

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**“SEROPREVALENCIA DE *Neospora caninum* EN BOVINOS
LECHEROS DEL DISTRITO DE ITE - TACNA.”**

TESIS

Presentado por:

Bach. JOSÉ LUIS TICONA CHOQUE

Para optar el título de:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

TACNA - PERÚ

2011

UNIVERSIDAD NACIONAL "JORGE BASADRE GROHMANN"-TACNA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**"SEROPREVALENCIA DE *Neospora caninum* EN BOVINOS
LECHEROS DEL DISTRITO DE ITE, TACNA"**

Tesis sustentada y aprobada el 13 de Mayo del 2011, estando el Jurado calificador integrado por:

PRESIDENTE

:


MSc. M.V.Z. Hugo Flores Aybar

SECRETARIO

:


MSc. M.V.Z. Juan Nicanor Castro Cancino

VOCAL

:


MSc. M.V.Z. Cecilio Mauro Hurtado Quispe

ASESOR

:


MSc. M.V.Z. Julia Condori Silvestre

*A mis padres, mis hermanos y a
mis lindas sobrinas.*

AGRADECIMIENTOS

Es mi voluntad expresar mis más sinceras muestras de agradecimiento a todas aquellas personas que de manera directa o indirecta han colaborado con la materialización del presente trabajo de tesis, de manera especial al personal docente de la Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por su apoyo y consejo.

De igual manera, van los agradecimientos a la Municipalidad Distrital de Ite, al Proyecto Mejoramiento Genético del Ganado Vacuno y de forma especial a los ganaderos de este distrito.

No quiero dejar de mencionar, el apoyo recibido por el SENASA-TACNA, de manera especial al personal del área de Sanidad Animal.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO.....	4
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
RESULTADOS.....	28
DISCUSIONES.....	42
CONCLUSIONES.....	49
RECOMENDACIONES.....	50
BIBLIOGRAFÍA.....	51
ANEXOS.....	59

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó para determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite, provincia de Jorge Basadre y región de Tacna. Se obtuvieron 241 muestras sanguíneas de bovinos lecheros. A través de una prueba de inmunofluorescencia indirecta se determinó la seroprevalencia a *N. caninum*, con una prevalencia de 44,39%.

Considerando los factores epidemiológicos tales como la edad, procedencia, presencia de abortos, destino de feto y placenta y presencia de cánidos salvajes que pueden influir en la presentación de la enfermedad. Estos fueron analizados y contrastados estadísticamente mediante la prueba de independencia de Chi-cuadrado ($P > 0.05$). Así se tiene que la edad de los animales no demostró ser un factor influyente. Por otro lado la procedencia que evidenció valores de seroprevalencia positiva del 73,33% para Arequipa y del 42,29% para Ite, si demostró ser un factor influyente. Para el caso de los otros factores tales como; presencia de abortos, destino de feto y placenta, presencia de canidos salvajes, estos demostraron ser influyentes para la presencia del parásito en la zona de estudio.

I. INTRODUCCIÓN

De los problemas que existen en la ganadería lechera, los que producen mayores pérdidas económicas son las fallas reproductivas, entre las que destacan los abortos, siendo los agentes infecciosos de diversa etiología los causantes de la gran mayoría de ellas (Anderson et al., 1991).

Así se tiene que, el parásito *Neospora caninum* es el protozoo productor de la neosporosis, importante enfermedad emergente considerada últimamente como la causa principal de abortos en la ganadería lechera a nivel mundial. Los abortos producidos se consideran el efecto mas adverso de la infección, y ocurre entre el tercer y el noveno mes de la gestación. También hay que tener en cuenta otras repercusiones, tales como la reducción en el número de terneros, mayor número de inseminaciones, repetición de celos, baja de la producción de leche y el costo por sacrificio prematuro o venta de los animales infectados (Echaide y Valentini, 2000).

La presencia de esta enfermedad en el mundo revela valores tan altos como del 59% en Escocia (Buxton *et al*, 1997) y bajos como en Suecia que reportó una prevalencia de 2% (Björkmann *et al*, 2000).

En nuestro país se ha estudiado la presencia de esta enfermedad en las principales cuencas lecheras, llegando a valores del 43% en Cajamarca (Cabrera *et al.*, 2000), 57% en Arequipa (Andresen H., 1999), 30% en el valle de Lima (Silva *et al.*, 2002) y 40% en Amazonas (Quevedo *et al.*, 2003).

En el trabajo realizado a nivel regional, en el valle de Sama, se tiene que en animales provenientes de Ite se reportó una seroprevalencia del 50%. (Cahuana J., 2006). Este dato nos podría estar demostrando que estamos frente a este problema.

En la ganadería lechera del distrito de Ite, siempre ha existido la presencia de abortos, quedando muchas veces sin esclarecer el diagnóstico causal.

Por lo tanto es necesario conocer si ésta enfermedad, como una causa de la presencia de abortos, se encuentra presente. También es necesario conocer si factores tales como la edad, procedencia de los animales, presencia de abortos, destino de feto y placentas, presencia del hospedero definitivo, podrían estar influyendo en la presentación de la enfermedad.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo general

- Contribuir con la sanidad de la ganadería lechera de la región de Tacna.

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del distrito de Ite.
- Identificar qué factores epidemiológicos van a condicionar la presentación de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del distrito de Ite.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Marco conceptual

2.1.1. Etiología

El primer reporte de infección producida por *Neospora caninum*, protozoo de aspecto similar al *Toxoplasma gondii*, fue realizado en Noruega por observaciones a una camada de perros con diagnóstico de encefalopatía mortal (Bjerkas *et al.*, 1984). Posteriormente, en Estados Unidos se aisló un parásito similar en perros con alteraciones neurológicas. Después de varios estudios, se logró identificar y describir a este nuevo parásito con características diferentes a las del *Toxoplasma gondii* y se le denominó *Neospora caninum* (Dubey *et al.*, 1988).

N. caninum se incluye dentro del phylum Apicomplexa, clase Sporozoea, subclase Coccidia, orden Eucoccidia, suborden Eimeriina y familia Sarcocystidae, junto con los géneros *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Hammondia* y *Besnoitia* (Dubey *et al.*, 1988).

Recientemente se ha incluido dentro del género *Neospora* a una especie que ha sido encontrada en caballos y presenta

diferencias moleculares con *Neospora caninum*. Esta nueva especie se denomina *Neospora hughesi* (Marsh *et al*, 1998).

2.1.2. Ciclo biológico

En la neosporosis, los estadios parasitarios reconocidos son: taquizooitos, bradizooitos (contienen los quistes tisulares) y los esporozooitos encontrados en los esporocistos de los ooquistes (Moore, 2005)

En los hospedadores intermediarios se encuentran intracelularmente los taquizooitos y los quistes tisulares, mientras que en perro los ooquistes son eliminados a través de las heces (Espartaco *et al.*, 2005).

Los perros se infectan al ingerir tejidos de bovinos infectados (fetos abortados y placentas), calostro o leche de origen bovino contaminado con taquizooitos y esta infección causa la eliminación de ooquistes en las heces del perro (Moore, 2005).

Un canino que se comporte como hospedero intermediario puede ser seropositivo y transmitir la infección vertical a sus cachorros o presentar miositis, parálisis y dermatitis (Moore, 2005).

Los bovinos adquieren la infección horizontal al ingerir pastos, forrajes, agua de bebida y piensos contaminados con ooquistes que se eliminan con las heces de los perros. (Moore, 2005)

La infección transplacentaria (vertical) de madre a hijo, es considerada la más frecuente ruta de contagio del feto bovino y puede ser del 80% a su descendencia (Espartaco *et al.*, 2005).

