rivep.v11i1.6766>
- Rivera, H. (2001). Causas frecuentes de aborto Bovino. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 12(2), 117–122. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172001000200014
- Sanchez, M. F. (2008). El Ciclo Estral de la Vaca - Diagnostico Fotografico (p. 279).
- Santana, O., Vasquez, O., Medina, L., Ramos, P., Morales, C., & Quezada, G. (2010). *Neospora caninum*: Detección de ADN en sangre durante la primera gestación de vaquillas infectadas naturalmente. *Veterinaria México*, 41(2), 131–137. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922010000200006
- Schares, G., Bärwald, A., Staubach, C., Ziller, M., Klöss, D., Wurm, R., ... Conraths, F. J. (2003). Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modelled by Logistic regression. *International Journal for Parasitology*, 33(14), 1631–40. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14636679>
- Schares, G., Peters, M., Wurm, R., Bärwald, A., & Conraths, F. J. (1998). The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Veterinary Parasitology*, 80(2), 87–98. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9870361>
- SENAMHI. (n.d.). Yauri. Retrieved November 30, 2018, from http://www.senamhi.gob.pe/include_mapas/_dat_esta_tipo.php?estaciones=000757
- SENASA. (2010). *Caracterización De La Diarrea Viral Bovina, Neosporosis Bovina Y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina En El Peru*. Retrieved from <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/jer/BOVINOS/Caracterizacion DVB NB y RIB.pdf>

- Serrano-Martínez, E., Evaristo R., R., Quispe H., M., Hinojosa M., E., & M., E. H. (2018). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de Lima y comparación entre ELISA e IFI. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(3), 916. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i3.14757>
- Silva, M. A. M., & Pimentel, L. A. (2017). Mejoramiento genético en bovinos a través de la inseminación artificial y la inseminación artificial a tiempo fijo. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(2), 247–259. Retrieved from <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/2050/2261>
- Silva, P., Chávez, V., Rivera, G., & Casas, A. (2002). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en Bovinos lecheros del valle de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 13(2), 51–55. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172002000200007&script=sci_arttext
- Thilsted, J. P., & Dubey, J. P. (1989). *Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. J Vet Diagn Invest* (Vol. 1). Retrieved from <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/104063878900100301>.
- Torres L. (2006). Seroprevalencia de *N. caninum* en ganado vacuno lechero de chota. Tesis de Medico Veterinario. Cajamarca: Facultad de Ciencias Veterinarias, Univ. Nac. Cajamarca.
- 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>
- Vignau M, Venturini L, Romero J, Fernando Diego y Basso W. Parasitología práctica y Modelos de Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 1ª ed. Universidad Nacional de La Plata.2005. Pag.23
- Williams, D., & Trees, a. (2006). Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetopathy in *Neospora caninum*-infected cattle. *Parasite Immunol*, 28, 61 [citation_lastpage=67](#).

ANEXOS

Tabla 12. Relación de Vacunos en el estudio

N°	NOMBRE DEL PRODUCTOR	LUGAR	N° DE MUESTRA	CLASE	NOMBRE DEL ANIMAL
1	Aurelio Ccorahua	Quetara	1	TORO	
	Santos Ccorahua	Quetara	2	VACA EN SECA	Sara
2	Santos Ccorahua	Quetara	3	VACA EN SECA	Katy
	Santos Ccorahua	Quetara	4	VACA EN SECA	Shami
	Emilio Ccorahua Huahuisa	Sector Lequemarca	5	VACA EN SECA	Diana
	Emilio Ccorahua Huahuisa	Sector Lequemarca	6	VACA EN PRODUCCION	Gloria
	Emilio Ccorahua Huahuisa	Sector Lequemarca	7	TERNERA	Urpi
3	Graciela Carlos Ccorahua	Chokapito	8	VACA EN PRODUCCION	Norka
	Graciela Carlos Ccorahua	Chokapito	9	VACA EN PRODUCCION	Blanca
	Graciela Carlos Ccorahua	Chokapito	10	VACA EN SECA	Tunka
	Graciela Carlos Ccorahua	Chokapito	11	VACA EN SECA	Negra
	Graciela Carlos Ccorahua	Chokapito	12	VAQUILLA	Dana
	Graciela Carlos Ccorahua	Chokapito	13	VACA EN PRODUCCION	Mora
	Graciela Carlos Ccorahua	Chokapito	14	TERNERO	Mocho
	Graciela Carlos Ccorahua	Chokapito	15	VAQUILLA	Llaki
	Gabriel Soto Surco	Lota kconcha	16	VACA EN SECA	Bombona
	Crecencia Ancca de Carlos	Chicta	17	VACA EN SECA	Famosa

