

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

SEROPREVALENCIA DE *Neospora caninum* EN VACUNOS LECHEROS
DEL DISTRITO DE INCLAN DEL VALLE DE SAMA REGIÓN
TACNA - 2009.

TESIS

Presentado por:

Bach. ESTHER CONTRERAS CALISANA

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

TESIS

“SEROPREVALENCIA DE *Neospora caninum* EN VACUNOS LECHEROS


DEL DISTRITO DE INCLAN DEL VALLE DE SAMA, REGIÓN

TACNA - 2009”.

SUSTENTADA Y APROBADA EL 7 DE OCTUBRE DEL 2011, SIENDO EL

JURADO CALIFICADOR:

PRESIDENTE:



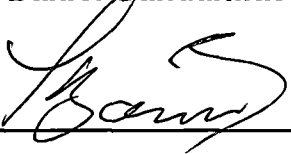
MSc. Juan Nicanor Castro Cancino.

SECRETARIO:




MSc. Daniel Gandarillas Espezua.

VOCAL:



MVZ. Luis Alberto Barrios Moquillaza.

ASESOR:



MSc. Hugo Flores Aybar.

DEDICATORIA:

A Dios por haberme dado la oportunidad de terminar este trabajo de investigación.

A mis queridos padres Isidro y María por su apoyo incondicional y a mis queridas hermanas Elisa, María y Anita por estar a mi lado demostrándome su amor.

A mi esposo Wilfredo Cano por su amor y comprensión y a mi querida hija Katherine por ser motor y motivo de mi vida.

AGRADECIMIENTO:

Al Dr. Hugo Flores Aybar por su contante apoyo e infinita paciencia para la realización del presente trabajo.

A mis queridas amigas Gilma, Rocio, Corina, Maribel y mi amigo Jonathan por su apoyo constante y desinteresado en el proceso del presente trabajo.

CONTENIDO

RESUMEN

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	5
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
IV. RESULTADO.....	61
V. DISCUSIÓN.....	77
VI. CONCLUSIONES.....	84
VII. RECOMENDACIONES.....	86
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	87

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA I:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros del Distrito Inclan, Región Tacna a través de la Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).....	61
TABLA II:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según edad.....	63
TABLA III:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros Según Procedencia.....	65
TABLA IV:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según la presencia y ausencia de caninos.....	67
TABLA V:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según curso de gestación.....	69
TABLA VI:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según fetos momificados.....	71
TABLA VII:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según en que tercio de gestación se presenta el aborto.....	73
TABLA VIII:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según el destino de la placenta.....	75

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros del Distrito Inclán, Región Tacna a través de la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).....	62
GRÁFICO 2:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según edad.....	64
GRÁFICO 3:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según procedencia.....	66
GRÁFICO 4:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según la presencia y ausencia de caninos.....	68
GRÁFICO 5:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según curso de gestación.....	70
GRÁFICO 6:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según fetos momificados.....	72
GRÁFICO 7:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según en qué tercio de gestación se presenta el aborto.....	74
GRÁFICO 8:	Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en vacunos lecheros según el destino de la placenta.....	76

RESUMEN

Los problemas reproductivos en el ganado bovino lechero, producidos por el parasito de *Neospora caninum*, son de gran impacto económico en el ámbito nacional. El objetivo del presente estudio de investigación fue determinar la seroprevalencia de la *Neospora caninum* en vacunos lecheros del distrito Inclán – Valle de Sama en la Región de Tacna, 2009. Para lo cual se obtuvieron 230 muestras sanguíneas de vacunos lecheros distribuidos por edades, procedencia y factores epidemiológicos, para la detección de *Neospora caninum* se utilizo la Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI).

De acuerdo a los resultados se encontró una seroprevalencia general de 47,82 % (230 bovinos muestreados). La mayor seroprevalencia según edad es 66,67 % a los 8 años y 25 % a los 2 años respectivamente. Además la seroprevalencia según el lugar de procedencia es 56 % provenientes de Arequipa, seguido de 49,74 % de bovinos provenientes de la zona de Inclán. Además en relación a los factores epidemiológicos, según curso de gestación la presencia de abortos con 51,68 % de seroprevalencia y según el destino de las

placentas la mayor seroprevalencia es 57,95 % de los productores que dejan a la intemperie, por lo cual se hace presumible la persistencia de la enfermedad en la zona de estudio.

I. INTRODUCCIÓN.

La ganadería lechera en el país atraviesa en los últimos años una serie de problemas que afectan la economía de los ganaderos. De todos los problemas existentes, los que producen mayores pérdidas económicas a nivel mundial son las fallas reproductivas, dentro de las que destacan los abortos, producidos por agentes infecciosos de diversa etiología son los causantes de la gran mayoría de las enfermedades (Anderson et al., 1997).

La causa de infertilidad, en una unidad de producción bovina se le atribuye por lo general a las hembras, ya que de ellas dependen la producción. Los problemas infecciosos que interrumpen la gestación ocasionan cuantiosas pérdidas en los hatos lecheros (Rivera, 2001).

Estudios recientes indican que *Neospora caninum* se viene convirtiendo en un agente parasitario de gran importancia en el Perú, según los estudios de prevalencia realizados en las diversas cuencas lecheras (Rivera, 2001). En el país, la mayoría de investigaciones relacionadas a seroprevalencia de *Neospora caninum* han sido realizadas

en explotaciones de tipo intensiva establecidas en la costa peruana (Moreno et al., 1998). No obstante que en algunos países la información es todavía escasa.

Según reportes precedentes se ha hallado la presencia de *Neospora caninum* en diferentes zonas donde crían y explotan ganado bovinos en nuestro país y considerando que este parasito esta relacionada directamente con la presencia de abortos, afectando directamente el estado sanitario del hato, es de singular importancia realizar estudios para determinar la presencia en bovinos lecheros del distrito Inclán del Valle de Sama.

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de conocer la presencia de parásitos en la zona de estudio y facilitar información a las diferentes instituciones públicas y privadas involucrada en la problemática ganadera de esta manera realizar programas de control y erradicación. Por lo tanto, los resultados del presente trabajo de investigación servirá para la toma de medidas preventivas y de control por parte del SENASA - Tacna y por los productores ganaderos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general.

Determinar la seroprevalencia de la *Neospora caninum* en vacunos lecheros del distrito Inclán –Valle de Sama en la región de Tacna, 2009.

1.1.2 Objetivos específicos.

1. Determinar la seroprevalencia de la *Neospora caninum* en vacunos lecheros según edad, en el distrito de Inclán – Valle de Sama de la región de Tacna.
2. Determinar la seroprevalencia de la *Neospora caninum* en vacunos lecheros según procedencia, en el distrito de Inclán – Valle de Sama de la región de Tacna.
3. Identificar factores epidemiológicos que condicionan la presentación de la *Neospora caninum* en vacunos lecheros en el distrito de Inclán – Valle de Sama de la región de Tacna.

1.1.3 Hipótesis.

La seroprevalencia de *Neospora caninum* en el ganado vacuno lechero del distrito Inclán del Valle de Sama es mayor a 23 %. Siendo los factores epidemiológicos; la presencia de caninos en el hato, procedencia de animales de otros lugares y desconocimiento de la enfermedad.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 *NEOSPORA CANINUM*.

2.1.1 Etiología.

El *Neospora caninum* es un protozoo intracelular obligatorio que se ha confundido previamente con el *Toxoplasma gondi* (Merck, 2000). La enfermedad se descubrió en Noruega en 1984 en perros (Bjerkas et al, 1984). El parásito fue descrito y denominado *N. caninum* por (Dubey et al, 1988) y en 1989, Thilsted y Dubey asocian *Neospora* con un brote de abortos en vacunos de Nuevo México. Desde entonces *Neospora* ha sido descrito en vacunos de muchos países, e incluso en otras especies como ovejas, cabras, búfalos de agua, caballos, ciervos, camellos, coyotes, zorros (Rojas, 2004) de manera experimental a gatos, jerbos (Dubey, 1999b), primates no humanos (Barr et al, 1994) y cerdos (Jensen et al, 1998) Este protozoo provoca alteraciones neuromusculares en el perro y aborto en el ganado bovino (Ortega-Mora et al., 1999).

2.1.2 Taxonomía: (Dubey et al.1988).

Reino : Protista

Subreino: Protozoo

Phylum: Apicomplexa

Clase: Sporozoasida

Subclase: Coccidiasina

Orden: Eucoccidia

Suborden: Eimeriorina

Familia: Sarcocystidae

Género: *Neospora*

Especie: *Caninum*

2.1.3 Clasificación (Aycachi R, 2005).

- De acuerdo al ciclo de vida: Es heterogéneo ya que parasita tanto al perro como a los vacunos, ovinos, caprinos.
- De acuerdo al rango del hospedero: Es eurígeno ya que parasita tanto al perro como a vacunos, ovinos, caprinos.
- De acuerdo a su comportamiento: Es obligatorio periódico, ya que el hospedero definitivo (perro) expulsa en las heces ooquistes inmaduros y estos maduran en el ambiente en un periodo de 1 a 3 días, o sea no cumple con todo su ciclo dentro del hospedero.

- De acuerdo al tipo de reproducción: Es heterogéneo ya que realiza un ciclo de reproducción asexual en el huésped intermediario y un ciclo sexual en el huésped definitivo.

2.2 CICLO BIOLÓGICO.

Se determinó que el perro es el hospedero definitivo de este parásito y son ellos los que diseminan al medio ambiente los ooquistes no esporulados (McAllister et al, 1998).

Estos ooquistes se hacen infectivos al esporular en el medio ambiente a las 24 horas. Los ooquistes esporulados al ser ingeridos por algún animal hospedero llegan al tracto intestinal liberando los esporozoítos y estos penetran en las células entéricas transformándose en taquizoítos (Lindsay et al, 1999a).

El perro actúa como hospedero intermediario y hospedero definitivo, desarrollando las fases de reproducción asexual (merogonia) y sexual (gametogonia), respectivamente; luego de ingerir los quistes tisulares con bradizoítos (infección transversal) que son encontrados en la placenta,

fetos u órganos de bovinos y otras especies con *Neospora caninum*. Consecuentemente en las heces los perros excretan los Ooquistes inmaduros, que luego de unos pocos días esporulan y entonces están listos para infectar a otros animales (Echaide I, 2000)

El perro consume tejidos de animales infectados con neospora caninum, desarrollando a nivel intestinal la fase sexual del parásito, lo cual conlleva a la eliminación del ooquiste al medio ambiente, mezclados con las excretas. Los ooquistes esporulan en un período de 1 a 3 días y son consumidos, mezclados con los alimentos y el agua de bebida, por los hospederos intermediarios (bovinos, ovinos, caprinos y camélidos). En el hospedero intermediario es donde se desarrolla la fase asexual del parásito, con la liberación de esporozoitos, que luego penetran a las células entéricas transformándose en taquizoitos (replicación rápida), que son diseminados en diversas células (células nerviosas, hepáticas, miocitos, fibroblastos, células epiteliales de los túbulos renales y placenta). Posterior a la diseminación de los taquizoitos se realizan la formación de los bradizoitos (replicación lenta) los cuales son enquistados en los denominados “quistes tisulares” y siendo la localización principal el tejido nervioso. Siendo la ingestión de quistes tisulares el reinicio al ciclo en el hospedero definitivo (McAllister et al., 1998; Dubey, 1999a).

2.2.1 Fases Evolutivas.

a) Taquizoitos.

Los taquizoitos se dividen por endodiogénesis en forma rápida. Miden aproximadamente de 3 - 7 um de longitud, tiene entre 6 -16 roptries y en algunos casos presentan entre 4 - 6 roptries localizados en la parte posterior del núcleo, raramente se observa un microporo. Son de forma ovoide, semilunar o globosa (Aycachi R. 2005).

Es uno de los tres estados infecciosos de *Neospora caninum* y se encuentra en el hospedero intermediario, 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, fibroblastos, células endoteliales, miocitos, hepatocitos (Dubey et al., 1988).

b) Bradizoitos.

Los bradizoitos se dividen por endodiogenesis, en forma lenta, encontrándose dentro de los quistes tisulares. Miden aproximadamente 7- 8 um, contiene los mismos organelos que el taquizoito, presentan un

número menor de trofozoitos. Morfológicamente son similares a los taquizoitos (Aycachi R. 2005).

c) Quistes.

Es un estado que se encuentra en el hospedero 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 encontramos los trofozoitos, aproximadamente miden de 50-500 μm . Su pared es lisa y gruesa (4 μm) (Aycachi R. 2005).

d) Ooquistes.

- No esporulados: Son los eliminados en las heces del hospedador definitivo son esféricos o subesféricos, miden 10 a 11 μm (Barriga O. 2002).
- Esporulados: Los ooquistes esporulados, son los que después de tres días en el medio ambiente contienen dos esporoquistes con cuatro esporozoitos cada uno, son morfológicamente similar a los ooquistes de *T.gondii* y *Hammondia* en el perro (Aycachi R. 2005).

2.3 EPIDEMIOLOGÍA.

Aunque, inicialmente la Neosporosis fue descrita en 1988 como una enfermedad neuromuscular grave en el perro, el descubrimiento de *Neospora caninum* como agente causal de aborto en ganado bovino de leche y carne llevó a la realización de diferentes estudios sobre la enfermedad en esta especie (Dubey, 1999b), es así que se ha determinado que los problemas reproductivos en el ganado bovino lechero producidos por *Neospora caninum* han sido reportados alrededor del mundo y en los Estados Unidos de Norteamérica y es la que mayor causa aborto en ganado lechero con prevalencias que van desde 2,17 % a 38 % (Anderson et al, 1994).

a) El Parásito.