2.1.3. Epidemiología

Neospora caninum fue reconocido como causante de problemas nerviosos en caninos, posteriormente se relaciona por primera vez con un cuadro de aborto bovino en un establo lechero de Nuevo México (Thilsted y Dubey, 1989). Desde entonces se ha comprobado que este protozoo afecta a diferentes especies animales como cabras, ovejas, yeguas, ratones, ciervos (Dubey y Lindsay, 1996), búfalo de agua, coyote, zorro rojo y camellos, de manera experimental a gatos, jerbos (Dubey, 1999), primates no humanos (Barr *et al.*, 1994) y cerdos (Jensen *et al.*, 1998). Los problemas de abortos asociados a infección

por *Neospora caninum* e infecciones congénitas han sido reportados en bovinos de leche y carne (Anderson *et al*, 2000).

2.1.4. Diagnóstico

Aunque la infección por *N. caninum* en los fetos abortados solo puede diagnosticarse en cada caso individual -detección de anticuerpos específicos y/o identificación del parásito en los tejidos (Inmunohistoquímica, PCR)-, los análisis serológicos en los animales adultos proporcionan una información inicial acerca de la magnitud del problema.

El diagnóstico etiológico del aborto en el ganado bovino es complejo y laborioso y, de hecho, solamente se consigue determinar su origen en menos del 50% de los casos remitidos a los laboratorios especializados. En aquellos casos en los que se llega a un diagnóstico etiológico, más del 90% corresponden a agentes infecciosos y parasitarios entre los que, actualmente, ocupa un lugar destacado *N. caninum*. La valoración adecuada de los datos de la anamnesis y la investigación epidemiológica, así como de los datos obtenidos en el examen clínico y lesional de los animales afectados (hembras abortadas y sus fetos) debe

realizarse siempre, aunque es imprescindible la realización del diagnóstico laboratorial para confirmar la etiología del aborto teniendo en cuenta otras posibles causas infecciosas y no transmisibles (Álvarez, 2003).

a. Pruebas serológicas

a.1. Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI)

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. En la IFI se ha empleado como antígeno taquizoítos de *N. caninum* de aislados de origen bovino y canino, no existiendo evidencias de que las posibles diferencias antigénicas entre los diferentes aislados puedan afectar a la precisión de la prueba.

La IFI requiere para su realización de una experiencia previa y el tiempo necesario para la realización de la técnica en comparación con el ELISA y la subjetividad inherente a su sistema de interpretación, hacen que en la actualidad se utilice cuando se trabaja con un número reducido de muestras. Esta técnica serológica se ha empleado en el diagnóstico de la infección y en estudios epidemiológicos en un gran número de especies, incluyendo el perro, el zorro, el gato, el ganado bovino, la cabra, la oveja, diversas especies de roedores y primates. Así mismo, la IFI ha sido considerada como la técnica de referencia ("gold estandar") en la neosporosis, con la cual han sido comparadas otras técnicas serológicas.

Esta prueba tiene una sensibilidad de 98% y una especificidad de 99% (Packham *et al*, 1998).

2.1.5. Control

Las medidas preventivas y de control están orientadas reducir la exposición de los hospederos naturales (bovinos y perros), sin embargo deben estar adecuadas a las características de cada explotación. Por lo tanto lo más

recomendable sería, evitar el contacto de los perros con el ganado sobre todo en época de parición.

a. Control de la transmisión vertical

La transmisión congénita es la forma más común de infección de *N. caninum* en los bovinos (Dubey, 2002). El nacimiento de terneros clínicamente sanos, pero infectados transplacentariamente es otro problema en el control de la enfermedad, porque estos animales pueden ser utilizados para la reposición de animales y de esta manera la parasitosis permanece en el rebaño. Por lo tanto la primera medida de prevención y control es el monitoreo serológico de todos los animales del hato, con la intención de reducir los animales seropositivos dentro del hato. Álvarez *et al* (1999) mencionan las siguientes medidas para este fin:

- Eliminar las vacas seropositivas si la tasa de infección es alta y se comprueba gran implicancia de neosporosis en la tasa de abortos.

- Eliminar las vacas seropositivas si la tasa de infección es baja aunque la neosporosis no intervenga en la tasa de abortos.
- Si no es posible la eliminación de animales, se opta por la separación gradual en el siguiente orden: vacas seropositivas con abortos que tienen crías seropositivas primero, luego vacas seropositivas con antecedentes de aborto y por último vacas seropositivas.
- Evitar la reposición con terneras infectadas. Las terneras con madres seropositivas que nacen sin infección deben ser alimentados con calostro de madres seronegativas.
- Descartar neosporosis y otros problemas reproductivos antes de introducir animales en la explotación.

b. Control de la transmisión horizontal

El conocimiento de esta ruta de transmisión es limitado. A pesar que no existen reportes que demuestren que esta se presente en forma natural y que presumiblemente ocurra en forma escasa, se

sabe que el perro es el único hospedador definitivo y con esta información se han podido plantear medidas para reducir la contaminación ambiental con ooquistes (Álvarez *et al.*, 1999) como:

- Eliminar los fetos, fluidos y placentas evitando que puedan ser ingeridos por los perros, lamidos por la hembra abortada o entrar en contacto con otras vacas.
- Evitar la exposición del alimento (pienso, concentrado, ensilaje, pastos, etc.) y agua con las heces de perros.
- Controlar y disminuir en lo posible el contacto de perros lugares de alojamiento de animales.
- Evitar alimentar a los perros con carne cruda.

En general, la neosporosis se presenta como una causa más de aborto y el control debe ir encaminado, fundamentalmente, a reducir la prevalencia de la infección en las explotaciones con brotes declarados y a prevenir su propagación a otras evitando tanto la transmisión horizontal como la vertical.

Las medidas de control de la infección, en un futuro, deberán incluir además el tratamiento químico y la inmunoprofilaxis.

2.1.5. Zoonosis

Hasta el momento, no se ha detectado la presencia de *N. caninum* en el hombre, pero su estrecha relación con *T. gondii* patógeno importante en mujeres gestantes y en individuos inmunodeprimidos y el hecho de que la infección haya sido establecida experimentalmente en el macaco apuntan la posibilidad de la infección humana. En estudios realizados en mujeres con historia de abortos se han detectado la presencia de anticuerpos frente a *N. caninum*. Aunque la tasa de seropositividad fue muy baja, estos resultados indican que anticuerpos frente a *N. caninum* pueden estar presentes en el suero humano y no se debe descartar la posibilidad de la infección por este parásito afecte al hombre.

2.2. Antecedentes

2.2.1. Antecedentes a nivel internacional

Se ha encontrado que los problemas reproductivos en ganado bovino lechero producidos por *N. caninum* han sido reportados alrededor del mundo.

En Europa se observó; en España una prevalencia de 30,6% al evaluar a 889 vacas lecheras provenientes de 43 hatos del norte del país (Mainar – Jaime *et al*, 1999), Suecia reportó recientemente una prevalencia de 2% (Björkmann *et al*, 2000), en el Reino Unido se han reportado prevalencias de 17,1% en Inglaterra (Davison *et al*, 1999) y 59% en Escocia (Buxton *et al*, 1997), en Alemania presentó una prevalencia de 4,1% mediante inmunofluorescencia indirecta, al evaluar 388 vacas provenientes de hatos con problemas reproductivos (Conraths *et al*, 1996), Holanda mostró una prevalencia de 51,5% en un estudio donde se evaluaron 50 hatos lecheros (Wouda *et al*, 1999).

En Asia se tiene que en Taiwán se reportó una prevalencia de 44,9% (Ooi *et al*, 2000).

En el continente oceánico, se reportó en Australia una prevalencia de 24% (Atkinson *et al*, 2000).

En el continente Americano tenemos que; en los Estados Unidos de Norteamérica es la mayor causa de aborto en con prevalencias que van desde 2,17 a 38% (Anderson *et al*, 1994). Canadá reporto una prevalencia de 21,9% (Bergeron *et al*, 2000), México presenta una prevalencia de de 56% (Morales *et al*, 2001).