	Crecencia Ancca de Carlos	Chicta	18	TERNERA	Maria
	Crecencia Ancca de Carlos	Chicta	19	TERNERA	Alondra
7	Wilfredo Ancca	Quetara	20	TERNERA	Rous
	Wilfredo Ancca	Quetara	21	TERNERA	Carolina
	Wilfredo Ancca	Quetara	22	VACA EN SECA	Paloma
	Wilfredo Ancca	Quetara	23	VACA EN SECA	Katy
8	Jorge Luis Ancca Achire	Quetara	24	TERNERA	Mia
9	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	25	TORETE	Dominic
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	26	TERNERA	Candy
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	27	TERNERA	Fresia
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	28	TERNERA	Luna
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	29	VACA EN PRODUCCION	Naida Luz
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	30	VACA EN PRODUCCION	Gaby
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	31	VAQUILLA	Mily
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	32	VAQUILLA	Pili
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	33	VAQUILLA	Yacky
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	34	VAQUILLA	CHQ165
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	35	VAQUILLONA	Carmencita
	Timoteo Umasi Quispe	Chicta	36	VACA EN PRODUCCION	Pola
10	Nieves Ccorahua	Paucarpata	37	VACA EN PRODUCCION	Carmen
	Nieves Ccorahua	Paucarpata	38	TERNERO	Pedrito
	Nieves Ccorahua	Paucarpata	39	TERNERO	Chato
	Nieves Ccorahua	Paucarpata	40	TERNERO	Andres

	Nieves Ccorahua	Paucarpata	41	TERNERO	Tomas
	Nieves Ccorahua	Paucarpata	42	TERNERA	Lulú
	Nieves Ccorahua	Paucarpata	43	TERNERA	Luna
11	Efrain Pallani	Pururu	44	VACA EN PRODUCCION	Josefina
	Efrain Pallani	Pururu	45	VACA EN PRODUCCION	Morena
..... : : :	46 : :
12	Doroteo Coa Kana	Pinacollo Paucarpata	47	VACA EN PRODUCCION	Katy
	Doroteo Coa Kana	Pinacollo Paucarpata	48	VACA EN PRODUCCION	Gloria
	Doroteo Coa Kana	Pinacollo Paucarpata	49	VACA EN PRODUCCION	Hermosa
	Doroteo Coa Kana	Pinacollo Paucarpata	50	VACA EN PRODUCCION	Yuly
	Doroteo Coa Kana	Pinacollo Paucarpata	51	VACA EN PRODUCCION	Bethy
	Doroteo Coa Kana	Pinacollo Paucarpata	52	TORETE	Santos
	Doroteo Coa Kana	Pinacollo Paucarpata	53	TERNERO	Peter
13	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	54	VACA EN PRODUCCION	Cari
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	55	VACA EN PRODUCCION	Rosita
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	56	VACA EN PRODUCCION	Paty
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	57	VACA EN PRODUCCION	Urpi
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	58	VACA EN PRODUCCION	Carla

14	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	59	VACA EN PRODUCCION	Coraja
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	60	VACA EN PRODUCCION	Dina
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	61	VACA EN PRODUCCION	Caro
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	62	VAQUILLONA	Camila
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	63	VAQUILLA	Ilda
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	64	VACA EN PRODUCCION	Perla
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	65	TERNERA	Gringa
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	66	VAQUILLA	Vero
	Jacinto Surco Achiri	Pinacollo Paucarpata	67	TERNERO	Gorila
	Esteban Magaña Piña	Sector Inapi	68	VACA EN PRODUCCION	Merlis
	Adriana Choquepoma Kapa	Orbaya	69	VACA EN PRODUCCION	Kaile
	Adriana Choquepoma Kapa	Orbaya	70	VAQUILLONA	Paris
	Adriana Choquepoma Kapa	Orbaya	71	VACA EN PRODUCCION	Mayoli
	Adriana Choquepoma Kapa	Orbaya	72	TERNERA	Perla
15	Adriana Choquepoma Kapa	Orbaya	73	TERNERA	Rina
	Adriana Choquepoma Kapa	Orbaya	74	TERNERA	Aneli
	Pascuala Torres Ancca	Huallatira riego cañon de pururo	75	VACA EN PRODUCCION	Rosita