El *N. caninum* es un protozoario que podría haber sido confundido en reiteradas ocasiones por su similitud con *Toxoplasma gondii* (Bjerkas et al., 1984). Siendo estos dos géneros diferentes y antigénicamente distintos.

N. caninum es el agente etiológico causante de abortos y morbilidad neonatal en vacunos (Liddell et al., 1999). La adquisición de infección congénita puede persistir en terneras o vaquillas clínicamente sanas pero

portadoras de por vida de la neosporosis pudiendo transmitirse la infección transplacentariamente de generación en generación a su descendencia aun sin la presencia del hospedero definitivo (Anderson et al., 1997).

b) Hospedero.

Se ha demostrado que el perro es el hospedero definitivo del parásito (Lindsay et al., 1999a) pudiéndose convertirse así en un diseminador de la infección tanto en el ganado vacuno como en otras especies mediante la dispersión de los ooquistes sin esporular, también se ha comprobado que la seroprevalencia para neosporosis tiende a ser mayor en explotaciones donde el hospedero definitivo convive con el ganado vacuno (Paré et al., 1998) lo que estaría indicando la importancia del rol de los perros en la diseminación de la neosporosis en el ganado vacuno (Wouda et al., 2000; Anderson et al., 2000).

c) Medio Ambiente.

Los ooquistes son la fase biológica del *Neospora caninum* directamente influenciado por el medio ambiente. Estos salen a través de las heces de los perros y esporulan en el medio ambiente 24 horas

después de haber sido eliminados, en ese momento presentan dos esporoquistes cada uno con cuatro esporozoitos. Los ooquistes en las heces del perro contaminan los campos de pastoreo, la comida almacenada y el agua que consumen los bovinos, en este momento la transmisión de la infección vía oral dependerá de la viabilidad de los ooquistes en el medio ambiente. En este caso la infección de los animales en zonas templadas y los abortos por esta causa serían más frecuentes durante los meses de otoño-invierno ya que probablemente la viabilidad de los ooquistes en el medio disminuiría notablemente durante la estación seca y cálida. (Cornejo et al., 2004; Fort M. 2003).

d) Factores de riesgo.

- **Presencia del hospedero definitivo.-** El perro y coyote por ser hospederos definitivos del *N. caninum* (McAllister et al., 1998; Lindsay et al., 1999b; Gondim et al., 2004), representan gran importancia en la transmisión horizontal de la infección. Por ello se indica que existe asociación entre la presentación de *N. caninum* en hatos con problemas de aborto y la presencia de perros (Barling et al. 2000; Corbellini et al., 2002; Ståhl, 2006). Asimismo se menciona que un perro puede eliminar más de 500,000 ooquistes después del consumo

de tejido infectado pudiendo infectar potencialmente a cientos o miles de vacas (Gondim et al., 2002; Gondim, 2006).

- **Sexo.-** Las hembras son mas importantes en cuanto el mantenimiento en el hato de la neosporosis, debido a que los estudios realizados demuestran que la infección por *Neospora caninum* es más frecuente en rebaños de aptitud lechera que los de aptitud cárnica (Moore et al., 2001; Dubey, 2003).
- **Edad de la madre.-** Estudios realizados en novillas y vacas, muestran que existe mayor repercusión en novillas, ante la infección por *N. caninum* (Dijkstra et al., 2003). En base a esto, se menciona que la magnitud de infección por *N. caninum* es mas evidente en novillas y decrece con el numero de partos, lo que sugiere que la inmunidad protectora materna incrementa con la edad (Dijkstra et al., 2003; Ståhl, 2006). Sin embargo, también se menciona que el riesgo de volverse seropositiva puede incrementar con la edad o el número de gestaciones tanto en ganado de carne como de leche (Jensen et al., 1999; Dyer et al., 2000; Sanderson et al., 2000).

- **Aborto.-** La neosporosis es considerada uno de los mayores problemas en los establos, por causar mortalidad fetal y neonatal (Wouda et al, 1997, Anderson et al, 1995) reportaron que 42 % de abortos en California fueron debidas al *N. caninum* y en hatos de Gran Bretaña y Nueva Zelanda, las tasa de aborto anual fueron de 16 y 30 % respectivamente (Dannat et al., 1995; Thornton et al., 1991). Los abortos en el ganado debido a *N. caninum*, se reportan en fetos de aproximadamente 3.5 meses de gestación a término (Dubey et al., 1997; Slotved et al., 1999).
- **Gestación.-** La infección con *N. caninum* en grupos de vacas gestantes, es fácilmente adquirida debido a que la regulación inmune se encuentra suprimida durante esta etapa (Quinn et al., 2002). En estos casos, se asume que la infección fetal es adquirida posterior a la parasitemia maternal. Sin embargo, se menciona que más infecciones ocurren en vacas que presentaban infección persistente, que las que entraban en gestación (Buxton et al 2002).
- **Transmisión lactogénica.-** Un reciente estudio realizado en el 2007, evidenció la presencia de ADN de *N. caninum* en el calostro de vacas seropositivas, lo cual implica la posibilidad de transmisión a través del

calostro (Moskwa et al., 2007). Asimismo, estudios experimentales han demostrado que terneros neonatales pueden infectarse por la ingestión de leche conteniendo taquizoitos (Uggla et al., 1998; Davison et al, 2001).

- **Inmunosupresión, debido a enfermedades infecciosa.-** El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) pertenece a la familia Flaviviridae, y una de las importancias de este virus es la inducción de inmunosupresión e incrementó de susceptibilidad a otros patógenos (Stahl, 2006), como el *N. caninum*. En estos casos las infecciones por *N. caninum* afectan significativamente el riesgo de aborto en los hatos con presencia de BVDV (Hässig y Gottstein, 2002).
- **Introducción de ganado nuevo en el hato y el descarte serológico de Neospora.-** Aún cuando la literatura indica que se debe realizar el descarte serológico de algunas enfermedades en el ganado nuevo que ingresa a un hato, como BVDV, BHV-1, Brucelosis y *N. caninum*, entre otros, la poca previsión de muchos ganaderos así como de la falta de una norma técnica que imponga este diagnóstico como práctica rutinaria para la introducción o importación de nuevos

animales, sean factores que permiten la introducción de *Neospora caninum* en la ganadería nacional.(Rodríguez, 2009)

Es probable que la presencia de *N.caninum*, en el ganado bovino, posiblemente se deba a la introducción del parásito en el ganado importado. Se conoce que un gran porcentaje de los animales para engorde provienen de importaciones desde los países fronterizos. Tal es el caso de Ecuador quien según datos del Servicio de Atención al Usuario (SAU) del SENASA, registra la mayor importación de ganado de engorde, siendo a la vez reportado por Lozada (2004), que ganado bovino de Ecuador presenta una elevada prevalencia a *Neospora* (50 - 60 %).

Por tanto, es probable que el ingreso de la enfermedad o del parásito se deba a la importación de ganado en nuestro país, el cual en el caso de ganado de engorde, en los puestos fronterizos, no se exige la presentación de certificado alguno que constate la reacción negativa al parásito, ya que este es destinado al beneficio.

2.3.1 Vías de transmisión.

a) Horizontal.

La infección postnatal en el perro tiene lugar por ingestión de los tejidos de bovinos infectados (fetos abortados y placentas), calostro o leche de origen bovino contaminado con taquizoitos de *N.caninum* la infección causa la eliminación de los ooquistes en las heces del perro. Se ha señalado la presencia de *Neospora caninum* en la placenta demostrando la eliminación de ooquistes en las heces de perros alimentados con placentas de vacas seropositivas. La presencia de ooquistes en perros naturalmente infectado se ha informado en escasas ocasiones. La infección por transmisión horizontal del ganado bovino adulto tiene lugar luego que el hospedero definitivo elimina ooquistes que contaminan pastos, forrajes, agua de bebida y piensos almacenados. (Fort, M., 2003).

Se ha demostrado que terneros de hasta una semana de edad pueden ser infectados experimentalmente por vía horizontal mediante la administración de calostro infectado con taquizoítos de *N. caninum*, pero no al no ser ésta una vía natural no tendría tanta importancia en el ganado vacuno (Davison et al.,2001)

b) Vertical.

La transmisión vertical transplacentaria es la principal vía de infección en el ganado bovino, siendo la forma de propagación y mantenimiento de la enfermedad, la transmisión de madre a hija fue sugerida como la principal vía por varios autores. (Schaes et al. 1998) demostraron que *Neospora caninum* puede ser mantenida por varias generaciones en un nivel constante de prevalencia aparentemente sin la necesidad de dispersión de un hospedero definitivo, a través de la ruta transplacentaria.

Una vez adquirida la infección (en útero o desde el medio), los animales permanecen infectados probablemente de por vida y pueden transmitir la infección a su descendencia en distintas gestaciones, consecutivas o no, con porcentajes que oscilan entre el 50 % y el 95 %. (Fort, M., 2003).

2.4 PATOGENIA.

La vía transplacentaria es el principal modo de contagio de la enfermedad natural en bovinos. Una vez dentro del organismo los taquizoitos penetran las células por invasión activa y se localizan en el citoplasma dentro de una vacuola parasitófora, pudiendo variar en número dentro de una misma célula hospedera (Hemphill et al, 1996) y logrando mediante este mecanismo localizarse intracitoplasmáticamente en los primeros cinco minutos de contacto (Dubey y Lindsay, 1996), *Neospora caninum* presentan un mayor tropismo por las células del sistema nervioso central, células musculares esqueléticas, cardíacas y células endoteliales (Ortega-Mora et al, 2001).

La multiplicación activa del parásito por división intracelular destruye las células parasitadas y produce focos de necrosis rodeados de áreas de inflamación no purulenta. Los focos necróticos localizados en músculos y tejido nervioso serían los responsables de la aparición de alteraciones neuromusculares (Cebrian et al, 2000), debido a que el parásito al destruir neuronas y astrositos impide la transmisión del impulso nervioso (Dubey y Lindsay, 1996). Los abortos serían causados por la placentitis, los focos necróticos en los cotiledones y las lesiones necróticas e inflamatorias en el sistema nervioso central y en el corazón del feto (Cebrian et al, 2000).

2.5 INMUNIDAD.

Es conocida la existencia durante la preñez de inmunosupresión específica (Linfocitos T y B) que hacen a las vacas gestantes más vulnerables a la acción de agentes infecciosos, los linfocitos T supresores que inhibirían a los linfocitos T helper, por lo tanto disminuiría la respuesta a los antígenos que dependen de ellos, entre otros factores esta inmunosupresión sería generada por la alta concentración de progesterona que es normal durante la preñez y es agravada en la etapa próxima al parto por la alta producción de corticoides tanto fetales como maternas.

2.6 SIGNOS CLÍNICOS.

El aborto es el único signo clínico observado en hembras gestantes infectadas y puede ocurrir entre el tercer mes hasta el final del período de gestación, sin embargo la mayoría de las pérdidas se producen entre el quinto y sexto mes; además se sabe que hembras con anticuerpos contra *N. caninum* son más predispuestos a abortar que las seronegativas (Anderson et al., 1991; Dubey, 2003).

En los primeros meses de gestación la infección prenatal podría producir la muerte del embrión o feto con su posterior reabsorción o también podrían presentarse abortos con expulsión del feto en estado autolítico o momificado sin que esto traiga como consecuencia retención de la placenta ya que esta se expulsa con el feto, se deberá tener en cuenta que después del aborto la vaca puede volver a entrar en celo (Anderson et al., 1994; Ortega et al., 2001).

Por otro lado, los terneros nacidos vivos e infectados congénitamente, presentan bajo peso al nacimiento, y signos neurológicos (Barr et al., 1991; Dubey y Lindsay, 1996), mostrando al examen clínico durante las primeras semanas de vida que irían desde incoordinación ligera hasta una parálisis completa, debilidad, o incapacidad para levantarse (Anderson et al., 1994; Dubey, 1999), falta de crecimiento, ataxia, flexión o hiperextensión de miembros anteriores y posteriores, disminución del reflejo patelar o falta de sensibilidad propioceptiva, exoftalmia o asimetría ocular (Campero et al., 1998; Dubey, 1999b).

2.7 LESIONES

Se observa inflamación del sistema nervioso central (SNC), cerebro y médula espinal. En el cerebro la inflamación se distribuye multifocalmente, con zonas de necrosis y atrofia, observando además una meningitis, meningoencefalomielitis no supurativa multifocal, además de gliosis focal asociado a cuadros de malacia alrededor de los quistes tisulares (Cantile y Arispici, 2002).

Las lesiones como tal se localizan principalmente en el feto abortado y en la placenta, los adultos aunque estén infectados no manifiestan lesiones evidentes, la encefalitis no supurativa multifocal representaría el hallazgo histopatológico más frecuente (Conraths y Schares, 1999; Lorenzo et al., 2002).

Como consecuencia de la transmisión transplacentaria en los fetos se desarrollan lesiones inflamatorias y degenerativas que aparecen de manera constante en las membranas fetales, cerebro, médula espinal, corazón y esporádicamente en pulmones y riñones (Bildfell et al., 1994). Las lesiones en el tejido nervioso se caracterizan por la presencia de focos de necrosis rodeados por células de glia y abundante infiltrado

perivascular de mononucleares, el cuadro histopatológico viene definido por una encefalomiелitis multifocal no purulenta (de Meerschman et al., 2002). En la placenta y el miocardio son frecuentes las grandes áreas de infiltración y de necrosis difusas, la acción conjunta de la meningoencefalitis, miocarditis y placentitis determina en la mayoría de los casos la muerte del feto (Cordero del Campillo y Rojo Vázquez, 1999).