En otros países de Sudamérica también se confirmó la presencia del parásito, reportándose prevalencias de 14,09% en Brasil, al evaluarse 447 sueros provenientes de vacas lecheras de la ciudad de Bahia (Gondim *et al*, 1999) y de 56,9% en Argentina (Campero *et al*, 1998) en ambos casos utilizando la prueba de inmunofluorescencia indirecta.

2.2.1. Antecedentes a nivel nacional

Resultados en otras zonas del país indican seroprevalencias de *N. caninum* de 43% en Cajamarca (Cabrera *et al.*, 2000), 57% en Arequipa (Andresen, H.

1999), 30% en el valle de Lima (Silva *et al.*, 2002) y 40% en Amazonas (Quevedo *et al.*, 2003).

Se realizó un trabajo en el valle de Lima donde se evaluaron 304 sueros de vaca lecheras adultas provenientes de 19 establos lecheros ubicados en la zona norte (n=12) y en la zona sur (n=7) del valle de Lima para la detección de anticuerpos contra *N. caninum* mediante la prueba de IFI. El 29,61% (90/304) presentó anticuerpos contra el parásito en una dilución de 1:200. En la zona norte el 40,83% (49/120) y en la zona sur 22,28% (41/184). A su vez, se tiene que de la totalidad de los establos evaluados presentaron al menos un animal seropositivo, lo cual estaría indicando que los animales se encuentran expuestos a una fuente de infección no determinado. (Silva *et al.*, 2002)

En un estudio se estableció la seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros criados al pastoreo de la provincia de Melgar, Puno, mediante la detección de anticuerpos séricos por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). El citado autor evaluó 419 sueros obtenidos en forma aleatoria de siete fundos ganaderos donde las

prevalencias obtenidas variaron desde 4,0% hasta 37,5%. La prevalencia general fue considerada moderada (18,1%). Todos los fundos presentaron, al menos, un animal seropositivo (Atocsa, J.,2005).

Se demostró en la Estación Experimental del IVITA-Pucallpa que la neosporosis no está, al parecer, muy difundida en el hato, pues sólo el 1,5% de los bovinos adultos presentaron anticuerpos contra el protozoo *N. caninum*. Estos autores mencionan que la escasa difusión del *N. caninum* en el hato en estudio podría ser debida a la nula introducción de animales positivos o a la ausencia de perros infectados. La baja prevalencia del parásito en la EE IVITA constituye una ventaja para la inmediata erradicación de los animales reactivos del hato y una señal de alerta para reforzar la bioseguridad, no introduciendo animales sin un previo descarte de este parásito. (Rivera *et al.*, 2004).

En el estudio realizado en la provincia de Chachapoyas (zona de selva alta), se reportó la prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en bovinos de dos distritos de la provincia de Chachapoyas, la cual fue de

40,4% (107/265). Esta diferencia puede deberse a que allí hubo introducción de animales, principalmente de Cajamarca, donde se reporta una prevalencia superior al 43%(Cabrera et al., 2000). Como se indicó anteriormente la presencia de anticuerpos indica que estos animales fueron expuestos al parásito en algún momento de la etapa pre o postnatal. Todas las ganaderías de los distritos de Molinopampa y Leymebamba de la misma provincia, tuvieron animales reactivos a *N. caninum* (Quevedo et al., 2003).

En el ámbito regional se reportó una seroprevalencia del 28%(32/115) en el sector Sama Grande del distrito de Sama-Inclán. En este estudio se obtuvieron 115 muestras sanguíneas de bovinos lecheros distribuidos por edad (2 a 4,5 < 4,5 a 7 y < 7 a 10 años) y por lugar de procedencia (Arequipa, Ite, Sama y la Yarada). A través de una prueba de IFI se determinó una seroprevalencia a *N. caninum* la cual resultó ser moderada y con un valor de 28,70%; considerando la edad de los animales se observó que los animales de < 7 a 10 años presentaron los valores más elevados de seroprevalencia (44,4%), luego los animales de

2 a 4,5 años (27,87%) y finalmente los animales de < 4,5 a 7 años (26,67%) respectivamente. De otro lado, la seroprevalencia del parásito considerando el lugar de procedencia fue de 30,00% para animales procedentes de Arequipa, 50,00% para Ite, 30,00% para Sama y ausente para la Yarada, respectivamente. Analizando la edad y la procedencia de los animales como posibles factores de riesgo, éstos no resultaron estadísticamente significativos. Por lo tanto, la edad y la procedencia no representan factores que influyeran o condicionen la presencia de la enfermedad (Cahuana J., 2006).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Lugar de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en el distrito de Ite perteneciente a la provincia de Jorge Basadre y región de Tacna, que se encuentra a una altitud de 155 msnm. La temperatura máxima es de 24°C en verano y la temperatura mínima es de 12° C en invierno. Cuenta con una humedad relativa del 70%. (Fuente: SENAMHI, 2006.)

Latitud: 17° 51' 36.3"

Longitud: 70° 57' 05.3"



3.2. Materiales

3.2.1. Material biológico

- 241 Bovinos lecheros en producción.

3.2.2. Material de campo

- Tubos Vacutainers (7 y 10 ml.)
- Agujas venoject (21 X 1 Y 21 X 1.5)
- Holders.
- Crioviales plásticos (1.5 ml) para conservación de suero.
- Pipetas de transferencia (3 ml.)
- Unidad isotérmica (cooler conservador).
- Alcohol y algodón.
- Cinta de rotulación (Masking tape).
- Marcador.
- Materiales de sujeción.
- Fichas de toma de muestras y encuestas.
- Botas y mameluco.

3.2.3. Materiales, equipos e insumos de laboratorio

- Centrífuga (3000 rpm.).
- Microscopio de inmunofluorescencia.
- Isotiocianato de fluoresceína.
- Azul de Evans
- Glicerina.
- Tubos de centrifuga
- Pipetas de 1ml, 2ml, 5ml, 10ml.
- Microplacas de 96 pocillos.
- Beakers
- Probetas de 100ml.
- Balanza analítica.
- Papel toalla.
- Solución buffer de fosfatos (PBS).

3.3. Métodos

3.3.1. Tipo de investigación

El tipo de investigación fue descriptiva – transversal o de corte.

- Se usó el método probabilístico para hallar el tamaño de muestra y muestreo de las unidades de análisis.
- Para obtener la seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros se utilizó la prueba de laboratorio de inmunofluorescencia indirecta (IFI), expresándose como positivo o negativo según los resultados obtenidos.
- Se utilizó el método estadístico prueba de independencia mediante ji-cuadrado, para verificar la asociación.

3.3.2. Método de campo

- Las muestras fueron obtenidas a través de la punción de la vena coccígea, previa desinfección de la zona y recibidas en un tubo al vacío con separador de suero. El tubo fue codificado y se registraron los datos correspondientes en la ficha de toma de muestra.
- Las muestras fueron trasvasadas en los viales dentro de las 24 horas posteriores a la toma, tiempo en que se produce la separación del suero sanguíneo.
- Los viales fueron conservados a temperatura de congelación de -20°C . hasta que fueron enviados a la Unidad Centro de Diagnóstico en Sanidad Animal-

SENASA, Laboratorio de Parasitología, en la Ciudad de Lima.

- El método de encuesta es el que se utilizó para conocer los factores epidemiológicos. Esta se realizó en el momento de la toma de la muestra.

3.3.3. Métodos de laboratorio

El método utilizado para el análisis de las muestras es la

Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI).

- Se realizó la dilución del suero problema, colocando el buffer dilutor y de suero, hasta obtener una dilución de 1:200.
- Luego se colocó 9 μ l del suero diluido, en láminas de 18 pocillos para IFI, fijada previamente con taquizoitos de *N. caninum*.
- Seguidamente, se llevó a estufa (37°C) en cámara húmeda, por 30 minutos y luego se procedió a lavarla con buffer de lavado en agitación durante 10 minutos (2 veces).
- A continuación del lavado, la lámina es secada y se colocó en cada pocillo 6 μ de conjugado, marcado con isotiocianato de fluoresceína.