	Pascuala Torres Ancca	Huallatira riego cañon de pururo	76	VACA EN PRODUCCION	Susi
	Pascuala Torres Ancca	Huallatira riego cañon de pururo	77	VACA EN PRODUCCION	Saiwa
	Pascuala Torres Ancca	Huallatira riego cañon de pururo	78	VACA EN PRODUCCION	Sarita
	Pascuala Torres Ancca	Huallatira riego cañon de pururo	79	VACA EN PRODUCCION	Flor
17	Olga Colque Ancca	Paucarpata	80	VACA EN PRODUCCION	Gringa
	Olga Colque Ancca	Paucarpata	81	VAQUILLONA	Shamil
	Olga Colque Ancca	Paucarpata	82	VACA EN PRODUCCION	Kaila
	Olga Colque Ancca	Paucarpata	83	VAQUILLONA	Killa
18	Jose Luis Quispe Ancca	establo sol de oro huisacollana	84	VAQUILLONA	Kalesa
	Jose Luis Quispe Ancca	establo sol de oro huisacollana	85	VAQUILLONA	Alizon
	Jose Luis Quispe Ancca	establo sol de oro huisacollana	86	VACA EN SECA	Aliza
	Jose Luis Quispe Ancca	establo sol de oro huisacollana	87	VACA EN SECA	Macará
19	Luis Korahua Huahuisa	Sector Lequemarca	88	VACA EN SECA	Estrella
	Luis Korahua Huahuisa	Sector Lequemarca	89	VACA EN SECA	Shakira
	Luis Korahua Huahuisa	Sector Lequemarca	90	TORO	Elias
20	Maria Charca Laiqui	Paucarpata	91	VACA EN PRODUCCION	Princesa
	Maria Charca Laiqui	Paucarpata	92	VACA EN SECA	Sonia
21	Marcelino Chancayauri Sayco	Sector Acuani	93	VACA EN PRODUCCION	Camila
	Marcelino Chancayauri Sayco	Sector Acuani	94	VAQUILLA	Mary

	Marcelino Chancayauri Sayco	Sector Acuani	95	TORETE	Goliat
	Marcelino Chancayauri Sayco	Sector Acuani	96	TORETE	Hercules
	Marcelino Chancayauri Sayco	Sector Acuani	97	TERNERA	Gaby
22	Federico Fernandes Huaracha	Quetara	98	TERNERA	Mary
	Federico Fernandes Huaracha	Quetara	99	TERNERA	Tania
	Federico Fernandes Huaracha	Quetara	100	TORETE	Coco
11	Efrain Pallani	Pururu	101	VACA EN PRODUCCION	Dalia
	Eliazar Saico Sucle	Pururu	102	TORO	Clever
23	Eliazar Saico Sucle	Pururu	103	VACA EN PRODUCCION	China
	Eliazar Saico Sucle	Pururu	104	VACA EN PRODUCCION	Mili
	Eliazar Saico Sucle	Pururu	105	VACA EN PRODUCCION	Lola
	Eliazar Saico Sucle	Pururu	106	VACA EN SECA	Sisan
	Eliazar Saico Sucle	Quetara	107	VACA EN PRODUCCION	Mila
24	Silverio Leandro Chancayauri	Quetara	108	VACA EN SECA	Leyla
	Silverio Leandro Chancayauri	Quetara	109	VACA EN PRODUCCION	Techy
	Silverio Leandro Chancayauri	Quetara	110	VACA EN PRODUCCION	Carola
	Silverio Leandro Chancayauri	Quetara			

	Silverio Leandro Chancayauri	Quetara	111	TORETE	Lolo
	Silverio Leandro Chancayauri	Quetara	112	VACA EN PRODUCCION	Monica
25	Soledad Leandro Ancca	Quetara	113	VACA EN PRODUCCION	Ana
	Soledad Leandro Ancca	Quetara	114	VACA EN PRODUCCION	Pancha
	Soledad Leandro Ancca	Quetara	115	VACA EN PRODUCCION	Princesa
26	Susana Ancca	Quetara	116	VACA EN PRODUCCION	Mary
	Susana Ancca	Quetara	117	VACA EN PRODUCCION	Diana
	Susana Ancca	Quetara	118	VACA EN PRODUCCION	Elena
	Susana Ancca	Quetara	119	VACA EN PRODUCCION	Blanca
	Susana Ancca	Quetara	120	VACA EN PRODUCCION	Soledad

Foto 1. Hoja de trabajo para elisa indirecta



HOJA DE TRABAJO PARA ELISA INDIRECTA NEOSPORA CIVTEST

Fecha de Ensayo: 12/04/18

Analista KRC

Código : B10/1.....