2.8 IMPACTO ECONÓMICO.

Las pérdidas económicas en el ganado vacuno estarían relacionadas con el descenso de la producción láctea, el incremento de la mortalidad perinatal (Cordero del Campillo, 1999), la eliminación de animales en un hato (Thurmond y Hietala, 1996) y la reducción del valor de venta del ganado sospechoso de tener la infección (Trees et al., 1999) entre otras consecuencias.

Considerando el impacto económico de la neosporosis en la ganadería lechera existe una necesidad urgente de desarrollar medidas de control dirigidas a prevenir su transmisión así como reducir la severidad de la enfermedad (Nishikawa et al., 2002; Rivera, 2001).

2.9 DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico se basa en la historia clínica, signos clínicos, epidemiología, histopatología, así como las pruebas serológicas y no serológicas (Rodríguez, 2009).

2.9.1 Diagnóstico Epidemiológico y Clínico.

Los datos relativos a la explotación y su entorno y el manejo del rebaño (sistema de explotación, dieta, historial reproductor, sacas introducción de nuevos animales, tratamientos y vacunaciones, presencia de perros, etc.), la historia clínica de la enfermedad puede facilitar la emisión de un diagnóstico acertado. En los rebaños infectados por *N. caninum*, los abortos se producen tanto en novillas como en vacas y pueden presentarse de forma esporádica, endémica o epidémica en cualquier época del año. Puesto que se trata de una infección que fundamentalmente se transmite por vía transplacentaria, la existencia de antecedentes de aborto en alguno de los ascendientes o descendientes de los animales afectados es importante. Así mismo, la repetición del aborto en algunos animales, la edad del feto y la observación de fétos momificados puede ser orientativa. Como ya hemos señalado anteriormente, si la infección intrauterina tiene lugar al inicio de la

gestación, la muerte y reabsorción embrionaria o fetal suelen pasar desapercibidos pero, si la infección en el útero tiene lugar mas tardíamente, puede producirse el aborto único signo clínico de la infección en los rebaños de bovinos con presencia o no de momificación fetal. También puede producirse el nacimiento de terneros clínicamente afectados o de animales aparentemente sanos pero con infección subclínica. En las hembras gestantes que han abortado no se observan signos clínicos posteriores y el celo reaparece normalmente. No obstante, el aborto o el nacimiento de animales infectados, con o sin síntomas, puede repetirse en futuras gestaciones (Dubey, 1999b, JenKins- et al., 2002).

2.9.2 Diagnóstico serológico.

La identificación de anticuerpos de *Neospora caninum* en un animal es indicativo de exposición al protozoo (Dubey, 1999a); para esto se utilizan diversas pruebas serológicas tales como: Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), y la aglutinación directa han sido utilizadas para demostrar anticuerpos en el suero o en el fluido corporal de fetos.

a) Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).

La técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) es empleada para la detección de anticuerpos contra el *N. caninum*. Fue la primera técnica utilizada en el diagnóstico sexológico, siendo actualmente considerada como estándar para la comparación con otras técnicas que se han desarrollado (Ortega- Mora et al., 2006).

En la actualidad se emplea fundamentalmente en estudios epidemiológicos para detectar anticuerpos anti-*Neospora caninum* en un gran número de especies animales como: perro, zorro, gato, bovinos, ovinos, caprinos, búfalos de agua, equinos, roedores y primates (Dubey y Lindsay, 1996; Björkman y Uggla, 1999). En esta técnica los taquizoitos de *N. caninum* (origen bovino o canino), son cultivados en diferentes líneas celulares y después de un procesamiento adecuado son fijados en láminas de microscopia, que son incubadas inicialmente con sueros diluidos, y en un segundo periodo con anticuerpos marcados con fluoresceína (conjugado anti-IgG), el cual va dirigido contra las inmunoglobulinas del suero problema, considerándose resultado positivo cuando se observa la fluorescencia en toda la superficie del taquizoito, y negativo cuando la fluorescencia queda restringida a la parte apical del

taquizoito (Björkman y Uggla, 1999). Es preciso mencionar que el desarrollo de esta técnica requiere de entrenamiento y experiencia, y los resultados dependen de la subjetividad del lector.

Esta prueba posee una especificidad del 99 % y una sensibilidad del 98 % (Packham et al., 1998), se le utiliza como indicador de estatus verdadero ante la utilización de otras pruebas (Björkman et al., 1997).

b) Prueba de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA).

Recientemente, se han desarrollado numerosas pruebas ELISA para la detección de anticuerpos específicos, cuya sensibilidad es adecuada y la especificidad elevada. La sencillez y rapidez de su realización y la fácil interpretación de los resultados, la capacidad de automatización y el bajo costo económico son ventajas a tener en cuenta cuando se analizan un número elevado de muestras. Estas pruebas utilizan distintos tipos de antígenos: taquizoitos sonicados, taquizoitos fijados con formalina, antígenos recombinantes o antígenos incluidos en partículas iscom (Alvarez, 2003).

Dentro de ELISA el más utilizado es ELISA indirecto, el cual emplea antígeno soluble de taquizoito, mezcla de antígenos intracelulares y de membrana de los diferentes aislados de *N. caninum* BPA1 y NC-1, puede ser usado con muestras de suero, leche y líquidos fetales para la detección de anticuerpos (Ortega – Mora et al., 2006).

2.9.3 Diagnóstico no Serológico.

Este diagnóstico se ha basado en la detección del parásito o las lesiones causadas por este en los tejidos fetales mediante técnicas histológicas convencionales (tinción de cortes histológicos con hematoxilina y eosina) e inmunohistoquímicas utilizando anticuerpos específicos frente a *Neospora caninum*.

a) Examen histopatológico.

La histopatología sobre tejidos bovinos resulta una técnica diagnóstica relevante en las infecciones a *Neospora caninum*. Las muestras para remitir al laboratorio son: cerebro, pulmón, corazón, hígado, bazo, riñón, músculos estriado; que son fijados en formalina al 10%, para luego fijarse en parafina, teñirse con hematoxilina-eosina (H-E) y ser vistas al microscopio (Basso et al., 2005).

El *N. caninum* se localiza con mayor frecuencia en el cerebro (SNC) y en el corazón (miocardio) de los fetos abortados que en otros órganos, incluida la placenta.

También, es más frecuente la detección de taquizoitos del parásito en los tejidos de los fetos abortados al principio de la gestación, apareciendo los quistes tisulares en mayor número en los terneros mortinatos o en animales neonatos con sintomatología y sacrificados antes de los 7 días de vida (Dubey y Lindsay, 1996).

Debe tenerse en cuenta que el material a estudiarse procede de un aborto y suele estar lisado como consecuencia de los procesos de descomposición lo que posiblemente dificulte la observación de las lesiones, es por eso que la remisión de muestras deberá de hacerse con la mayor celeridad una vez acontecido el aborto (Cordero del Campillo, 1999; Dubey, 2003).

Los hallazgos histopatológicos en muestras de fetos abortados cuyos tejidos pueden ser sometidos a tinción con hematoxilina-eosina son caracterizados por un infiltrado celular mononucleado en el epicardio, miocardio, endocardio además de necrosis multifocal asociada con una

leve mineralización y definida como una miocarditis no supurativa (Boulton et al., 1995). En el cerebro se suele observar necrosis focal y microgliosis dispersa (Agerholm y Barr, 1994; Anderson et al., 2000). Esta prueba tendría la desventaja de ser poco precisa por la similitud que exhibe *N. caninum* con otros parásitos apicomplexos.

b) Inmunohistoquímica.

Las técnicas inmunohistoquímica permiten localizar e identificar a los quistes tisulares y a los taquizoitos del parásito en los cortes histológicos de cerebro y corazón de los fetos abortados (Anderson et al., 2000) utilizando un suero policlonal o un anticuerpo monoclonal anti-*Neospora* (Lindsay y Dubey, 1989).

Sin embargo, algunos autores mencionan que el método inmunohistoquímico es laborioso y debido a que solo algunos parásitos de *N. caninum* pueden estar presentes en los tejidos, el método es considerado de baja sensibilidad (Wouda et al., 1997, Dubey, 2003).

En la práctica diaria, se analizan por técnicas inmunohistoquímicas basadas en el uso del complejo Avidina-Biotina Peroxidasa (ABC) los tejidos fetales que presentan “lesiones compatibles” en el examen histológico convencional con el fin de confirmar la presencia de restos de antígeno, taquizoitos enteros o quistes con bradizoitos en los tejidos afectados. Hay que tener en cuenta que la sensibilidad de las técnicas histológicas utilizadas con fines diagnósticos puede variar en función del número de cortes histológicos analizados y del grado de autólisis de los tejidos (Alvarez, 2003).

2.10 TRATAMIENTO.

No se conoce actualmente ningún tratamiento específico de la enfermedad; debido a la dificultad de eliminar los bradizoitos que se hallan en los quistes tisulares, y a la eliminación de las drogas en la leche cuando son administradas a vacunos de producción (Barr et al, 1997). La mayoría de los resultados en farmacoterapia han sido obtenidos a través de cultivos celulares o mediante la administración de fármacos a ratones infectados experimentalmente con neosporosis (Liddell et al, 1999; Gottstein et al., 2001).

Recientemente se ha informado que utilizando toltrazuril y ponazuril, los cuales son derivados de una droga llamada triazinona utilizada en el tratamiento de las coccidiosis, se logró disminuir las lesiones cerebrales de terneros inoculados experimentalmente, quedando demostrado que actualmente no existe tratamiento en los bovinos que los libere de la enfermedad (Moore et al.,2005).

En el caso de los caninos, la neosporosis neonatal canina caracterizada por paresia y parálisis del tren posterior, puede ser tratada con clindamicina oral en dosis de 12,5 a 18,5 mg/kg p.v., suministrada dos veces por día durante 2 a 4 semanas. También resulta eficaz la combinación de pyrimethamina y sulfonamidas en dosis de 0,25 a 0,5 y 30 mg/Kg p.v., respectivamente cada 12 horas en forma oral durante 4 semanas (Lindsay et al, 1999c). Sin embargo, este tratamiento no previene que el hospedero definitivo elimine el ooquiste del parásito.

2.11 CONTROL Y PREVENCIÓN.

2.11.1 Medidas de control.

La vía de transmisión más importante en la neosporosis es la vertical es decir de la madre al feto, por lo tanto el control de la infección se enfocará en detectar y reducir el número de vacas seropositivas (Moen et al., 1998; Thurmond y Hietala, 1997). Por lo tanto, determinar la prevalencia de la infección en el hato sería la primera medida a tomar para establecer un programa de control efectivo (Wouda et al., 1998). Una vez obtenida esta información se sugiere seguir las siguientes medidas:

- Cuando la seroprevalencia es baja, la medida deberá ser drástica y radical eliminando tanto a las madres como a las hijas seropositivas, así mismo se debería excluir a las terneras infectadas congénitamente para ser usadas como reemplazo (Ortega et al., 2001).

- Optar por la eliminación gradual de animales seropositivos si se determina una seroprevalencia alta, esto dependería directamente del número de animales seropositivos existentes, también podría optarse por la cría individual de las vacas infectadas lo que disminuiría el riesgo de contacto e infección entre terneras pudiendo destinarse estas últimas solo a engorde y no a la producción láctea.

- Dejar para reposición solo terneras nacidas de vacas seronegativas, si se utiliza trasplante de embriones comprobar que las receptoras sean seronegativas.

- Permitir solo el ingreso de animales seronegativos para reemplazo (Thurmond y Hietala, 1995).

Basándose en la confirmación del perro como hospedero definitivo (Lindsay et al, 1999a) y habiéndose comprobado que su presencia en los centros de crianza bovina está directamente asociado con la alta prevalencia de la infección en vacunos (Paré et al., 1998; Bartels et al., 1999; Mainar - Jaime et al., 1999), se tomarían las siguientes medidas pertinentes para limitar esta vía de transmisión horizontal:

- Evitando la contaminación del medio ambiente especialmente las pasturas y el agua de bebida con las heces de los perros, potenciales portadores de los ooquistes (Mc Allister et al., 2000).

- Impidiendo el acceso de los perros a las zonas de pastoreo para evitar la posibilidad de que éstos entren en contacto o ingieran las placentas, fluidos y fetos abortados (Reichel, 2000).

2.11.2 Prevención: perspectivas para la vacunación.

Si bien las pérdidas reproductivas pueden presentarse más de una vez en gestaciones subsiguientes, las tasas de repetición de aborto por neosporosis son relativamente bajas (menores al 5 %) (Anderson et al., 1991; Wouda et al 1998) estudios no solo experimentales (Williams et al., 2003) sino también de campo (Mc Allister et al., 2000) avalan la presencia de mecanismos inmunes que protegen contra el aborto en bovinos crónicamente infectados.

Para evitar la infección posnatal posiblemente sea necesario el desarrollo de vacunas orales capaces de generar una respuesta inmune a nivel de mucosa gastrointestinal, la cual podría limitar el acceso al sistema linfático y gastrointestinal. Diversos antígenos, asociados a los gránulos densos, micronemas y otras proteínas de superficie de los taquizoítos, serían capaces de inducir una respuesta inmune de protección, además diversos clones de ADN pertenecientes a estos antígenos han sido descritos y permitirían el desarrollo de vacunas a sub-unidades (Jenkins, 2001).