- Se colocó nuevamente en la incubadora a 37°C en cámara húmeda, por 30 minutos.
- Después de transcurrido este tiempo se lavó la lámina en buffer de lavado rápidamente, luego se colocó en Azul de Evans (MERCK) durante 10 minutos (2 veces).
- La lámina nuevamente fue lavada con buffer de lavado durante 5 minutos y después con agua destilada por otros 5 minutos.
- Finalmente la lámina se seca, para adicionarle glicerina (líquido de montaje) y una laminilla cubreobjetos.
- La lectura de las láminas procesadas se realizó en el microscopio de fluorescencia con el objetivo de inmersión (100X).

Lectura de resultados

La fluorescencia completa del taquizoito, se interpretará como un resultado seropositivo, mientras que la fluorescencia parcial o ausente del taquizoito, indicará un resultado seronegativo.

3.4. Métodos de recolección de información

Los datos obtenidos para determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum*, según la prueba de inmunofluorescencia indirecta (Prueba IFI), se recolectaron como seropositivos o seronegativos, estos datos fueron registrados ordenadamente para su análisis.

Para el manejo de información se realizó la encuesta a través de un muestreo aleatorio simple para identificar los factores epidemiológicos de estudio que podrían influir en la presentación de la enfermedad.

3.5. Análisis estadístico

3.5.1. Determinación de la seroprevalencia:

Para determinar la seroprevalencia (P), los resultados se expresaron en porcentaje con su respectivo intervalo de confianza. Para estimar estos valores se usaron las siguientes fórmulas:

La seroprevalencia a la prueba, se estimó utilizando la siguiente fórmula:

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

3.5.2. Prueba estadística de Chi cuadrado.

La prueba estadística de Chi cuadrado, se utilizó para conocer la asociación de los factores de riesgo con la prevalencia de la enfermedad. La fórmula utilizada, fue la siguiente:

$$X^2 = \sum \frac{(F_o - F_e)^2}{F_e}$$

Donde:

X^2 = Chi cuadrado

\sum = Sumatoria

F_o = Frecuencia observada

F_e = Frecuencia esperada

IV. RESULTADOS

4.1. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del distrito de Ite

TABLA 1: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del distrito de Ite – Tacna

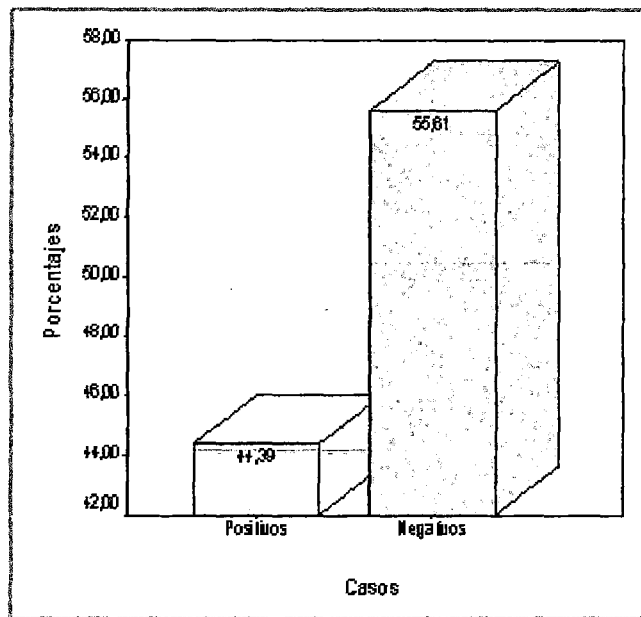
N° de muestras	Positivo		Negativo	
	N°	%	N°	%
241	107	44,39	134	55,61

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 1, se observa los resultados de seroprevalencia de *Neospora caninum* en muestras serológicas de 241 bovinos lecheros del distrito de Ite, encontrándose 107 animales positivos con una seroprevalencia de 44,39 % y 134 animales negativos con una seroprevalencia de 55,61%.

Como otro dato resaltante, debemos indicar que de un total de 26 establos en estudio, la prevalencia hato es del 84,6%.

GRÁFICO 1: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del distrito de Ite-Tacna



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 1, se observa los resultados de la seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del distrito de Ite, encontrándose una seroprevalencia positiva del 44,39% y una seroprevalencia negativa del 55,61%.

4.2. Factores epidemiológicos

TABLA 2: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite según edad.

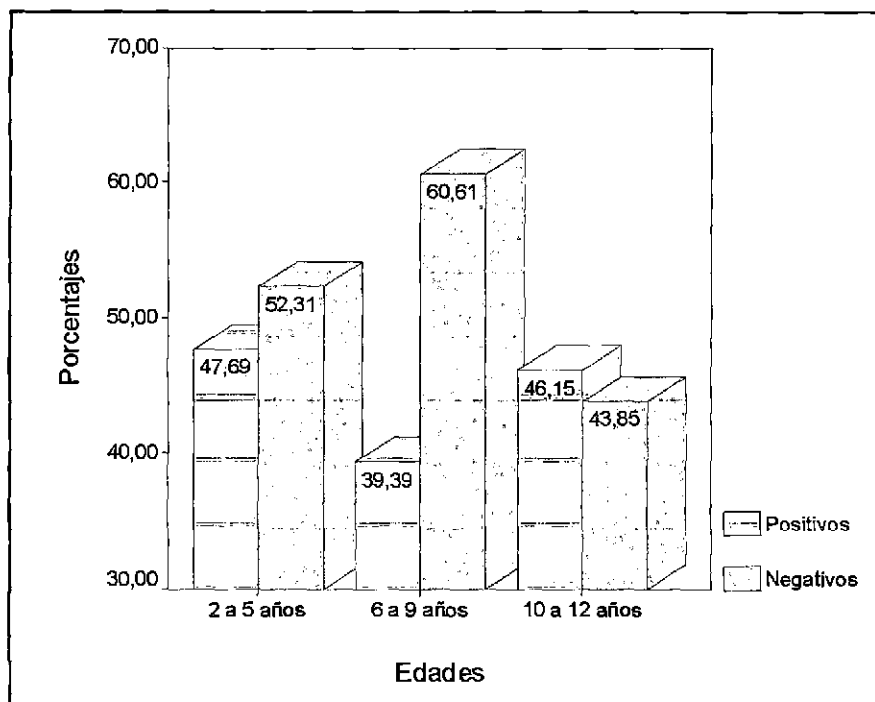
Edades	Positivos		Negativos		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
De 2 a 5 años	62	47,69	68	52,31	129	100
De 6 a 9 años	39	39,39	60	60,61	99	100
De 10 a 12 años	6	46,15	7	43,85	13	100
Total	107	44,21	134	55,79	241	100

Fuente: Elaboración propia

$$X^2 = 1,590 \quad G.L= 2 \quad P= 0,452$$

En la tabla 2, se observa los casos positivos de la seroprevalencia según edad en el distrito de Ite; 62 animales muestreados entre las edades de 2 a 5 años presentaron una seroprevalencia de 47,69%; 39 animales muestreados en edades de 6 a 9 años presentaron una seroprevalencia de 39,39%, y 6 animales entre 10 a 12 años con una seroprevalencia de 46,15%. Estos resultados sometidos a la prueba estadística de Chi – cuadrada no se encontró diferencias estadísticas, lo que nos indica que los casos positivos y negativos entre edades son similares en el distrito de Ite.