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CN	7	15	23	31	39	48	56	64 ⁺	72	80	88
B	CP	8	16	24	32	40	49	57 ⁺	65	73	81	89
C	1	9	17	25	33	41	50	58	66	74	82	90
D	2	10	18	26	34	42 ⁺	51	59	67	75	83	91
E	3	11	19	27	35	43	52	60	68	76	84	92
F	4	12	20	28	36	44	53	61	69	77	85	93 ⁺
G	5	13	21	29	37	45	54	62	70	78	86	94
H	6	14	22	30	38	47	55	63 ⁺	71	79	87	95

- Preparación de la solución de lavado (10X)
- Preparación del Diluyente de muestra (3x)
- Dispensar 50 µl de control (+) NO diluido
- Dispensar 50 µl de control (-) NO diluido en dos pocillos
- Dispensar 50 µl de muestra diluida (1/100) en pocillos
 - A: 10 ul muestra + 190ul prep. Diluyente.
 - B: 40ul prep. Diluyente + 10 ul sol. A
- Homogenizar
- Incubar a 37°C x 60' Hora de Inicio: 10:49 Hora Fin: 11:49
- Lavado x 3 veces
- Dispensar 50 µl de conjugado
- Incubar a 37 °C x 20' Hora de Inicio: 11:58 Hora Fin: 12:18
- Lavado x 3 veces
- Dispensar 50 µl de sustrato TMB
- Incubar 20°C +- 25°C x 15' Hora de Inicio: 12:27 Hora Fin: 12:42
- Frenar con 50 µl de solución de frenado
- Lectura a 405 nm
- Validación del ensayo: si la D.O CP es > 0.9 y la relación CP/ CN es > 5.0
- IRPC=((Muestra-CN)/ CP- CN) *100



HOJA DE TRABAJO PARA ELISA INDIRECTA NEOSPORA CIVTEST

Fecha de Ensayo: 12/04/18

Analista KRC

Código : B.10.1.1.....

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		96	104	112	120+							
B		97	105	113								
C		98	106	114								
D		99	107	115								
E		100	108	116								
F		101	109	117								
G	CN	102	110	118								
H	CP	103	111	119								

- Preparación de la solución de lavado (10X) ✓
- Preparación del Diluyente de muestra (3x) ✓
- Dispensar 50 µl de control (+) NO diluido ✓
- Dispensar 50 µl de control (-) NO diluido en dos pocillos ✓
- Dispensar 50 µl de muestra diluida (1/100) en pocillos ✓
 - A: 10 ul muestra + 190ul prep. Diluyente.
 - B: 40ul prep. Diluyente + 10 ul sol. A
- Homogenizar ✓
- Incubar a 37°C x 60' Hora de Inicio: 11:09 Hora Fin: 12:09
- Lavado x 3 veces ✓
- Dispensar 50 µl de conjugado ✓
- Incubar a 37 °C x 20' Hora de Inicio: 12:19 Hora Fin: 12:39
- Lavado x 3 veces ✓
- Dispensar 50 µl de sustrato TMB ✓
- Incubar 20°C +- 25°C x 15' Hora de Inicio: 12:44 Hora Fin: _____
- Frenar con 50 µl de solución de frenado ✓
- Lectura a 405 nm ✓
- Validación del ensayo: si la D.O CP es > 0.9 y la relación CP/ CN es > 5.0
- IRPC= ((Muestra-CN)/ CP- CN))*100

Foto 1. Resultados laboratorio veterinario del sur



ENVIADO POR:	FECHA DE INFORME: 12/04/2018
DIRECCION:	Nro. DE DIAG: 24
	REFERENCIA: B10/1-18
	FECHA DE ENVIO: 02/01/2018
	FECHA DE RECIBIDO: 02/01/2018

REPORTE DE EXAMENES

PROPIETARIO: ALFREDO FLORENTINO ROJAS QUISPE	ANIMAL N°:
DIRECCION:	ESPECIE/LAB.: BOVINO
LOCALIDAD: COMUNIDAD HUISA COLLANA	RAZA: BROWN SWISS
PROVINCIA: ESPINAR	SEXO:
DPTO: CUZCO	EDAD:

HISTORIA

PRUEBAS REALIZADAS:

Laboratorio	Muestras	Total	Prueba
INMUNOLOGIA	SUEROS	119	NEOSPORA

RESULTADOS

NRO	IDENTIFICACION	NEOSPORA
1	1	S.R NEGATIVO
2	2	S.R NEGATIVO
3	3	S.R NEGATIVO
4	4	S.R NEGATIVO
5	5	S.R NEGATIVO
6	6	S.R NEGATIVO
7	7	S.R NEGATIVO
8	8	S.R NEGATIVO
9	9	S.R NEGATIVO
10	10	S.R NEGATIVO
11	11	S.R NEGATIVO
12	12	S.R NEGATIVO
13	13	S.R NEGATIVO
14	14	S.R NEGATIVO
15	15	S.R NEGATIVO
16	16	S.R NEGATIVO
17	17	S.R NEGATIVO
18	18	S.R NEGATIVO
19	19	S.R NEGATIVO
20	20	S.R NEGATIVO
21	21	S.R NEGATIVO
22	22	S.R NEGATIVO
23	23	S.R NEGATIVO
24	24	S.R NEGATIVO



Av. Alfonso Ugarte N° 500-A
 Teléfonos: 054-213677 - 232175
 e-mail: labvetsur@hotmail.com
 e-mail: labvetsur.acreditación@gmail.com
 Arequipa - Perú