Una vacuna inactivada con Havlogen como adyuvante (NeoGuard[®]) ha sido recientemente aprobada por el Departamento de Agricultura de los EE.UU; y el laboratorio Intervet describen su boletín técnico que la vacuna es segura para su uso en bovinos preñados sanos. En uno de sus ensayos, vaquillonas preñadas vacunadas con dos dosis a los 56 y 77 días de gestación en forma subcutánea (SC) fueron posteriormente desafiadas con un inóculo intramuscular a los 95 días de gestación, mostrando que el grupo de 18 animales sin inmunizar tuvo una tasa de abortos del 22 %, mientras que las 18 vaquillonas inmunizadas tuvieron terneros vivos y sanos. Por otro lado, se demostró que aquel inmunógeno no previene la transmisión vertical de *Neospora caninum* en bovino (Moore et al., 2005).

Los actuales inmunógenos comerciales ocasionan la producción de anticuerpos anti-N. caninum los cuales no pueden ser diferenciados de aquellos producidos en infecciones naturales; más aún, existe controversia debido a la utilización de la vacuna debido a que la eliminación de animales seropositivos a la enfermedad ha sido sugerida como medida de control.

En los últimos años, se han probado algunas vacunas o vías de inmunización con resultados parciales frente a la neosporosis, recientemente se ha desarrollado una vacuna destinada a ser administrada en vacas preñadas dentro del primer trimestre de la gestación, para luego administrarse una segunda dosis tres a cuatro semanas después lo que aparentemente permitiría estimular el sistema inmune de la madre y se evitaría de este modo la infección fetal. Según reportes de la empresa que desarrollo esta vacuna ha tenido un 50 a 100 % de reducción en la tasa de abortos. El departamento de agricultura de los Estados Unidos ya emitió la licencia definitiva para la comercialización de esta vacuna (Choromanski y Block, 1999). Pero existiría una desventaja, después de la vacunación el ganado siempre sería positivo a la prueba de anticuerpos contra el parásito.

De tal manera que si las vacas vacunadas abortasen la única forma en que se podría estar seguro de que la causa del aborto no fue *N. caninum* sería haciendo una necropsopía completa al feto abortado para confirmar que no hay signos del agente infeccioso. (Barling et al., 2003; Baszler et al., 2000; Lunden et al., 2002).

2.12 ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN.

Determinó la seroprevalencia de *N. caninum* en el valle de Moquegua, distrito de Moquegua provincia de Mariscal Nieto, donde se evaluaron 157 vacas, obteniendo 80 muestras positivas con una seroprevalencia de 50,96 %. Según la edad en vacas de 2 a 3 años 50,09 % de casos positivos, de 4 a 6 años con 61,40 % resultaron positivos, de 7 a 9 años 37,78 % positivos, más de 10 años 18,18 %. La presencia de perros en los hatos lecheros demuestran así: hatos sin perros 125 % con 1 a 2 perros y más de 5 perros 6,25 dejan a la intemperie de seropositividad. (Mamani, J. 2007).

Después de los reportes encontrados en la publicación de Andresen (1999) donde realizó análisis de muestras de 104 vacas, procedentes de 14 establos lecheros de Arequipa, el análisis estuvo a cargo de la Dra. Hermelinda Rivera del Laboratorio de Microbiología y Viroológica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, los resultados mostraron una prevalencia a *N. caninum* de 57 %., todos los establos presentaron al menos un animal seropositivo, mediante la prueba de IFI. (Cabrera et al., en el 2000), realizó el reporte

de *N. caninum* en ganado lechero de Cajamarca, encontrando una prevalencia de 43 %.

Reportó una seroprevalencia general de *Neospora caninum* de 23 % en bovinos lecheros en el sector de Sama Grande en el distrito de Inclán, en la provincia y departamento de Tacna. En este estudio se obtuvieron 115 muestras sanguíneas de bovinos lecheros distribuidos por edades, la cual resultó > 7 a 10 años con una prevalencia 44,44 %; animales de 2 a 4,5 años con 27,87 % y finalmente mayores de 4,5 a 7 años con 26,67 % respectivamente. Y por lugar de procedencia fue de 30 % para animales procedentes de Arequipa, 40,01 % para Ite, 30 % para Sama y ausente para la Yarada, analizando la edad y la procedencia de los animales como posibles factores de riesgo, estos no resultaron estadísticamente significativos. Asimismo, es probable que otros factores de riesgo condicionarían la presencia del parásito en la zona de estudio. (Cahuana J., 2006)

El objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del valle de Lima. Con este fin se evaluaron 304 sueros de vacas lecheras adultas provenientes de 19 establos lecheros ubicados en la zona norte (n = 12) y en la zona sur

(n=7), mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI). El 29.61 % \pm 5.13 % (90/304) presentó anticuerpos contra el parásito en una dilución de 1:200. En la zona norte el 40,83 % \pm 8,79 % (49/120) y en la zona sur 22,28 % \pm 6,01 % (41/184). Con estos resultados se confirma la presencia del parásito *Neospora caninum* en bovinos lecheros del valle de Lima. (Silva, P. 2002).

El objetivo del presente trabajo también fue determinar la prevalencia de *Neospora caninum* en vacas de la empresa de Sociedad Agrícola de Interés Social (SAIS) Pachacutec, ubicada en el departamento de Junín, en el año 2003. Se evaluaron 347 muestras de suero, recolectadas de vacas Brown Swiss adultas, mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI). El 12,4 \pm 3,5 % (45/347) de los animales presentaron anticuerpos contra el parásito (prevalencia corregida: 13,2 \pm 3,5 %). Se observó una frecuencia mínima de 2,5 % y una máxima de 19,6 % en los siete hatos evaluados, sin encontrar diferencia estadística significativa. En todos los hatos se encontró, por lo menos, un animal positivo a este parásito. Estos resultados confirman la existencia de una prevalencia moderada de *N. caninum* en la zona estudiada. (Puray y Col 2006).

Se determinó la seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros criados al pastoreo de la provincia de Melgar, Puno, mediante la detección de anticuerpos sericos por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se evaluaron 419 sueros obtenidos en forma aleatoria de siete fundos ganaderos donde las prevalencias obtenidas variaron desde $4,0 \pm 7,7$ % hasta $37,5 \pm 11,9$ %. La prevalencia general fue considerada moderada ($18,1 \pm 3,7$ %). Todos los fundos presentaron, al menos, un animal seropositivo. La edad y el lugar de procedencia representaron factores de riesgo en la prevalencia de la infección. (Atoccsa J, 2005).

El objetivo del presente estudio fue conocer la seroprevalencia de *N. caninum* en bovinos lecheros de crianza extensiva de los distritos de Molinopampa y Leymebamba, provincia de Chachapoyas, Amazonas en el año 2002, se analizó 265 muestras de sueros de vacas mayores de 2 años, que estaban distribuidas en 24 ganaderías, para la detección de anticuerpos contra *N.caninum* mediante la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). El $40,4 \pm 5,0$ % (107/265) de las muestras presentaron anticuerpos en una dilución de 1:200 sin diferencias estadísticas entre los distritos evaluados. Todos los hatos muestreados tuvieron animales seroreactores. La prevalencia encontrada fue similar a lo descrito en las principales cuencas lecheras del país. (Quevedo J. y col ,2003).

“Determinación de la presencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en hatos lecheros de la sierra Centro Norte del Ecuador, por Prueba Inmunoenzimática”. Se tomaron muestras de sangre de 395 vacas adultas no preñadas o en el primer tercio de gestación de 34 ganaderías lecheras de la zona centro-norte de la sierra ecuatoriana con diferentes tasas de abortos y reabsorciones determinaron que el 42 % de las muestras son positivas a la presencia de anticuerpos anti-*N. caninum*, 2,8 % es sospechosa y el 55,2 % es negativo, la seroprevalencia en vacas con antecedentes de reabsorción fetal de un total de 27, 48,1 % son positivas, 51,9 % negativas no hay sospechosas.

En 110 vacas con antecedentes de aborto el 71,8 % son positivas, 25,5 % negativas y 2,7 % sospechosas.

De 17 Animales con antecedente de aborto y reabsorción fetal el 76,5 % son positivos, 23,5 % negativos y 0 % sospechosos.

De las muestras analizadas 241 animales no tienen antecedentes de abortos o reabsorción fetal, la seropositividad es de 25,3 %, 3,3 % son sospechosos y 71,4 % negativos a anticuerpos anti *N.caninum*.

De 166 animales seropositivos, 63,3 % han tenido alguna vez, al menos, un aborto y/o reabsorción. El análisis estadístico para determinar

correlación entre las tasas de aborto y la seroprevalencia estableció una diferencia significativa al 1 y 5 %, pero un coeficiente de variación de 56,8 % y 60,7 % respectivamente. No hay diferencia significativa entre la tasa de reabsorciones y la seropositividad. (Lozada, E. 2004)

Se halló que en la Estación Experimental del IVITA - Pucallpa que la Neosporosis no está al parecer muy difundida en el hato, pues solo el 1,5% de los bovinos adultos presentaron anticuerpos contra *Neospora caninum*, debido a la nula introducción de animales positivos y a la ausencia de perros infectados. (Rivera et al. 2004).

Se considera un importante causante de abortos en la cuenca del sur por lo que se ha realizado la prueba de inmunofluorescencia indirecta encontrándose un 60 % de prevalencia de neospora caninum en ganado lechero del departamento de Arequipa. (Olivera S. 2001).

Los estudios realizados en 8 fundos ganaderos de la campiña de Cajamarca, confirmaron la transmisión vertical del parásito, mediante el suero de vacas y sus crías. Se evaluó 152 muestras correspondientes a 76 vacas y sus respectivas crías, estas últimas fueron muestreadas al nacimiento antes de ingerir al calostro. Los resultados mostraron una

prevalencia a anticuerpos contra *N. caninum* en el 40,8 y 22,4 % de las vacas y crías muestreadas, respectivamente, así mismo determinó un porcentaje de transmisión vertical de 54,8 %. (Linares, 2002).

En el estudio realizado en vacunos de la provincia de Chota en el departamento de Cajamarca, se evaluó 174 sueros de vacunos hembras, mediante la técnica de Elisa (Herd Check[®]-Anti - Neospora Idexx USA) empleando la dilución 1:100 según indicaciones del fabricante, el estudio determinó una prevalencia total de 39,08 % mientras que las prevalencias para los grupos etéreos de vacas, vaquillonas y terneras fue de 44,6, 34,3 y 31,2 % respectivamente.

El estudio determinó que aun cuando la prevalencia se incrementaba a medida que aumentaba la edad de los animales, no se encontró diferencias estadísticas significativas en los resultados hallados por grupo etéreos. (Torres, 2006).

Se dispone de datos de seroprevalencia individual de Neospora en ganado lechero de varios países: Irlanda 9,6 %, Suiza 11,5 %, Nueva Zelanda 6-8 %, Reino Unido 8 %. EEUU 10 %, si se estudia la seroprevalencia en animales con antecedentes de aborto las cifras

aumentan, así en Francia se han encontrado cifras de 26 % y en Nueva Zelanda del 39 %. En España tenemos estudios de la provincia de Leon en los que se citan que el 55,1% de los rebaños de carne y el 83,2 % de los de leche tienen algún animal seropositivo con una seroprevalencia individual del 17,9 % y del 35,9 % respectivamente para cada tipo de ganadería. En Asturias en ganaderías de leche tenemos un 90,7 de rebaños positivos con una seroprevalencia individual del 29,6 %. En Zaragoza, en ganado lechero hemos encontrado un 76 % de los rebaños con algún animal positivo y una prevalencia individual del 17,3 %. (Gebrian. y-col. 2000).

Al determinar la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en vacas con desordenes productivos, se utilizaron 196 sueros de vacas procedentes de 27 fincas del municipio de Monteria, Colombia, la prueba utilizada para la determinación de anticuerpos fue ELISA, los criterios de inclusión para las vacas fueron: antecedentes de aborto, momificaciones, reabsorciones embrionarias y repetición de servicios, los resultados del estudio determino una seropositividad de *neospora caninum* del 10,2 %, de los animales muestreados el 10,76 % presenta aborto, 9,75 % fueron vacas repetidoras de celo, 20,0 % presentaron momificación fetal y 0,0 % con reabsorciones embrionarias, con los resultados se puede afirmar que

existe evidencia de circulación antigénica de *N caninum* en hembras bovinas del municipio de Montería, Colombia. (Oviedo, T. 2007).

“Seroprevalencia de la Neosporosis en el ganado vacuno de Pontevedra”, para este estudio se emplearon 1084 animales mayores de un año procedentes de explotaciones cárnicas (238 animales), lácteas (628) y mixtas (218) elegidos al azar y procedentes de la Campaña de Saneamiento Ganadero de Galicia del año 1999. Igualmente se seleccionaron 323 animales de monte que representan el censo total de animales que viven en libertad en los montes de Pontevedra. Como Técnica de análisis empleó el ELISA indirecto (CIVTEST). Siendo los resultados para la explotación lechera 19,1 % (120/628), para la explotación de carne 13,8 % (33/238), mientras que para la explotación mixta 23,3 % (51/218), del total de las anteriores 18,8 % (204/1084). La prevalencia para los animales de Montes de Pontevedra resultó 6,2 % (22/323). (Arnaiz, I y col, 1999).

Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* en dos rebaños lecheros de la IX Región de Chile.

Se considera a un bovino positivo cuando se evidencia fluorescencia a una dilución de 1:200. El 30,2 % (52/173) de animales estudiados en el predio A y el 15,7 % (31/198) del predio B presentaron anticuerpos séricos contra el parásito.

Los resultados por edades fueron para el predio A de 39,6 % (42/106) para las vaquillas y de 15,2 % (10/66) para las vacas y para el predio B de 22,7 % (15/66) para las terneras, 17,8 % (8/45) para las vaquillas y de 9,2 % (8/87) para las vacas. (Patitucci A. y Col, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES.

3.1.1 Ámbito de estudio.