GRÁFICO 2: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del distrito de Ite según edad



Fuente: Elaboración propia

En la gráfica 2, se observa una seroprevalencia de casos positivos según edad en el valle de Ite, entre las edades de 2 a 5 años una prevalencia de 47,69 %, en la edad de 6 a 9 años 39,39%, en la edad de 10 a 12 años 46,15%.

TABLA 3: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del distrito de Ite según lugar de procedencia

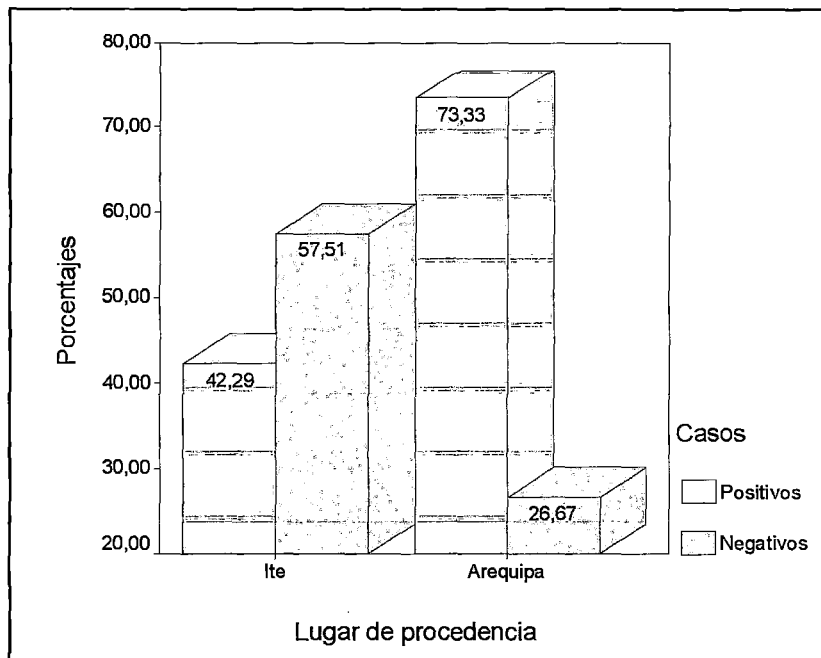
Lugar de procedencia	Positivos		Negativos		Total	
	Nº	%	Nº	%	N	%
Ite	96	42,29	131	57,51	227	100
Arequipa	11	73,33	4	26,67	15	100
Total	107	44,39	134	55,61	241	100

Fuente: Elaboración propia

$$X^2 = 5,497 \quad G.L= 1 \quad P= 0,019$$

En la tabla 3, se observa que 227 animales muestreados son procedentes de Ite, resultando 96 positivos a *Neospora caninum* con una prevalencia de 42,29% y 15 animales procedentes de Arequipa, 11 de ellos resultaron positivos a *Neospora caninum* con un prevalencia de 73,33%. A la prueba estadística de Chi – cuadrada notamos que existen diferencias estadísticas significativas por lo tanto no existen grupos homogéneos entre los lugares de procedencia.

GRÁFICO 3: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite según lugar de procedencia.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 3, se observa los resultados de la seroprevalencia según lugar de procedencia, se tiene que los bovinos lecheros procedentes del distrito de Ite presentaron una seroprevalencia positiva de 42,29 %, y los procedentes de Arequipa presentaron una seroprevalencia de 73,33%.

TABLA 4: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite según presencia de abortos.

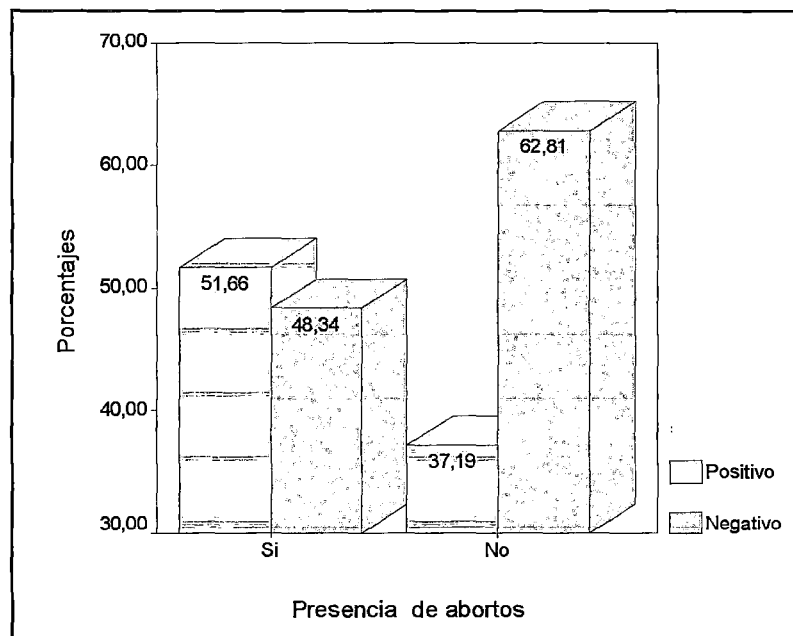
Abortos	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Si	62	51,66	58	48,34	120
No	45	37,19	76	62,81	121
TOTAL	107	44,39	134	55,61	241

Fuente: Elaboración propia

$$\chi^2 = 5,11 \quad \text{g.l.} = 1 \quad p = 0,024 \quad (p \geq 0,05)$$

En la tabla 4, se observa seroprevalencia positiva según el problema de abortos en vacas; en animales que tuvieron problemas de abortos de un total de 120; 62 fueron positivos con una seroprevalencia de 51,66% y en animales que no tuvieron problemas de abortos de un total de 121; 45 fueron positivos con una seroprevalencia de 37,19%. Estos valores sometidos a la prueba estadística de chi – cuadrado notamos que existen diferencias estadísticas, por lo tanto no existen grupos homogéneos.

GRÁFICO 4: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite según presencia de abortos.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 4, se observa la seroprevalencia de casos positivos según el problema de abortos; en los animales que tuvieron presencia de abortos se presentó una seroprevalencia positiva del 51,66% y en los animales en donde no hubieron problemas de abortos la seroprevalencia positiva fue del 37,19%.

TABLA 5: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite según tercio de gestación en que se produce el aborto.

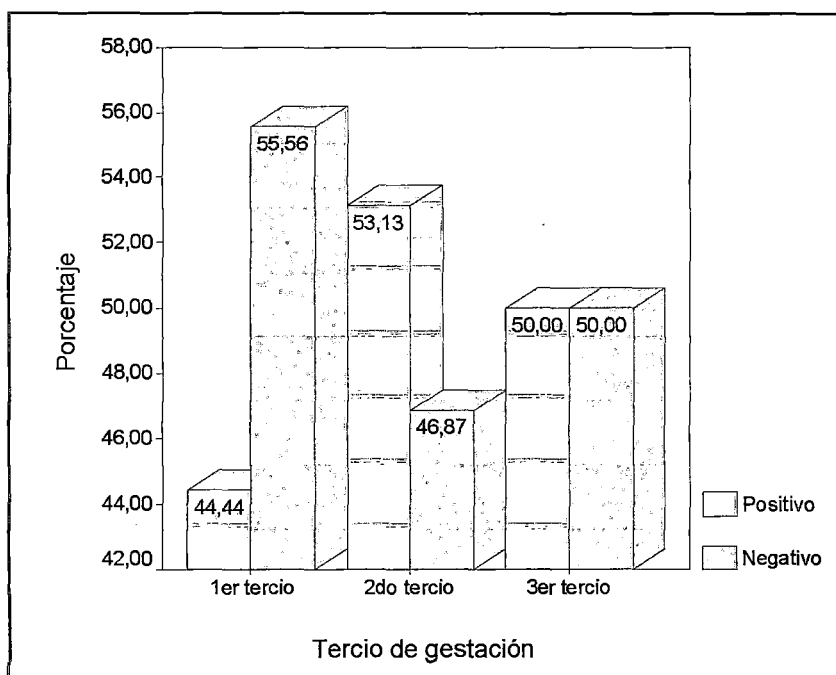
TERCIO DE GESTACION	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Primer tercio	8	44,44	10	55,56	18
Segundo tercio	51	53,13	45	46,87	96
Tercer tercio	3	50,00	3	50,0	6
TOTAL	61	50,83	59	41,17	120