Laboratorio Veterinario del Sur

NRO	IDENTIFICACION	NEOSPORA
68	69	S.R NEGATIVO
69	70	S.R NEGATIVO
70	71	S.R NEGATIVO
71	72	S.R NEGATIVO
72	73	S.R NEGATIVO
73	74	S.R NEGATIVO
74	75	S.R NEGATIVO
75	76	S.R NEGATIVO
76	77	S.R NEGATIVO
77	78	S.R NEGATIVO
78	79	S.R NEGATIVO
79	80	S.R NEGATIVO
80	81	S.R NEGATIVO
81	82	S.R NEGATIVO
82	83	S.R NEGATIVO
83	84	S.R NEGATIVO
84	85	S.R NEGATIVO
85	86	S.R NEGATIVO
86	87	S.R NEGATIVO
87	88	S.R NEGATIVO
88	89	S.R NEGATIVO
89	90	S.R NEGATIVO
90	91	S.R NEGATIVO
91	92	S.R NEGATIVO
92	93	S.R POSITIVO
93	94	S.R NEGATIVO
94	95	S.R NEGATIVO
95	96	S.R NEGATIVO
96	97	S.R NEGATIVO
97	98	S.R NEGATIVO
98	99	S.R NEGATIVO
99	100	S.R NEGATIVO
100	101	S.R NEGATIVO
101	102	S.R NEGATIVO
102	103	S.R NEGATIVO
103	104	S.R NEGATIVO
104	105	S.R NEGATIVO
105	106	S.R NEGATIVO
106	107	S.R NEGATIVO
107	108	S.R NEGATIVO
108	109	S.R NEGATIVO
109	110	S.R NEGATIVO
110	111	S.R NEGATIVO



... es calidad

Av. Alfonso Ugarte N° 500-A
 Teléfonos: 054-213677 - 232175
 e-mail: labvetsur@hotmail.com
 e-mail: labvetsur.acreditación@gmail.com
 Arequipa - Perú



NRO	IDENTIFICACION	NEOSPORA
111	112	S.R NEGATIVO
112	113	S.R NEGATIVO
113	114	S.R NEGATIVO
114	115	S.R NEGATIVO
115	116	S.R NEGATIVO
116	117	S.R NEGATIVO
117	118	S.R NEGATIVO
118	119	S.R NEGATIVO
119	120	S.R POSITIVO

Nota: Los resultados solo se refieren a las muestras recibidas en el laboratorio

Material y Método empleado:

ELISA INDIRECTA DE ANTICUERPOS FRENTE A *NEOSPORA CANINUM*. KIT CIVTEST - HIPRA

M.V.Z. JORGE MANRIQUE MEZA
CMVP - 855
GERENTE

... es calidad

Av. Alfonso Ugarte N° 500-A
Teléfonos: 054-213677 - 232175
e-mail: labvetsur@hotmail.com
e-mail: labvetsur.acreditación@gmail.com
Arequipa - Perú

CP-CN
0.773

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.072	-1.552	-0.388	-2.070	-1.682	-2.199	-1.164	-0.906	37.904	-0.129	-1.294	-1.811
B	0.843	9.702	0.129	0.388	-1.294	-1.164	0.000	52.523	0.776	-1.294	-0.129	-1.035
C	-0.647	-0.129	0.906	-1.294	0.906	-0.776	1.423	-0.388	2.458	-1.164	1.552	0.517
D	0.517	0.906	23.286	-1.940	1.164	40.492	0.776	-0.129	-0.776	0.906	-0.259	0.776
E	0.259	0.517	-1.164	-0.517	-0.259	0.259	-0.647	0.647	-0.129	1.423	2.975	-0.388
F	0.259	-0.259	-0.388	-1.423	-1.164	2.070	-1.423	-1.294	0.000	2.458	-0.776	83.312
G	-1.423	-0.129	-0.259	-1.164	-1.294	0.259	-1.035	-0.647	-0.259	15.783	2.717	-0.517
H	-1.294	2.329	0.000	0.000	0.517	-0.517	0.000	70.246	1.552	-1.294	-1.294	1.294

Software Version 2.07.17
 Experiment File Path:
 Protocol File Path:
 Plate Number Plate 1
 Date 12/04/2018
 Time 12:58:26 p.m.
 Reader Type: ELx808
 Reader Serial Number: Unknown
 Reading Type Reader

Procedure Details

Plate Type 96 WELL PLATE
 Read Absorbance Endpoint
 Full Plate
 Wavelengths: 405
 Read Speed: Normal