El presente estudio se realizó durante los meses de Abril y Mayo en el distrito de Inclán del Valle de Sama, Región Tacna, localizada en la panamericana sur a una altitud de 374 m.s.n.m. y 550 m.s.n.m., latitud sur de 17°47'22" y una longitud oeste de 70°33'39". Cuya región natural es costa de clima seco con variaciones de temperaturas de 12°C a 30°C, el clima es templado entre 25°C y 28°C en el verano y entre los 6°C y 13°C en el invierno con una temperatura media anual de 17°C, la precipitación total anual está por debajo de los 100 mm., con una humedad relativa de 75 %. (Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología – SENAMHI, Dirección Regional de Tacna y Moquegua).

3.1.2 Materiales y equipos para recolección, conservación y envío de muestras.

- Caja conservadora de temperatura (Cooler).
- Conservador de muestras (gel refrigerante).
- Gradillas para acomodar los tubos al vacío.
- Tubos al vacío (vacutainer) de 10 ml. sin anticoagulante.
- Agujas vacutainer descartables de 20Gx1”.
- Holders (sujetador de tubos al vacío).
- Alcohol y algodón hidrófilo.
- Guantes desechables.
- Tabla de campo y fichas de datos.
- Mameluco y botas de jebe.
- Material de sujeción (Soga y Mocheta).
- Lapiceros y libreta de apunte.
- Viales criogénicos con tapa de 3,5 ml.
- Pipetas de transferencia (3 ml).
- Refrigeradora.
- Cajas de tecknopor.
- Marcadores indelebles.
- Otros: Movilidad, cámara fotográfica.

3.1.3 Materiales y equipos de laboratorio para la prueba de Inmunofluorescencia (IFI).

- Pipetas de: 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml.
- Erlenmeyer de diferentes capacidades.
- Microplacas de 96 pocillos de polietileno.
- Gradillas.
- Beakers de 100 ml, 200 ml.
- Pizetas.
- Probetas de 100 ml, 200 ml
- Papel Toalla.
- Tips.
- Cámara húmeda.
- Algodón.
- Estufa incubadora a 37°C.
- Refrigeradora convencional.
- Agitador magnético.
- Balanza analítica.
- Cronometro de tiempo.
- Vortex.
- Micropipetas multicanal 5 – 50 ul.
- Micropipetas multicanal 20 – 200 ul.

- Miropipeta monocanal 8 – 10 ul.
- Glicerina.
- Microscopio de fluorescencia.

Reactivos:

- Solución Buffer de fosfatos (PBS)
- Solución buffer de carbonato (Rinse buffer)

Biológicos:

- Anti bovine IgG FITC conjugate, Whole molecule (Marca-Sigma) Cat. F7887 x 2 ml.
- Positive Control para inmunofluorescencia (IFA) Bovine x 1 ml. Cat. 211-P-NC-BOV (Marca VMRD)
- Negative Control IFA (Bovine) x 1ml. CAT. 211- N-NC-BOV (VMRD).
- Antígeno de *Neospora caninum* (Taquizoito fijado) de procedencia comercial.

3.2 MÉTODOS.

3.2.1 Tipo de investigación.

El tipo de investigación fue descriptiva transversal. El mismo que describe la situación en un momento dado y no requieren la observación de los sujetos estudiados durante un periodo de tiempo. Este tipo de diseño es adecuado para describir el estado del fenómeno estudiado en un momento determinado.

3.2.2 Población y muestra.

3.2.2.1 Población.

La población total de vacunos lecheros en el distrito Inclán del Valle de Sama fue de 1492 bovinos según MINAG-DIA (2004).

- a) **Unidades de muestreo:** Se evaluó el ganado vacuno lechero comprendido entre las edades de 2 a 8 años perteneciente a establos del distrito Inclán.

- b) **Unidades de análisis:** Fueron las muestras de sangre de las cuales se utilizó la fracción sérica del ganado vacuno lechero del distrito Inclán.

3.2.2.2 Tamaño de muestra:

$$n_0 = \frac{P(1-P)Z^2}{E^2}$$

$$n_0 = \frac{0,23(1-0,23)1,96^2}{0,05^2}$$

$$n_0 = 272,14$$

$$n_1 = \frac{n_0}{1 + \frac{n_0}{N}}$$

$$n_1 = \frac{272}{1 + \frac{272}{1492}}$$

$$n_1 = 230$$

Donde:

n_1	=	Tamaño de muestra	:	x
N	=	Población total en estudio	:	1492
p	=	Prevalencia anterior (referencial)	:	0,23
Z	=	Valor para un nivel de confianza del 95 %	:	1,96
E	=	Error de precisión del 5 %	:	0,05
n_1	=	Tamaño de muestra ajustada	:	?

3.2.3 Método y técnica de recolección de datos.

3.2.3.1 Trabajo de campo.

- i. Nos identificamos con los propietarios de cada establo que fueron escogidos al azar y se explicó la importancia del presente trabajo.
- ii. Se seleccionó al azar los animales, a los cuales se les tomó una muestra de sangre y luego se registraron los datos correspondientes en la ficha de muestreo.
- iii. La cantidad de muestras a recolectar fue un total de 230, una muestra por animal seleccionado al azar.

- iv. Se obtuvo una cantidad de sangre no menor a 5 ml. La sangre se extrajo de la vena yugular o vena coccígea del animal, con el sistema de tubos al vacío y agujas de 20x1" por cada animal. La sangre se colectó en tubos sin anticoagulante, los cuales se codificaron y se registraron en la ficha de muestreo.
- v. Después de la sangría los tubos se mantuvieron en posición inclinada y bajo refrigeración (4 a 8 °C) colocándose en gradillas hasta la formación del coágulo (de 4 a 5 minutos) acomodados en termos apropiados con hielo hasta su llegada al laboratorio del SENASA - Tacna, donde se procedió a la separación del suero sanguíneo mediante el uso de pipeta y se depositó en viales debidamente codificados especiales para su conservación a (-20 °C) dentro de 24 horas.
- vi. El suero obtenido fue de 3,5 ml. o un mínimo de 50 % de la capacidad del vial, completamente limpio y libre de hemólisis y contaminación.
- vii. Luego se almacenó y embolsó adecuadamente en una caja de teknopor con geles refrigerantes para su conservación a temperatura de congelación, las muestras fueron remitidas a la Unidad de Centros de Diagnóstico de Sanidad Animal (UCDSA), SENASA- Lima, 1915. La Molina - Lima.

3.2.3.2 Trabajo de laboratorio.

3.2.3.2.1 Prueba de Inmunofluorescencia indirecta.

La prueba de inmunofluorescencia indirecta se utiliza para detectar anticuerpos en las muestras de suero problema. La unión antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) se pone de manifiesto utilizando un conjugado anti-especie (Ig G) marcado con isotiocianato de fluoresceína.

Procedimiento de la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta.

1. Se realizó la dilución del suero problema con el buffer dilutor hasta obtener una dilución de 1:200.
2. Luego se colocó 8 ul de suero diluido, en laminas portaobjeto de 12 pocillos para IFI, fijadas previamente con taquizoitos de *Neospora caninum*. en los dos primeros hoyos que se puso el antisuero de referencia positivo y negativo, y en el resto los sueros problema.
3. Seguidamente se llevó a la incubadora a 37°C por 35 min en cámara húmeda (colocar la lámina portaobjeto en un taper de plástico).
4. Se lava la lámina portaobjeto en una solución de buffer carbonato en agitación durante 10 min.
5. Secar al medio ambiente la lámina por 10 min.

6. Agregar el conjugado anti-bovino (VMRD-USA) en cada celda 8 ul, marcado con isotiocianato de fluoresceína.
7. Llevar nuevamente a la incubadora a 37°C por 35 min. en cámara húmeda.
8. La lámina nuevamente es lavada con solución buffer carbonato y secada al medio ambiente por 10 min.
9. Adicionar glicerina (líquido de montaje) y una lámina cubre objeto.
10. Observar al microscopio de fluorescencia.

Cálculo y expresión de los resultados.

Lecturas.

La lectura de las láminas se realiza en el microscopio de inmunofluorescencia con los objetivos de 25X y 40X.

Interpretación de resultados.

Se observan en primer lugar los controles negativos y positivos. En el control (-) NO debe observarse fluorescencia, puede observarse una coloración verdosa homogénea llamada "Background" o tinción de fondo que será mayor o menor dependiendo de la calidad de los sueros, en

general los sueros cuya dilución de usos es alta disminuye los problemas de tinción de fondo.

En el control (+) se observa el borde del parasito fluorescente y tambien células negativas (no fluorescentes). Se considera (+) cuando se observa fluorescencia completa.

-Bovinos: sin antecedentes reproductivos 1:100

-Hembras receptoras de embriones: 1: 100 o menor

-Con antecedentes de abortos: 1:200

3.3 MÉTODO y TÉCNICA DE ANALISIS DE DATOS.

a) PROGRAMA SPSS (Statistical Package for the social sciences)

Para el análisis estadístico se utilizó tablas de frecuencias y la prueba de Chi-cuadrada utilizando el programa estadístico SPSS versión 15 y/o 18.

b) Determinación de la seroprevalencia:

Se determinó la seroprevalencia (*P*) de anticuerpos contra la *Neospora caninum* en vacunos lecheros del distrito Inclán del valle de

Sama considerando la seropositividad de los sueros a la prueba serológica, los resultados se expresaron en porcentaje. Para estimar estos valores se utilizaron las siguientes fórmulas:

➤ **prevalencia a la prueba:**

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

➤ **prevalencia real o corregida (P_r):**

$$P_r = \frac{P + \beta - 1}{\alpha + \beta - 1} \times 100$$

Donde :

P_r = Seroprevalencia real

P = Seroprevalencia encontrada

β = Especificidad de la prueba

α = Sensibilidad de la prueba

Se considerará $\alpha = 97\%$ y $\beta = 88\%$ (Recabal, 2005).

Los valores de sensibilidad, especificidad y valor *kappa* (k) calculados con un nivel de confianza del 95 %.

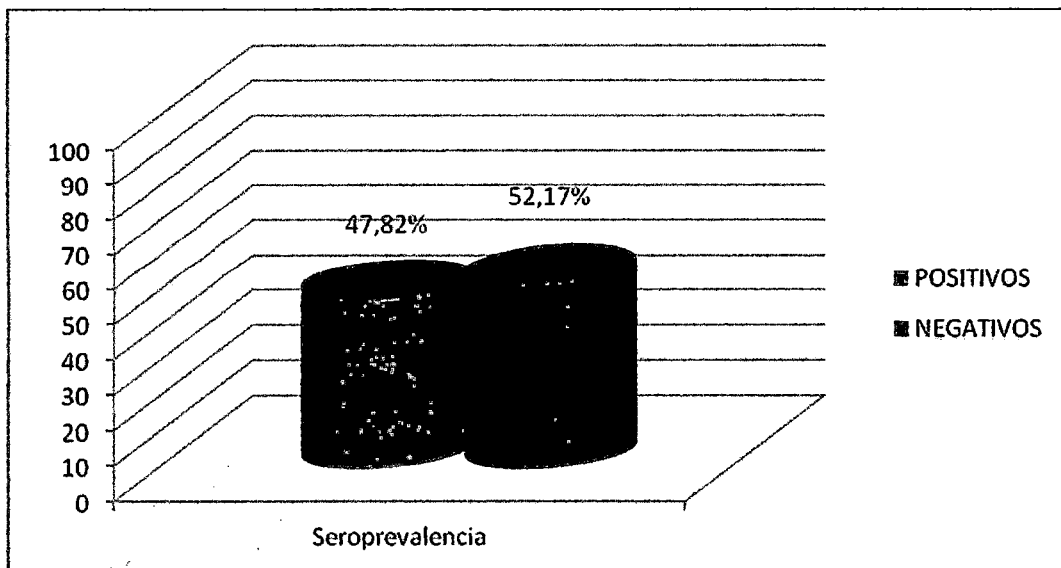
IV. RESULTADOS

TABLA I: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros del distrito Inclan, región Tacna a través de la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

	CASOS		TOTAL
	POSITIVOS	NEGATIVOS	
Nº de muestras	110	120	230
% de seroprevalencia	47,82 %	52,17 %	100 %

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla I, se observa los resultados de seroprevalencia de *Neospora caninum*, de un total de 230 animales muestreados, 110 resultaron positivos con una seroprevalencia de 47,82 % y 120 animales resultaron negativos que representa una seroprevalencia de 52,17 %.



Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 1:

Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros del distrito Incañan, región Tacna a través de la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

En el Gráfico 1, se observa la seroprevalencia de *Neospora caninum*, donde el 47,82 % son casos positivos y 52,17 % son casos negativos.