Fuente: Elaboración propia

$$\chi^2 = 71,643 \quad \text{g.l.} = 2 \quad p = 0,00 \quad (p \geq 0,05)$$

En la tabla 5, observamos los casos positivos de la seroprevalencia según el tercio de gestación en que ocurrió el aborto. Así tenemos que en el primer tercio; de un total de 18 bovinos, 8 resultaron positivos con una seroprevalencia del 44,44%. En el segundo tercio se tiene que de un total de 96; 51 resultaron positivos con una seroprevalencia del 53,13%. Y en el tercer tercio se tiene que de un total de 6; 3 resultaron positivos con seroprevalencia del 50,00%. Estos valores sometidos a la prueba estadística de Chi – cuadrado notamos que existen diferencias estadísticas, por lo tanto no existen grupos homogéneos.

GRÁFICO 5: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite según tercio de gestación en que se produce el aborto.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 5, se observa una seroprevalencia de casos positivos según el tercio de gestación en que se produce el aborto; en el primer tercio una seroprevalencia del 44,44%; en el segundo tercio se tiene el 53,13% y en el tercer tercio se tiene el 50,00%.

TABLA 6: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite según presencia de canidos salvajes

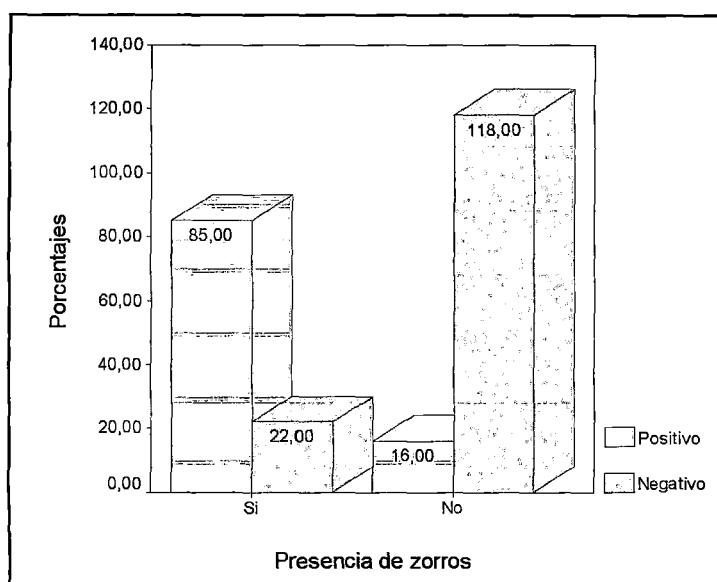
Presencia de zorros	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Si	85	84,16	16	15,84	101
No	22	15,71	118	84,29	140
TOTAL	107	44,40	134	55,60	241

Fuente: Elaboración propia

$$\chi^2 = 113,340 \text{ g.l.} = 1 \quad p = 0,00 \quad (p \geq 0,05)$$

En la tabla 6, se observa los casos positivos de la seroprevalencia según presencia de canidos salvajes; se tiene que de un total de 101 bovinos expuestos a la presencia de canidos salvajes, 85 son positivos con una seroprevalencia del 84,16% y de un total 140 bovinos que no advierten presencia de canidos salvajes, 22 resultaron positivos con una seroprevalencia del 15,71%. Estos valores sometidos a la prueba estadística de Chi – cuadrado notamos que existen diferencias estadísticas, por lo tanto no existen grupos homogéneos.

GRÁFICO 6: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite según presencia de canidos salvajes



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 6, se observa una seroprevalencia de casos positivos según la presencia de canidos salvajes, en los animales expuestos se observa una seroprevalencia positiva del 84,16% y en aquellos donde no se advierte su presencia una seroprevalencia positiva del 15,71%.

TABLA 7: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite según destino de feto y placenta

DESTINO DEL FETO Y PLACENTA	POSITIVO		NEGATIVO		TOTAL
	Nº	%	Nº	%	Nº
Los ignora	27	65,85	14	34,15	41
No los ve	17	53,10	15	46,89	32
Se los da al perro	21	37,50	35	62,50	56
Los entierra	42	37,50	70	62,50	112
TOTAL	107	44,40	134	55,60	241

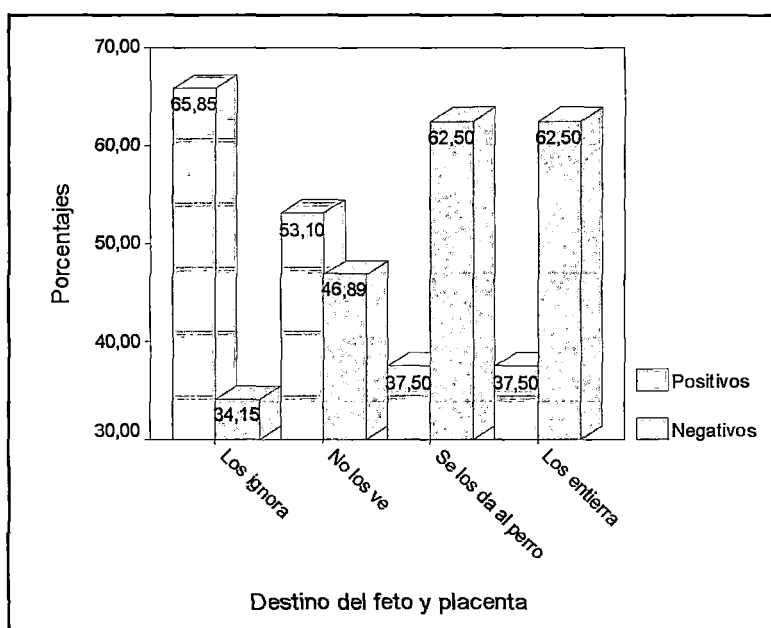
Fuente: Elaboración propia

$$\chi^2 = 12,275 \text{ g.l.} = 3 \quad p = 0,006 \text{ (} p \geq 0,05 \text{)}$$

En la tabla 8, se observan los casos positivos de la seroprevalencia según destino de feto y placenta; se tiene que para aquellos que ignoran el destino de feto y placenta de un total de 41; 27 fueron positivos con una seroprevalencia del 65,85%, para aquellos que no los ven, de un total de 32; 17 resultaron positivos con una seroprevalencia del 53,10%. También se tiene que cuando el destino directo es el perro, de un total de 56; 21 resultaron positivos con una seroprevalencia del 37,50% y para el caso en que son enterrados tenemos que de un total de 112; 42 resultaron positivos con una seroprevalencia del 37,50%.

Estos valores sometidos a la prueba estadística de Chi – cuadrado notamos que existen diferencias estadísticas, por lo tanto no existen grupos homogéneos.

GRÁFICO 7: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros en el distrito de Ite según destino de feto y placenta



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 8, se observa una seroprevalencia de casos positivos según el destino de feto y placenta, siendo del 65,85% para quienes lo ignoran, del 53,10% para los que no lo ven, 37,50% para el caso en que el destino directo es el perro y del 37,50% para el caso en que estos son enterrados.

IV. DISCUSION

Seroprevalencia general

En los resultados del presente trabajo, se observa que la seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del distrito de Ite es de 44,21%.