Results

Actual Temperature: 24.3

	1	2	3	4	5
A	0	0.066	0.067	0.073	0.35
B	0	0.069	0.065	0.065	
C	0	0.07	0.074	0.078	
D	0	0.074	0.062	0.059	
E	0	0.063	0.059	0.206	
F	0	0.079	0.086	0.064	
G	0.072	0.061	0.049	0.069	
H	0.845	0.07	0.064	0.285	

0.773

	1	2	3	4	5
A	0	-0.776	-0.647	0.129	35.964
B	0	-0.388	-0.906	-0.906	
C	0	-0.259	0.259	0.776	
D	0	0.259	-1.294	-1.682	
E	0	-1.164	-1.682	17.335	
F	0	0.906	1.811	-1.035	
G	0.072	-1.423	-2.975	-0.388	
H	0.845	-0.259	-1.035	27.555	

Tabla 13. Base de datos para vaquillonas, vacas (producción y secas).

Numero	Identificación de prueba	Seroprevalencia	Abortaron	
			si	no
1	2	S.R NEGATIVO		x
2	3	S.R NEGATIVO		x
3	4	S.R NEGATIVO		x
4	5	S.R NEGATIVO		x
5	6	S.R NEGATIVO		x
6	8	S.R NEGATIVO		x
7	9	S.R NEGATIVO		x
8	10	S.R NEGATIVO		x
9	11	S.R NEGATIVO		x
10	13	S.R NEGATIVO		x
11	16	S.R NEGATIVO		x
12	17	S.R NEGATIVO		x
13	22	S.R NEGATIVO		x
14	23	S.R NEGATIVO		x
15	29	S.R NEGATIVO		x
16	30	S.R NEGATIVO		x
17	35	S.R NEGATIVO		
18	36	S.R NEGATIVO		x
19	37	S.R NEGATIVO		x
20	44	S.R NEGATIVO	X	
21	45	S.R NEGATIVO		x
22	47	S.R NEGATIVO		x
23	48	S.R NEGATIVO		x
24	49	S.R NEGATIVO		x
25	50	S.R NEGATIVO		x
26	51	S.R NEGATIVO		x
27	54	S.R NEGATIVO		x
28	55	S.R NEGATIVO		x
29	56	S.R NEGATIVO		x
30	57	S.R POSITIVO		x
31	58	S.R NEGATIVO		x
32	59	S.R NEGATIVO		x
33	60	S.R NEGATIVO		x
34	61	S.R NEGATIVO		x
35	62	S.R NEGATIVO		X
36	64	S.R POSITIVO	X	
37	68	S.R NEGATIVO		x
38	69	S.R NEGATIVO		x
39	70	S.R NEGATIVO		X
40	71	S.R NEGATIVO		x
41	75	S.R NEGATIVO		x

42	76	S.R NEGATIVO		x
43	77	S.R NEGATIVO		x
44	78	S.R NEGATIVO		x
45	79	S.R NEGATIVO		x
46	80	S.R NEGATIVO		x
47	81	S.R NEGATIVO		X
48	82	S.R NEGATIVO		x
49	83	S.R NEGATIVO		X
50	84	S.R NEGATIVO		X
51	85	S.R NEGATIVO		X
52	86	S.R NEGATIVO		x
53	87	S.R NEGATIVO		x
54	88	S.R NEGATIVO		x
55	89	S.R NEGATIVO		x
56	91	S.R NEGATIVO		x
57	92	S.R NEGATIVO		x
58	93	S.R POSITIVO	X	
59	101	S.R NEGATIVO		x
60	103	S.R NEGATIVO		x
61	104	S.R NEGATIVO		x
62	105	S.R NEGATIVO		x
63	106	S.R NEGATIVO		x
64	107	S.R NEGATIVO	X	
65	108	S.R NEGATIVO		x
66	109	S.R NEGATIVO		x
67	110	S.R NEGATIVO		x
68	112	S.R NEGATIVO		x
69	113	S.R NEGATIVO		x
70	114	S.R NEGATIVO		x
71	115	S.R NEGATIVO		x
72	116	S.R NEGATIVO		x
73	117	S.R NEGATIVO		x
74	118	S.R NEGATIVO		x
75	119	S.R NEGATIVO		X
76	120	S.R POSITIVO	X	
TOTAL			5	71