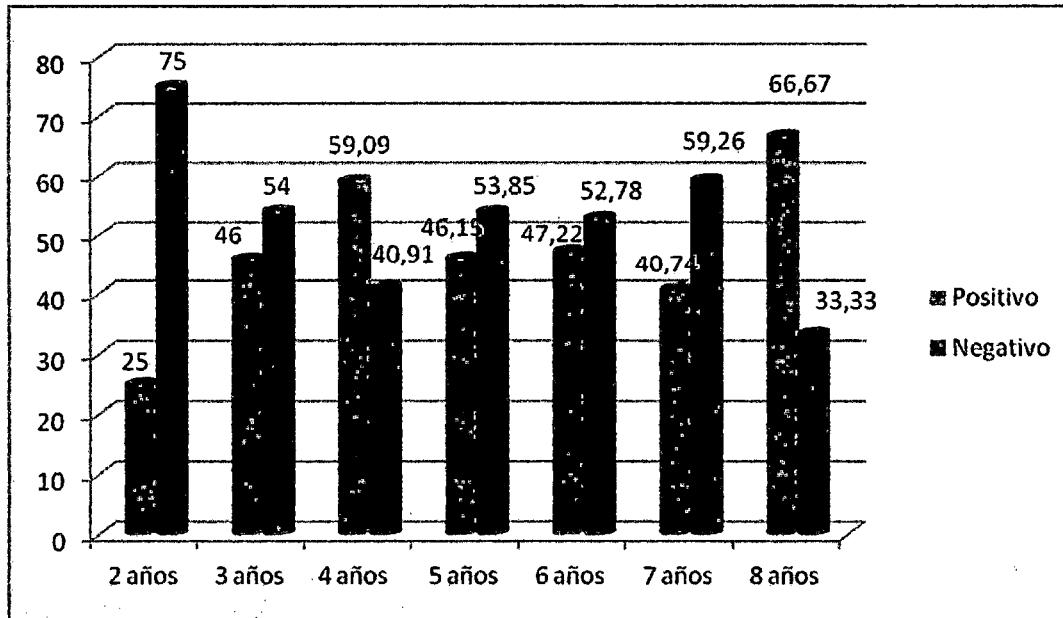
TABLA II: Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según edad

EDAD DEL BOVINO (años)	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL
	N°	%	N°	%	N°
2	9	75,00	3	25,00	12
3	27	54,00	23	46,00	50
4	18	40,91	26	59,09	44
5	28	53,85	24	46,15	52
6	19	52,78	17	47,22	36
7	16	59,26	11	40,74	27
8	3	33,33	6	66,67	9
TOTAL	120	52,17	110	47,83	230

Fuente: Elaboración propia.

$$\chi^2 = 6,70 \quad \text{g.l} = 6, \quad p = 0,350$$

En la Tabla II, se observa de un total de 230 vacunos muestreados, según edad, siendo la mayor seroprevalencia de casos positivos en la edad de 8 años de un total de 9 bovinos, 6 resultaron positivos con 66,67 % y la menor seroprevalencia a la edad de 2 años de un total de 12 bovinos 3 son positivos con un 25,0 %. Estos resultados sometidos a la prueba estadística de Chi-cuadrado determina que existe homogeneidad entre los grupos de edades. Es decir que la enfermedad se va a presentar indistintamente en cualquiera de las edades.



Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 2:

Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según edad

En el Gráfico 2, se observa que la mayor seroprevalencia de casos positivos se presenta a la edad de 8 años con 66,67 % y la menor seroprevalencia a la edad de 2 años con 25 %.

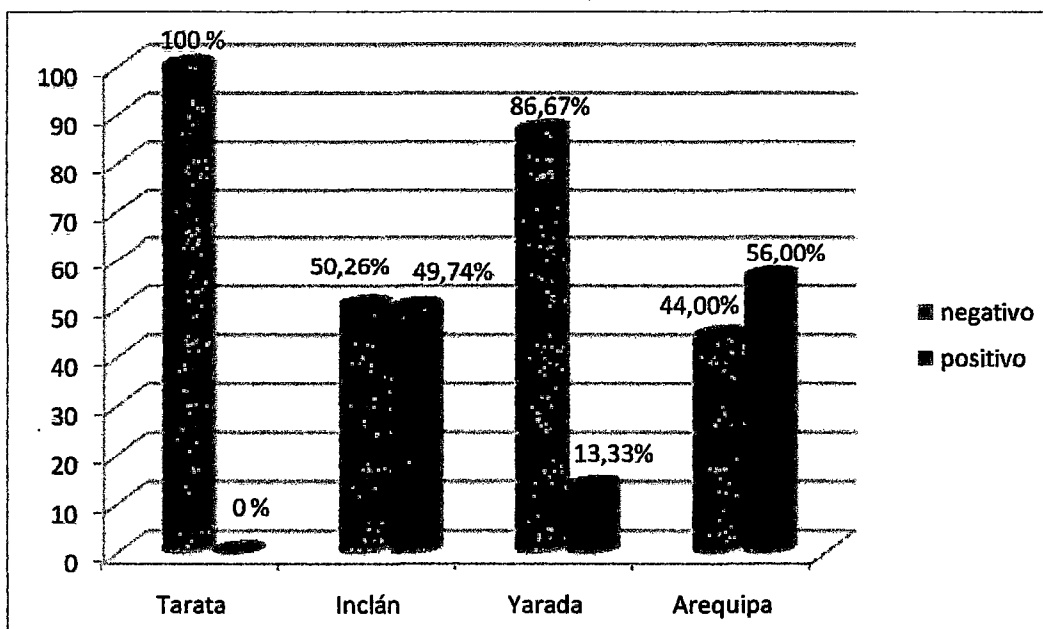
Tabla III. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según procedencia

PROCEDENCIA	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL
	N°	%	N°	%	N°
Tarata	1	100,00	0	0,00	1
Inclán	95	50,26	94	49,74	189
Yarada	13	86,67	2	13,33	15
Arequipa	11	44,00	14	56,00	25
TOTAL	120	52,17	110	47,83	230

Fuente: Elaboración propia.

$$\chi^2 = 9,014 \quad g.l=3 \quad p= 0,029$$

En la Tabla III, se observa el total de 230 vacunos muestreados, procedentes de: Tarata, Inclán, Yarada y Arequipa, Siendo los mayores casos positivos procedentes de Arequipa de un total de 25 bovinos, 14 con 56 % de seroprevalencia y del distrito de Inclán de un total de 189 bovinos, 94 resultaron positivos con 49,74 % de seroprevalencia y no hallándose ningún casos positivos en Tarata. Al realizar la prueba estadística de Chi-cuadrado existe diferencias estadísticas, por lo tanto existe una heterogeneidad entre los lugares de procedencia, siendo un factor influyente en la presencia de la enfermedad.



Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 3:

Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según procedencia

En el Gráfico 3, se observa que la mayor seroprevalencia de casos de *Neospora caninum* positivos proceden de la ciudad de Arequipa con 56,00 % y la menor seroprevalencia procede del centro poblado menor la Yarada con 13,33 %.

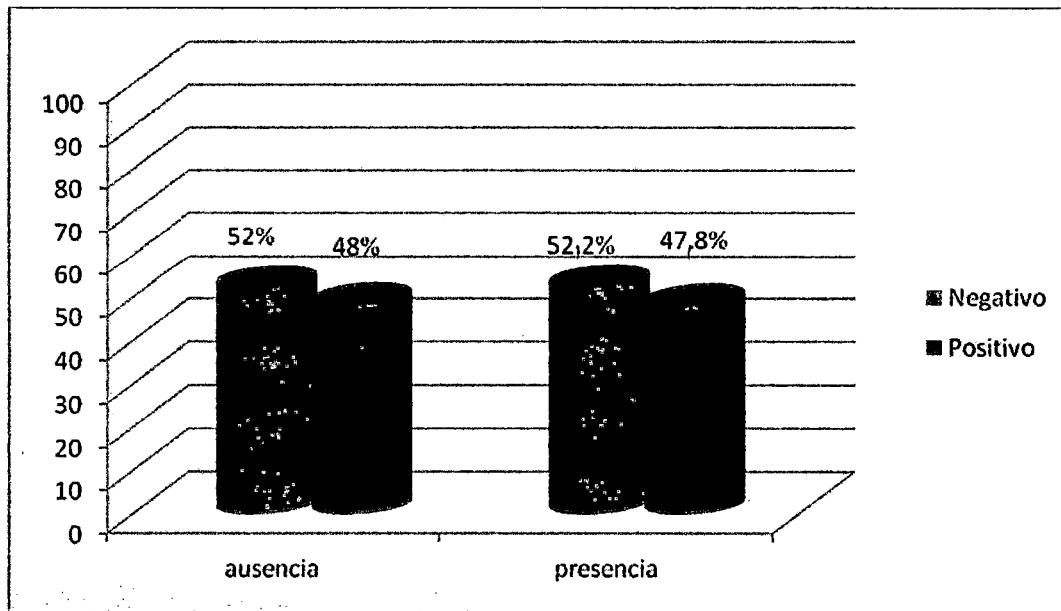
Tabla IV. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según la presencia y ausencia de caninos

CANINOS	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL
	N°	%	N°	%	N°
AUSENCIA	13	52,00	12	48,00	25
PRESENCIA	107	52,20	98	47,80	205
TOTAL	120	52,17	110	47,83	230

Fuente: Elaboración Propia.

$$\chi^2 = 0,00034 \quad \text{g.l}=1, \quad p= 0,985$$

En la Tabla IV, se observa la seroprevalencia de *Neospora caninum* según la presencia de caninos con 47,80 % de casos positivos y según la ausencia de caninos con 48,00 %. Al realizar la prueba estadística de Chi-cuadrado existe homogeneidad, es decir la presencia o ausencia de caninos la enfermedad se presenta, no influyendo los caninos.



Fuente: Elaboración propia

Gráfico 4:

Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según la presencia y ausencia de caninos.

En el Gráfico 4, se observa según presencia de caninos con 47,80 % y 48,00 % según la ausencia de caninos.

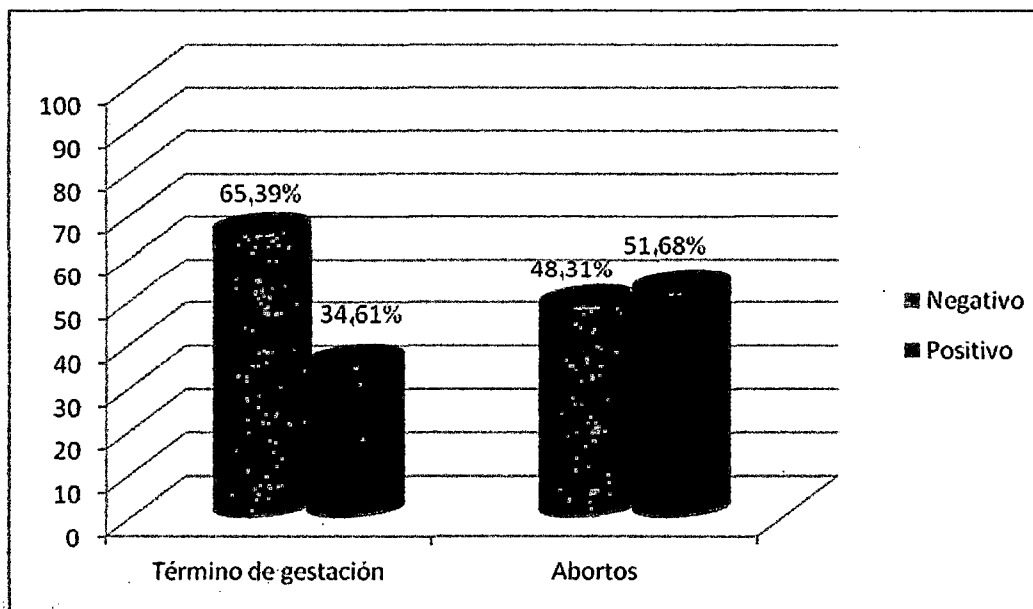
Tabla V. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según curso de gestación

CURSO DE GESTACIÓN	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL
	N°	%	N°	%	N°
TÉRMINO DE GESTACIÓN	34	65,39	18	34,61	52
ABORTOS	86	48,31	92	51,68	178
TOTAL	120	52,17	110	47,83	230

Fuente: Elaboración propia.

$$\chi^2 = 4,70 \quad g.l = 1, \quad p = 0,030$$

En la Tabla V, se observa la seroprevalencia de *Neospora caninum*, según la presencia de abortos con 51,68 % de casos positivos, y 34,61 % no presentaron abortos. Al realizar la prueba estadística de Chi-cuadrado se obtuvo que existe heterogeneidad en los resultados, existiendo diferencias estadísticas significativas.



Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 5:

Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según curso de gestación

En el Gráfico 5, se observa una seroprevalencia mayor con 51,68 % que presentaron abortos y con 34,61 % que llegaron al término de gestación.

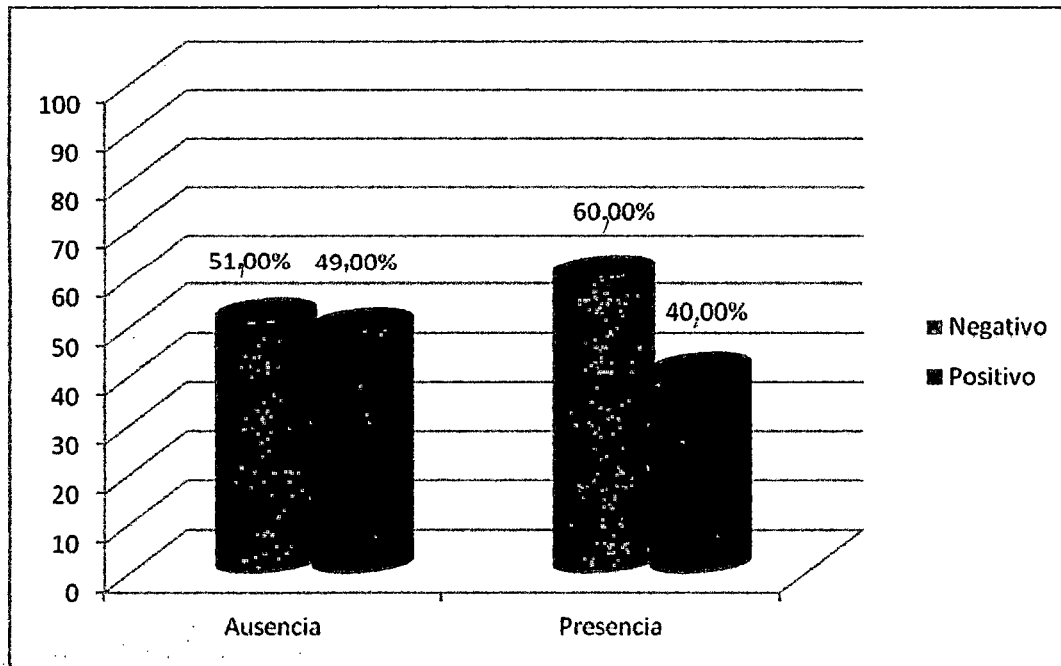
Tabla VI. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según fetos momificados

FETOS MOMIFICADOS	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL
	N°	%	N°	%	N°
AUSENCIA	102	51,00	98	49,00	200
PRESENCIA	18	60,00	12	40,00	30
TOTAL	120	52,17	110	47,83	230

Fuente: Elaboración Propia.

$$\chi^2 = 0,85 \quad g.l= 1, \quad p= 0,357$$

En la Tabla VI, se observa un total de 230 vacunos muestreados, según fetos momificados, con ausencia de un total de 200 bovinos, 98 resultaron positivos con 49 % de seroprevalencia y con presencia de 30 bovinos 12 son positivos con 40 %. Según la prueba estadística de Chi-cuadrado existe homogeneidad según la ausencia ó la presencia de fetos momificados y no es un factor influyente en la presentación de la enfermedad.



Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 6:

Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según fetos momificados.

En el Gráfico 6, se observa una seroprevalencia *Neospora caninum* con 49 % de casos positivos que no presentaron fetos momificados y un 40 % casos positivos que si presentaron fetos momificados.

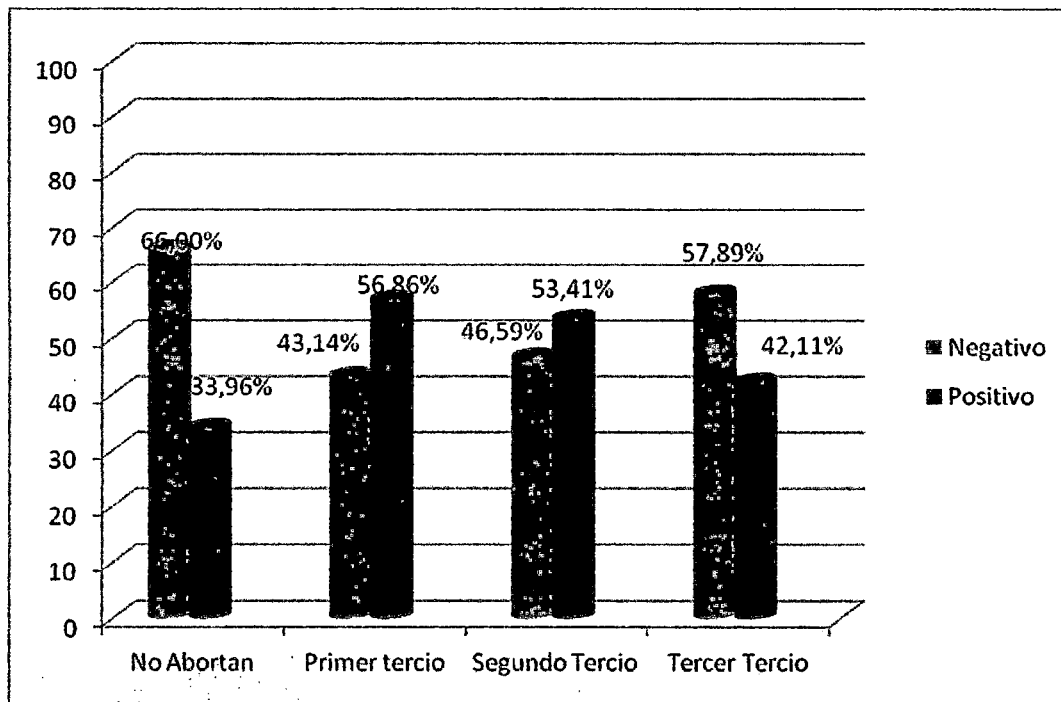
Tabla VII. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según en que tercio de gestación se presenta el aborto

TERCIO EN QUE SE PRESENTA EL ABORTO	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL
	N°	%	N°	%	N°
No Abortan	35	66,04	18	33,96	53
Primer Tercio	22	43,14	29	56,86	51
Segundo Tercio	41	46,59	47	53,41	88
Tercer Tercio	22	57,89	16	42,11	38
TOTAL	120	52,17	110	47,83	230

Fuente: Elaboración propia.

$$\chi^2 = 7,35 \text{ g.l.} = 3, \text{ p} = 0,062$$

En la Tabla VII, se observa el total de 230 vacunos muestreados, según el tercio en que se presenta el aborto, resultando los mayores casos positivos en el primer tercio de gestación de un total de 51 bovinos 29 resultaron positivos con 56,86 % de casos positivos en el primer tercio de gestación, con 53,41 % y aquellos que no abortaron de 53 bovinos 18 fueron positivos con 33,96 %. Según la prueba estadística de Chi-cuadrado existe homogeneidad en los resultados.



Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 7:

Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según en que tercio de gestación se presenta el aborto.

En el Gráfico 7, se observa una seroprevalencia positiva mayor de *Neospora caninum* con 56,86 % en el primer tercio de gestación y con 33,96 % de seroprevalencia aquellos bovinos que no abortaron.

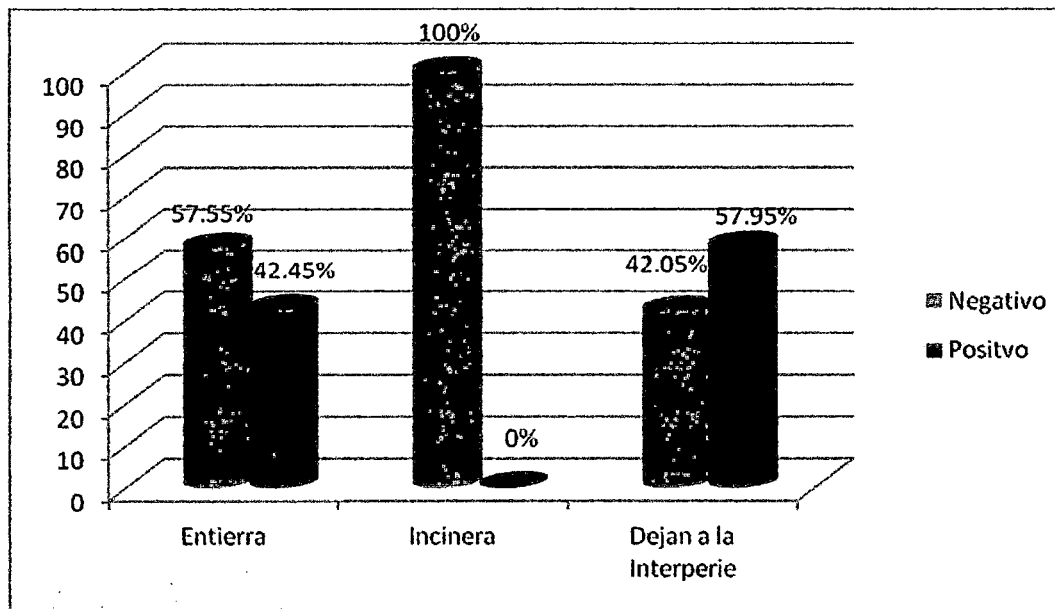
Tabla VIII. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según el destino de la placenta

DESTINO DE LAS PLACENTAS	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL
	N°	%	N°	%	N°
Entierra	80	57,55	59	42,45	139
Incinerada	3	100,00	0	0,00	3
Dejan a la Intemperie	37	42,05	51	57,95	88
TOTAL	120	52,17	110	47,83	230

Fuente: Elaboración propia.

$$\chi^2 = 7,980 \text{ g.l}=2, p = 0,018$$

En la Tabla VIII, observamos de un total de 239 vacunos muestreados, según el destino de las placentas, con mayor seroprevalencia de *N. caninum* aquellos que dejan a la intemperie de 88 bovinos 51 fueron positivos con 57,95 % y aquellos que entierran de 139 bovinos 59 fueron positivos 42,45 %. Al realizar la prueba estadística de Chi-cuadrado existe heterogeneidad estadísticamente en los resultados.



Fuente: Elaboración propia.

Gráfico 8:

Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según el destino de la placenta

En el Gráfico 8, se observa una mayor seroprevalencia de casos positivos con 57,95 % que dejan las placentas a la intemperie, y 42,45 % entierran.

V. DISCUSIONES

SEROPREVALENCIA GENERAL

En el presente trabajo de investigación se encontró una seroprevalencia general de *Neospora caninum* con un 47,82 % en el Distrito de Inclan; estos resultados tienen similitud a los encontrados por Mamani J. (2007), quien reportó una seroprevalencia de 50,96 % en la provincia de Mariscal Nieto - Moquegua y por Andresen, (1999) con una seroprevalencia de 57 % en Arequipa. También Cabrera et al. (2000), con una seroprevalencia de 43 % en Cajamarca y Quevedo et al. (2003), con una seroprevalencia de 40 % en Chachapoyas - Amazonas.

Estas diferencias de resultados probablemente se deben principalmente a que la enfermedad de Neosporosis está difundida en nuestro país y al manejo y al hospedero definitivo en casi todos los hatos presentan casos positivos a la enfermedad. Además de un deficiente control sanitario en los hatos lecheros y debido también a la introducción de animales de zonas con alta prevalencia de la enfermedad sin un diagnóstico serológico.

Por otro lado, existen discordancias con los resultados encontrados reportados por Cahuana J. (2006), con una seroprevalencia de 23 % en el Distrito de Inclán - Tacna, de igual forma los resultados por Atoccsa J. (2005), quien reportó un 18,1 % de seroprevalencia en la provincia de Melgar - Puno. También a los reportados por Silva et al. (2002) con una seroprevalencia de 29,61 % en bovinos lecheros del valle de Lima. Además Puray y Col. (2006) reportaron una prevalencia de 12,4 % en la SAIS - Junín. Así mismo Oviedo T. (2007) reportó una seroprevalencia de 10,2 % en Córdoba - Colombia, y Patitucci A. (2000), reportó una prevalencia de 15,2 % en vacas en la IX región de Chile.

Estas discordancias se deben probablemente a las diferencias en el manejo, al tipo de explotación y sobre todo a mayor control sanitario; así mismo a la eliminación del hospedero definitivo.

SEROPREVALENCIA DE *Neospora caninum* EN VACUNOS LECHEROS SEGÚN EDAD.

En nuestro estudio de investigación se encontró una mayor seroprevalencia de casos positivos de *Neospora caninum*, en la edad de 8 años con el 66,67 %, seguido de la edad de 4 años con 59,09 %, y de 6 años con 47,22 %. Nuestros resultados tienen similitud con los reportados por Mamani J, (2007) en valle de Moquegua provincia de Mariscal Nieto, de 2 a 3 años con 50,09 %, de 4 a 6 años con 61,40 % y son mayores frente a la edad de 7 a 9 años 37,78 %. También los resultados reportados por Cahuana J. (2006), nos indican que existe una mayor prevalencia entre las edades de 7 a 10 años con una prevalencia de 44,44 %, en el sector de Sama Grande en el distrito de Inclán - Tacna.

Estas similitudes se deben probablemente a que los bovinos comprendidos entre las edades de 3 años a más, son los animales que permanecen mayor tiempo en el hato lechero, es decir la edad condiciona la presencia del parásito como indica Jensen et al. (1999) un incremento de la seroprevalencia con la edad a mayor edad han tenido una mayor oportunidad de infectarse, lo cual es consecuente con los resultados del presente estudio.

Sin embargo, nuestros resultados presentan discordancias con los resultados reportados por Arnaiz I. (1999) con una mayor prevalencia entre las edades mayores a 3 años en un 20 % en Galicia - España. Así mismo presenta discordancia con los resultados reportados por Atoccsa (2005) que presentó una mayor prevalencia en las edades 1,5 a 2,5 años con 21,1 % y las edades de 2,5 a 3,5 años con un 20 %, respectivamente.

SEROPREVALENCIA DE *Neospora caninum* EN VACUNOS LECHEROS SEGÚN PROCEDENCIA.

En el presente estudio, se obtuvo la seroprevalencia de *Neospora caninum* según lugar de procedencia, un mayor porcentaje de prevalencia en los bovinos provenientes de zonas de Arequipa donde se registró el 56,00 % de casos positivos, seguido de 49,74 % provenientes de la misma zona de Inclán. Nuestros resultados tienen similitud con los reportados por Cahuana J (2006), quien obtuvo una mayor prevalencia de bovinos provenientes de Arequipa en un 30 %, igualmente de bovinos provenientes de Sama en 30 %.

Esto probablemente se debe a que en la zona de Arequipa se ha reportado una prevalencia mayor de la enfermedad de *Neospora caninum* (Andresen, 1999). Así mismo, dichos animales provenientes de esa zona son los descartes de los hatos lecheros, además que no cuentan con ningún diagnóstico serológico, de igual forma en el distrito de Inclán, también en la zona de Inclán no se cuenta con un estricto control sanitario de los bovinos del valle, debido a que está reglamentado solamente el diagnóstico de enfermedades zoonóticas como brucelosis y tuberculosis bovina, mas no ninguna otra enfermedad de corte productivo.

IDENTIFICAR FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS QUE CONDICIONAN LA PRESENTACIÓN DE *la Neospora caninum* EN VACUNOS LECHEROS.

En el presente estudio, se concluyó que existen factores epidemiológicos que condicionan la presentación de la enfermedad de Neosporosis, los cuales son principalmente: la presencia de perros, presencia de abortos, presencia de fetos momificados y el destino de las placentas que dejan a la intemperie.