Nuestros resultados demostraron ser superiores a los reportados por Quevedo J. (2003) quien reporta una prevalencia del 40,4% en la provincia de Chachapoyas; por Cabrera *et al.* (2000) quien indica una seroprevalencia del 43% en Cajamarca; por Silva *et al.* (2002) quien demostró una seroprevalencia del 29% en el valle de Lima; por Atocsa J. (2005) quien estableció una prevalencia general de 18.1% en 7 fundos analizados en la provincia de Melgar, Puno; por Rivera *et al.* (2004) quienes hallaron en la estación experimental IVITA-Pucallpa una prevalencia del 1,5%; y Cahuana J. (2006) quien en Sama, Tacna reportó una prevalencia del 28 %. También se tiene a Mainar-Jaime *et al.* (1999) quien reportó una seroprevalencia de 30,6% en España, Davison *et al.* (1999) indica una seroprevalencia de 17,1% en Inglaterra, Anderson *et al.* (1994) indica seroprevalencias que van desde el 2, 17% al 38% en Estados Unidos y Gondim *et al.* (1999) quien reportó una seroprevalencia de 14,09% en Brasil.

Esto se debe a que en estos lugares de estudio existe una escasa o esporádica introducción de animales de reemplazo, a la ausencia del hospedero definitivo y debido a la inaccesibilidad de los lugares.

Asimismo nuestros resultados son inferiores a los reportados por Andresen H. (1999) quien indica una seroprevalencia del 57,5% en Arequipa, por Buxton *et al.* (1997) quien reportó una seroprevalencia del 59% en Escocia y por Morales *et al.* (2001) que menciona una seroprevalencia del 56% en México.

Esto nos indica que los animales en estas zonas de estudio, han sido expuestos al parásito y ello se originó por la introducción de animales infectados, episodios de abortos y consecuente presencia de perros infectados o canidos salvajes, el desconocimiento de la enfermedad por parte de los propietarios; lo cual estaría directamente relacionado con la epidemiología del parásito.

Factores epidemiológicos

En el distrito de Ite se encontró la seroprevalencia de los casos positivos, según los factores epidemiológicos que podrían estar influyendo en la presentación de la enfermedad.

En cuanto a la edad, nuestros resultados muestran una mayor seroprevalencia (47,69 %) entre las edades de 2 a 5 años.

Frente a nuestros resultados Paré *et al.* (1996) y Wouda *et al.* (1998), mencionan que no se observan diferencias en la seroprevalencia de la infección por *N. caninum* en relación con la edad de los animales, lo que indica que la infección en los rebaños se mantiene, principalmente, por transmisión vertical y que los fallos reproductivos deberían ser atribuibles a la infección, los cuales son inducidos por factores que estimulan la reactivación de las infecciones crónicas más que debidos a reinfecciones.

Sin embargo, otros autores han mencionado que la edad condiciona la presencia del parásito, Jensen *et al.* (1999), describieron que existe un incremento de la seroprevalencia con la edad de los animales infectados. En infecciones producidas por parásitos de la misma

familia, ha sido ampliamente reconocido que los animales de mayor edad, han tenido una mayor oportunidad de infectarse en el tiempo.

En cuanto a la procedencia, apreciamos que en los animales procedentes de Arequipa y de Ite mismo, se presentan prevalencias de 73,33% y 42,29% respectivamente.

Ello se debería probablemente a que estos animales tuvieron una mayor posibilidad de infectarse con las formas infectivas del parásito (Moore, 2005), lo cual se refleja en los valores hallados; asimismo, estudios realizados en Arequipa han denotado una seroprevalencia elevada (Andresen H., 1999), y es posible que los animales de Ite, hayan tenido orígenes de zonas de alta prevalencia. La población de vacunos de leche han tenido una mayor posibilidad de tener contacto con *Neospora caninum*, probablemente por proceder a su vez de zonas con alta presencia del parásito y asociado a bajos niveles de bioseguridad en la explotación.

En cuanto a la presencia de abortos se encontró una seroprevalencia de casos positivos del 51,16%.

Esto nos revelaría que en los establos donde han tenido problemas de abortos una de las causas sería la presencia del parásito, evidenciado por los resultados de la seroprevalencia general encontrada (44,20%).

Hay que tener en cuenta que muchas veces los abortos pasan inadvertidos para el ganadero y que solo se da cuenta de ello, cuando las vacas vuelven a presentar el celo.

Hay que hacer notar que la infección por *N. caninum* se presenta con mayor frecuencia en los rebaños con problemas de aborto y mortalidad neonatal que en las explotaciones sin antecedentes de fallo reproductivo (Ortega-Mora *et al.*, 2001). Esto se afirma con el hecho de que las vacas con anticuerpos a *N. caninum* tiene mayor riesgo de abortar que aquellas seronegativas (Thurmond *et al.* 1997).

En cuanto al tercio de gestación en que se produce el aborto, los resultados de nuestro trabajo muestran una mayor presencia de abortos en el segundo tercio con una seroprevalencia positiva del 53,13%.

Nuestros resultados son concordantes con lo expresado por Lindsay *et al.* (1996) quienes mencionan que la presencia de abortos

ocurre entre los 90 y 240 días (158 ± 10 días) de gestación, aunque hay una mayor presentación (78%), que se concentra entre los 4 y los 6 meses de gestación.

En cuanto al destino del feto y placenta, tenemos una seroprevalencia de casos positivos para el caso en que se ignora el destino es del 65,85%, en el caso en que no los ve del 53,10%, para el caso en que el destino es el perro tenemos valores del 37,50% y para el caso en que son enterrados tenemos valores del 37,50%.

Como se indica los productos de la gestación, a veces son atendidos por los ganaderos pero en muchas ocasiones ellos no los ven. En estos casos ante la presencia del hospedero definitivo; éste suele llevarse la placenta o el feto. Hay que considerar también que los ambientes en que ocurren estos partos o abortos no son los más adecuados. Todas estas situaciones se producen por el desconocimiento de la enfermedad, que hacen que el ganadero deje las secundinas a la intemperie o se los ofrezcan directamente al hospedero definitivo.

En cuanto a la presencia de perros y canidos salvajes, se tienen resultados de una seroprevalencia positiva del 84,16% para el caso de la presencia de zorros. Además se tiene la presencia de perros en todos los establos estudiados.

Hay que mencionar la estrecha convivencia de los perros con el ganado la cual favorecería la transmisión horizontal entre estas especies. Los resultados guardan relación con los estudios donde se demuestra que existe una mayor prevalencia en hatos donde hay perros presentes frente a hatos donde no los hay (Wouda et al. 1999).

Nuestros datos revelan la existencia de canidos salvajes, en este caso zorros, en la zona de estudio. Esto a su vez, es en la actualidad un motivo de investigación sobre el papel que jugarían estas especies, de hábitos carnívoros, como hospedadores definitivos de la enfermedad.

VI. CONCLUSIONES

1. La seroprevalencia de *Neospora caninum* hallada en bovinos lecheros del distrito de Ite fue de 44,39%.
2. La seroprevalencia considerando los factores epidemiológicos como la edad demostró no ser un factor influyente en la presentación de la enfermedad. Para el caso de procedencia, presencia de abortos, tercio de gestación en que se produce el aborto, destino de feto y placenta, presencia de canidos salvajes, estos si demostraron ser factores influyentes en la presentación de la enfermedad.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar nuevas líneas de investigación de otros factores de riesgo asociados a la enfermedad.
2. Realizar estudios de seroprevalencia de *Neospora caninum* en otros sectores de la misma región donde se exploten bovinos de leche y así contribuir con la confección de un mapa parasitológico.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Agerholm, J. S. y B. C. Barr. 1994. Bovine Abortions Associated with *Neospora* in Denmark. *Acta vet Scand.* 35: 461 – 464.
2. Álvarez, G. 2003. Identificación y caracterización de antígenos de *Neospora caninum* con interés inmunodiagnóstico en bovinos. Memoria presentada para optar al grado de Doctor. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.
3. Álvarez G.; E. Collantes y M. Gómez-Bautista. 1999. Control. En: Patología de la reproducción de etiología parasitaria (II) Neosporosis. Tratado de práctica veterinaria: Bovis. España. Jun (8): 69-72.
4. Anderson, M. L., Blanchard, P. C., Barr, B. C., Dubey, J. P., Hoffman, R. L., y Conrad, P. A. (1991). *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 198,241-244.
5. Andresen, H. 1999. Neosporosis en el Perú y el mundo. *Rev. Cienc. Vet.* 15: 30-31.