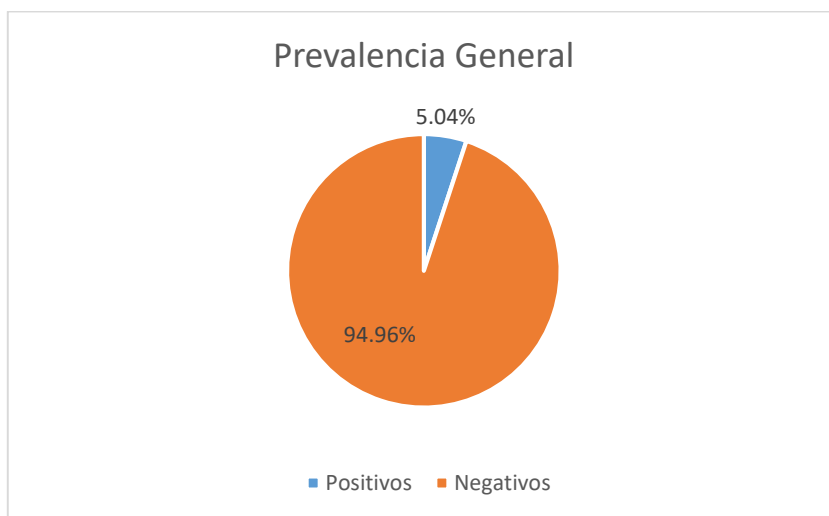


Figura 1. Prevalencia de Neospora caninum en vacunos *Brown swiss* en la comunidad de Huisacollana- Espinar -Cusco.

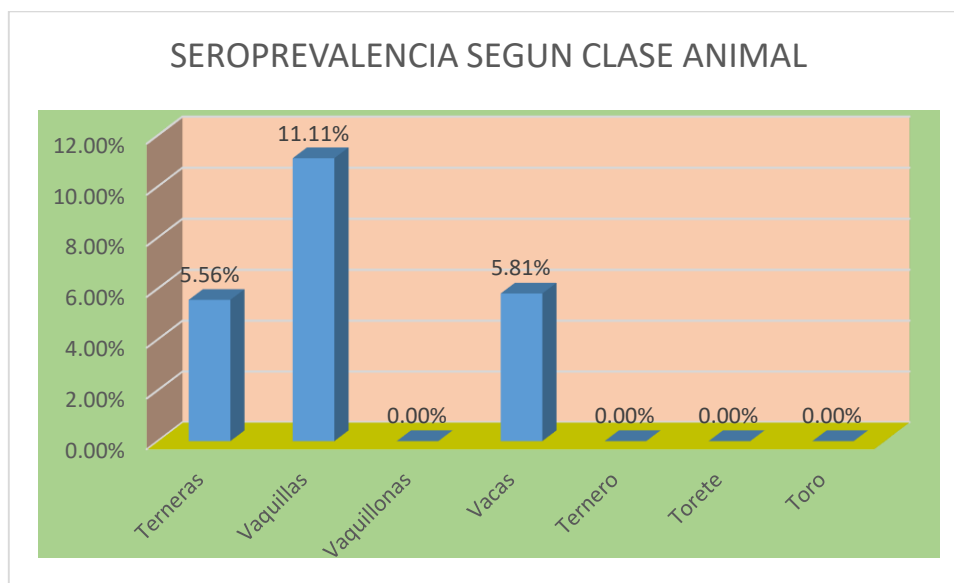


Figura 2. Prevalencia de Neospora caninum en vacunos *Brown swiss* en la comunidad de Huisacollana- Espinar -Cusco. Según clase animal.

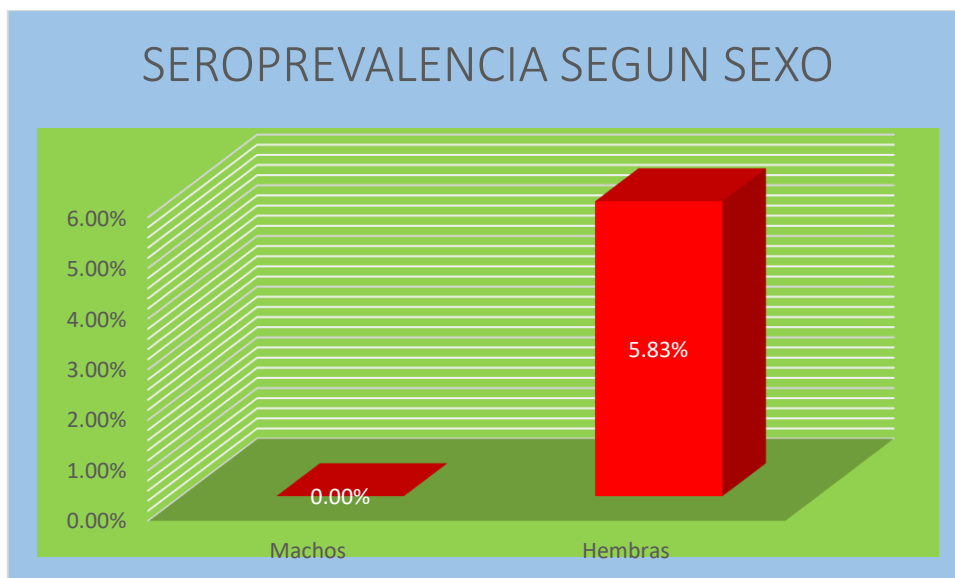


Figura 3. Prevalencia de Neospora caninum en vacunos *Brown swiss* en la comunidad de Huisacollana– Espinar -Cusco. Según sexo animal.

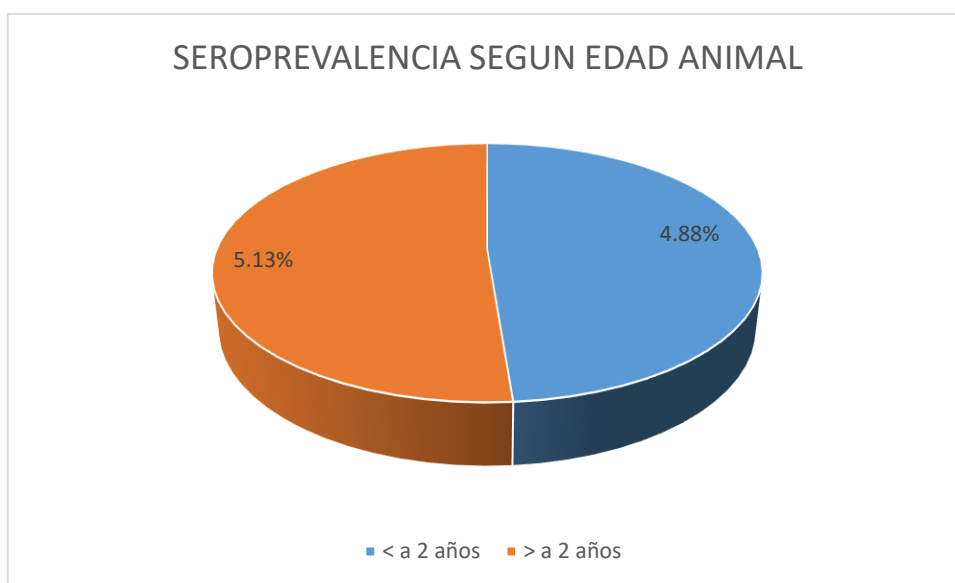


Figura 4. Prevalencia de Neospora caninum en vacunos *Brown swiss* en la comunidad de Huisacollana– Espinar -Cusco. Según edad animal.

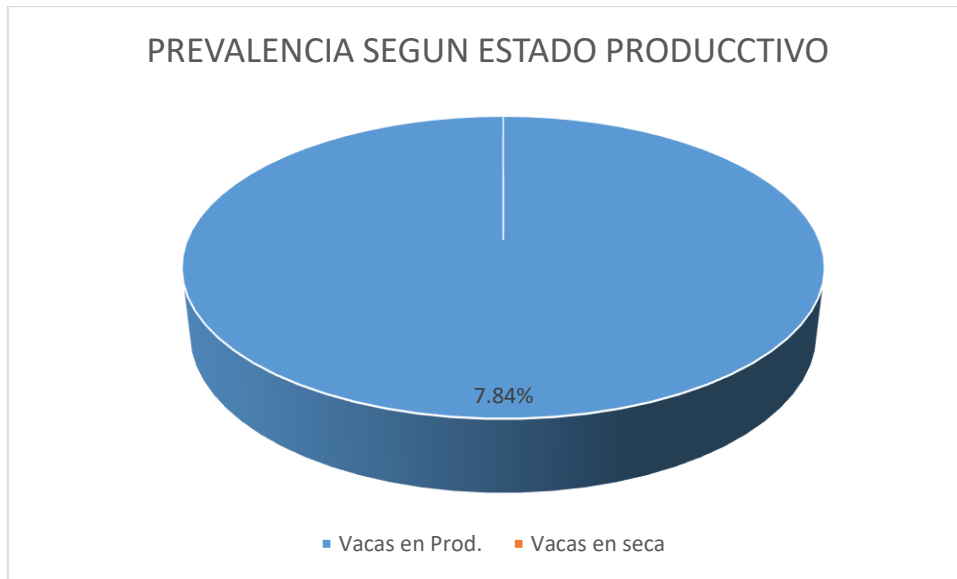


Figura 5. Prevalencia de Neospora caninum en vacunos *Brown swiss* en la comunidad de Huisacollana– Espinar -Cusco.Según estado productivo.

Foto 2. Lugar de recolección de muestras



Foto 3. Extracción de muestra sanguínea



Foto 4. Rotulado de muestras sanguíneas



Foto 5. Centrifugar muestras sanguineas



Foto 6. Extracción de suero y conservación de muestras para envío a lavetsur



Foto 7. Recepción de muestras al laboratorio



Foto 8. Reactivos para la realización del análisis laboratorio.



Foto 9. Colocación de las muestras al equipo laboratorio.