6. Atkinson, R. A.; R. W. Cook, L. A. Reddacliff, J. Rothwell, K. W. Broady, P. A. W. Harper y J. T. Ellis. 2000. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in dairy cattle herd. *Aust. Vet. J.* 78 (2): 262 – 266.
7. Atocsa, J. 2005. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros criados al pastoreo en la provincia de Melgar, Puno. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Fac. Medicina Veterinaria. UNMSM. Lima - Perú.
8. Barr, B. C., Anderson, M. L., Sverlow, K. W., Conrad, P. A. 1995. Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. *Vet. Rec.* 137,611-613.
9. Bergeron, N.; G. Fecteau, J. Paré, R. Martineau y A. Villeneuve. 2000. Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Québec. *Can Vet J.* 41: 464 – 467.
10. Bjerkas, I., y Dubey, J. P. 1991. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the Toxoplasma-like parasite of Norwegian dogs. *Acta Vet. Scand.* 32, 407-410.
11. Björkman, C., y Uggla, A. 1999. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. In. *J. Parasitol.* 29, 1497-1507.

12. Björkman, C.; S. Alenius, U. Emanuelsson y A. Ugglå. 2000. Neospora caninum and Bovine Virus Diarrhoea Virus Infections in Swedish Dairy Cows in Relation to Abortion. Vet J. 159: 201 – 206.
13. Buxton, D.; G. L. Caldow, S. W. Maley, J. Marks y E. A. Innes. 1997. Neosporosis and bovine abortion in Scotland. Vet. Rec. 141: 649 – 651.
14. Cabrera, M.; P. Ortiz; J. Claxton; D. Willians y A. Trees. 2000. Evidencia serológica de infección por Neospora caninum en el ganado vacuno en Perú. Res. IV Congreso Peruano de Parasitología. p: 212.
15. Cahuana, C. J. 2006. Seroprevalencia de Neospora caninum en Bovinos lecheros en el sector Sama grande del Distrito de Sama-Inclán –Tacna, Tesis para optar el título de Médico Veterinario y Zootecnista. Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Católica de Santa María. Arequipa, Perú.
16. Campero, C. M.; M. L. Anderson, G. Conosciuto, H. Odriozola, G. Bretschneider y M. A. Poso. 1998. Neospora caninum-associated Abortions in a Dairy Herd in Argentina. Vet. Rec. 143 (8): 228 – 229.

17. Cordero del Campillo, M.; F. Rojo; A. Martínez; M. Sánchez; S. Hernández; I. Navarrete; P. Diez; H. Quiroz; y M. Carvalho. 1999. Parasitología Veterinaria. p.665-672. Ed. Mc Graw-Hill. España
18. Davison, H. C.; N. P. French y A. J. Trees. 1999. Herd – specific and age – specific seroprevalence of *Neospora caninum* in 14 british dairy herds. *Vet Rec.* 144: 547 – 550.
19. Del Campo, J. 2003. Frecuencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros del valle de lima. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Fac. Medicina Veterinaria. UNMSM. Lima - Perú.
20. Dubey, J. P. 1999. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214. 1160-1163.
21. Dubey, J. P., Lindsay, D. S. 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 67, 1-59.
22. Echaide, I. ; B. S. Valentini. 2000. La neosporosis bovina en los rodeos lecheros de la cuenca central Argentina. *Chacra* 832: 130.
23. Espartaco S. et al. 2005. La neosporosis bovina: una enfermedad parasitaria abortígena.

24. Gondim, L. F. P.; I. F. Sartor, M. Hasegawa y I. Yamane. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet Parasitol.* 86: 71 – 75.
25. Holmdahl, O. J.; J. G. Mattsson, A. Uggla y K. E. Johansson. 1994. The Phylogeny of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* Based on Ribosomal RNA Sequences. *FEMS Microbiol Lett.* 119: 187 – 192.
26. Innes, E. A, Wright, S. E., Maley, S., Rae, A, Schock, A, Kirvar, E., Bartley, P., Hamilton, C., Carey, I. M., Buxton, D. 2001. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.* 31, 1523-1534.
27. Kim, J. H.; H. J. Sohn, W. S. Hwang, E. K. Hwang, Y. H. Jean, I. Yamane y D. Y. Kim. 2000. In vitro isolation and characterization of bovine *Neospora caninum* in Korea. *Vet Parasitol.* 90 (1-2): 147 – 154.
28. Klein, F.; S. K. Hietala, H. Berthet, P. Very y D. Gradinaru. 1997. *Neospora caninum*: enquête sérologique sur les avortements des bovins normands et charolais. *Le Point Vét.* 28 (183): 1283 – 1286.
29. Lindsay, D.S., Dubey, J.P., and Blagburn, B.L., Finding the causes of parasite induced abortion in cattle. *Vet. Med* 91 (1): 64-71, 1996.

30. Lindsay, D. S. y Dubey, J. P. 1990. Effects of sulfadiazine and amprolium on *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) infections in mice. *J. Parasitol.* 76, 177-179.
31. Mainar – Jaime, R. C.; M. C. Thurmond, B. Berzal – Herranz y S. K. Hietala. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet Rec.* 145: 72 – 75.
32. Moore D. 2005. *Neosprosis bovina*: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación.
33. Ooi, H. K., Huang, C. C., Yang, C. H., Lee, S. H. 2000. Serological survey and first finding of *Neospora caninum* in Taiwan, and the detection of its antibodies in various body fluids of cattle. *Vet. Parasitol.* 90,47-55.
34. Packham, A. E.; K. W. Sverlow, P. A. Conrad, E. F. Loomis, J. D. Rowe, M. Anderson, A. E. Marsh, C. Cray y B. C. Barr. 1998. A Modified Agglutination Test for *Neospora caninum*: Development, Optimization, and Comparison to the Indirect Fluorescent-Antibody Test and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 5 (4): 467 – 473.

35. Paré, J., Thurmond, M. C., Hietala, S. K. 1996. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhoo mortality. *Can.J.Vet.Res.* 60, 133-139.
36. Quevedo, J. 2003. Neosporosis en bovinos lecheros en dos distritos de la Provincia de Chachapoyas. Tesis para optar el título de Médico Veterinario. Fac. Medicina Veterinaria. UNMSM. Lima – Perú.
37. Rivera G., Hermelinda, Benito Z., Alfredo, Ramos c., Olger. 2004. Prevalencia de enfermedades de impacto reproductivo en bovinos de la Estación Experimental de Trópico del Centro de Investigaciones IVITA. *Rev. Investig. Vet. Perú.* Vol. 15, no. 2.
38. Rojas C. M. 2004. Neosporosis de los rumiantes domésticos peruanos. Lima, Perú. Pág. 128-131.
39. SENAMHI, 2006. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrografía. Estación Tacna.
40. Silva, P.; A Chávez; H. Rivera y E. Casas. 2002. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del valle de Lima. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 13: 51-55.
41. Thilsted, J. P. Y Dubey, J. P. 1989. Neosporosis-like abortions in a herd dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1,205-209.

42. Thurmond, M.C., Hietala, S. and Blanchard P.C. 1997. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum* induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 9: 44-49.
43. Wouda, W.; C. J. M. Bartels y A. R. Moen. 1999. Characteristics of *Neospora caninum* – Associated Abortion Storms in Dairy Herds in the Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology*. 52: 233 – 245.

IX. ANEXOS