Estos resultados tienen similitud con los reportados por Mamani J. (2007) quien reportó una mayor prevalencia en hatos con la presencia de 1 a 2 perros, igualmente para el destino de las placentas presenta un mayor porcentaje de positividad en hatos que dejan a la intemperie las placentas, seguido de botar la placenta a la sequia. De igual forma, con relación a la presencia de abortos se observa que hay un mayor porcentaje de positividad después de 2 abortos consecutivos. Por otro lado según los resultados reportados por Oviedo T. (2007) de Córdoba - Colombia, existe un 20 % de prevalencia con vacas con antecedentes de fetos momificados, además con un 9,95 % fueron vacas repetidoras de celo.

Estas diferencias probablemente se deben a que los abortos es un síntoma que más se ha reportados en casos de neosporosis, así mismo la presencia de hospedero definitivo juega un rol importante en la transmisión de la parasitosis, y en la cadena epidemiológica de la enfermedad.

VI. CONCLUSIONES

1. Los resultados de seroprevalencia de *Neospora caninum*, señalan que de un total de 230 animales muestreados, 110 resultaron positivos con una seroprevalencia de 47,82 %. Lo cual nos indica que casi la mitad de la población de vacas lecheras del distrito de Inclan presenta esta enfermedad.
2. La seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según edad, resultaron en mayor porcentaje las de 8 años con el 66,67 %, seguido de la edad de 4 años con 59,09 %.
3. La seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros según lugar de procedencia, resultaron en mayor porcentaje los animales procedentes de Arequipa con un 56 %, seguido de los provenientes de Inclan con un 49,74 %.
4. Los factores epidemiológicos que condicionan la presentación de la *Neospora caninum* en vacas lecheras son: la presencia de perros con un 48 %, presencia de abortos con un 51,68 %, presencia

de fetos momificados con un 40 %. Además los abortos se presentan en el primer tercio de gestación con un 56,86 %, y según el destino de las placentas se obtuvo un mayor porcentaje de ganaderos que las dejan votadas a la imperie con un 57,95 %, por lo cual la transmisión de la enfermedad se hace vertical y horizontalmente.

VI. RECOMENDACIONES

1. Implementar un sistema de monitoreo y cuarentena de los animales que ingresen por primera vez al hato provenientes de zonas de alta prevalencia de la enfermedad.
2. Efectuar el control serológico de las hembras para reposición ya sean propias o adquiridas de otros hatos.
3. Diseñar trabajos de investigación similares en otras zonas de explotación lechera de la región de Tacna.
4. Realizar programas de desparasitación de canes en todo el distrito de Inclán así como también programa de destrucción de placentas y fetos siendo la incineración la forma más viable evitando así que los perros lo digieran.
5. Desarrollar programas de capacitación sobre la enfermedad de *Neospora caninum*, con el fin de que el ganadero tome conciencia del grave problema que conlleva esta enfermedad en el hato, y sobre todo las medidas preventivas y de control.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anderson ML, Blanchard PC, Barr BC, Dubey JP, Hoffman RL, Conrad PA. 1991. Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J Am Vet Assoc* 198: 241-244.
2. Anderson, ML.; J.P. Reynolds; J.D. Rowe; K. Sverlow; A. Packham; B. Barr; P. Conrad. 1997. Evidence of vertical transmission of Neospora sp. infection in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 210: 1169-11.
3. Anderson, ML.; B. C. Barr y P. A. Conrad. 1994. Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 10(3):439 – 461
4. Anderson ML, Palmer CW, Thurmond MC, Picanso JP, Blanchard PC, Breitmeyer RE, Layton AW, McAllister M, Daft B, Kinde H, Read DH, Dubey JP, Conrad PA, Barr BC. 1995. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *J Am Vet Med Assoc* 207: 1206-1210.

5. Anderson, ML; A. G. Andrianarivo , P. A. Conrad. 2000. Neosporosis in Cattle. Anim Reprod Sci. 60-61:417-431.
6. Andresen, H. 1999. Neosporosis en el Perú y el mundo. Rev. Cienc. Vet. 15: 30-31
7. Agerholm, J. S. y B. C. Barr. 1994. Bovine Abortions Associated with Neospora in Denmark. Acta vet Scand. 35: 461 – 464.
8. Alvarez G, Collantes F, Costa E, Rebordosa X, Ortega- Mora L. 2003. Influence of age and purpose for testing on the cut-off selection of serological methods in bovine neosporosis. Vet Res 34: 341-352.
9. Arnaiz I, Moreda C, Alvarez N, Linares JM y col. Seroprevalencia de la Neosporosis en el Ganado Vacuno de Pontevedra. Laboratorio de sanidad y producción animal de Galicia. Avda Madrid 77.27002. Trabajo subvencionado por Xunta de Galicia (Proyecto PGIDT00AGR50701PR) y por el programa INTERREG.
10. Atocsa, J. (2005). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros criados Al pastoreo en la provincia de melgar, Puno. Tesis

para optar el Titulo de Medico Veterinario. Fac. Medicina Veterinaria.
UNMSM. Lima – Peru.

11. Aycachi, R. 2005. Parasitología – *Neospora caninum*, disponible en:
[www. Monografias.com/trabajos 30/ neospora-canimun/neospora-caninum.shtm](http://www.Monografias.com/trabajos_30/neospora-canimun/neospora-caninum.shtm).
12. Barling KS, Sherman M, Peterson MJ, Thompson JA, Mc Neill JW, Craig TM, Adams LG. 2000. Spatial association among density of cattle, abundance of wild canids, and seroprevalence to *Neospora caninum* in a population of beef calves. *J Am Vet Med Assoc* 217(9): 1361- 1365.
13. Barling, K.S.; D.K. Lunt; S.L. Graham; L.J. Choromanski. 2003. Evaluation of an inactivated *Neospora caninum* vaccine in beef Feedlot steers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 222(5): 624-627.
14. Barr B, Anderson M, Dubey J, Conrad P. 1991. *Neospora*-like protozoal infections associated with bovine abortions. *Vet Pathol* 28: 110-116

15. Barr, B. C.; P. A. Conrad, K. W. Sverlow, A. F. Tarantal y A. G. Hendrickx. 1994. Experimental Fetal and Transplacental Neospora Infection in the Nonhuman Primate. *Lab Invest.* 71 (2): 236 – 242.
16. Barr, B.C.; D. Buxton; P. Conrad; J.P. Dubey ;J.T. Ellis; M.C. Jenkins;S.A. Johnston.; D.S. Lindsay; L.D. Sibley; A.J.Trees; W. Wouda. 1997.Neosporosis report of the internacional Neospora workshop. *Parasitology* 19(4):120-144.
17. Barriga, O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los Animales Domésticos. primera Edición. Editorial Germinal. Santiago de Chile. Pp 193.
18. Bartels, C.J.M.; W. Wouda; Y. H.Shchukken. 1999. Risk factors for Neospora caninum- associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands 1995 to 1997. *Theriogenology* 52: 247-257.
19. Basso W, Venturini M, Bacigalupe D, Kienast M, Unzaga J, Larsen A, Machuca M, Venturini L. 2005. Confirmed clinical Neospora caninum infection in a Boxer puppy from argentina. *Vet Parasitol* 131: 299-303.

20. Baszler, T.V.; T.F. McElwain; B.A. Mathison. 2000. Immunization of BALB/c mice with killed *Neospora caninum* tachyzoite antigen induces a type two immune response and exacerbates encephalitis and neurological disease. *Clin. Diagn Lab. Immunol.* 7(6): 893-898.
21. Bildfell, R.; J. Davidson; J.P. Dubey. 1994. *Neospora* induced protozoal bovine abortion in Prince Edward Island. *Canadian Veterinary Journal* 35(2): 122.
22. Bjerkas, I., S.F. Mohn; y J. Presthus (1984). Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkd.* 70:271-274.
23. Björkman, C.; Johansson O, Stenlund S, Holmdahl OJM, Uggla, 1996. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 208: 1441-1444.
24. Björkman, C.; O.J. Holmdahl; A. Uggla. 1997. An indirect enzyme-linked immunoassay (ELISA) for demonstration of antibodies to *Neospora caninum* in serum and milk of cattle. *Vet. Parasitol* 68(3): 251-260.

25. Björkman, C.; y Uggla, A. 1999. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int. J. Parasitol.* 29, 1497-1507
26. Boulton, J.G.; P. A. Gill; R.W. Cock; G.C. Fraser.1995. Bovine *Neospora* abortion in North Eastern New South Wales. *Aust. Vet. Vet J.* 72(3): 119-120.
27. Buxton D, Mc Allister MM, Dubey JP. 2002. The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitol* 18: 546-552.
28. Cabrera, M.; P. Ortiz, J. Claxton, D. Williams y A. Trees. 2000. Evidencia serológica de infección por *Neospora caninum* en ganado vacuno en Perú. Res. IV Congreso Peruano de Parasitología. p: 212.
29. Cahuana, C. J. (2006) Seroprevalencia de *Neospora caninum* en Bovinos lecheros en el sector Sama grande del Distrito de Sama-Inclan –Tacna, Tesis para optar el título de Medico Veterinario y Zootecnia .Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Católica de Santa María .Arequipa, Perú. 100 pp.

30. Campero CM, Anderson ML, Conosciuto G, Odriozola H, Bretschneider G, Poso MA. 1998. Neospora caninum associated abortion in dairy herd in Argentina. *Veterinary Record* 143: 228-229.
31. Cantile C, Arispici M. 2002. Necrotizing cerebellitis due to Neospora caninum infection in an old dog. *Journal of Veterinary Medicine* 49: 47-50.
32. Cebrian L. M. Barberan M. Ferrer L. M. 2000. "Neosporosis y Aborto en el Ganado Bovino". Gabinete Técnico Veterinario S.L. San Mateo de Gallego. Zaragoza. Dpto de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Zaragoza.
33. Choromanski, L. y W. Block. 1999. Humoral immune responses and safety of experimental formulations of inactivated Neospora vaccines. En: *Diseases related to Protozoa and Possibilities for Treatment. Proc 17 th Int Conf WAAVP, Bayer Workshop. Pags: 23 – 25.*
34. Conraths FJ; G. Schares. 1999. Diagnosis and epidemiology of Neospora caninum- associated abortions in cattle. *Tierarztl prax Ausg. G Grosstiere Nutztiere.* 27(3): 145-153.

35. Corbellini LG, Driemeier D, Cruz CFE, Gondim LFP, Wald V. 2002. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Vet Parasitol* 103: 195-202.
36. Cordero del Campillo.; F. Rojo Vázquez. 1999. *Parasitología Veterinaria Segunda Edición*; p.330-332. McGraw Hill, Inter Americana. Madrid, España.
37. Cornejo N.; A. Chavez V.; E. Casa y C. Arana et al. 2004. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Manatara. *Rev. investing. Vet. Perú*. Vol.15. n° 1. p 70-75. ISSN 1609.
38. Dannatt L, Guy F, Trees AJ. 1995. Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. *Vet Rec* 137: 566-567.
39. Davison, H.C. ;C.S. Guy; J.W. Mc Garry; F. Guy; D.j. Williams; D.F.Kelly; A.J. Trees. 2001. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. *Res. Vet. Sci.* 2:163-168.
40. De Meerschman, F.; Speybroeck; D. Berkvens; C. Rettingner; C. Focant; T. Leclipteux; D. Cassart; B. Losson. 2002. Fetal infection with

Neospora caninum in dairy and beef cattle in Belgium. *Theriogenology* 58(5): 933-945.

41. Dijkstra Th, Barkema HW, Eysker M, Beiboer ML, Wouda W. 2003. Evaluation of a single serological screening of dairy herds for *Neospora caninum* antibodies. *Vet Parasitol* 110: 161-169
42. Dubey, J. P., Carpenter, J. L., Speer, C. A., Topper, M. J., y A. Uggla. 1988. Newly recognized fatal proyozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192: 1269-1285.
43. Dubey, J. P. y D. S. Lindsay. 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol.* 67: 1 – 59.
44. Dubey JP, Jenkins MC, Adms DS, Mc Allister MM, Anderson-Sprecher R, Baszler TV, Kwok OCH, Lally NC, Bjorkman C, Uggla A. 1997. Antibody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme-linked inmumnosorbent assays. *J. Parasitol* 83: 1063- 1069.
45. Dubey, j. P.(1999a) Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214, 1160- 1163

46. Dubey, J.P. (1999b). Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 84, 349-367
47. Dubey JP. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean J of Parasitology* 41 (1): 1-16
48. Dyer RM, Jenkins MC, Kwok OCH, Douglas LW, Dubey JP. 2000. Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. *Vet Parasitol* 90: 171-181.
49. Echaide I. 2000. jornada sobre enfermedades emergentes del bovino: Neosporosis Bovina. FAV UNRC. Río Cuarto – República Argentina
50. Fort, M. 2003. *Neospora caninum*: Estudio seroepidemiológico en bovinos de la provincial de La Pampa. Editorial EEA Anguil. La Plata-Argentina. 1-43 pp.
51. Gondim LFP, Mc Allister M, Pitt W, Zemlicka D. 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 34: 159-161.

52. Gondim LFP, Gao L, Mc Allister MM. 2002. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *J Parasitol* 88: 1159-1163.
53. Gondim LPF. 2006. *Neospora caninum* in willife. *Trenes Parasitol* 22(6): 247-252.
54. Gottstein. B.; S. Eperon; W. J. Dai; A. Cannas; A. Hemphill; G. Greif. 2001. Efficacy of toltrazuril and Ponazuril against experimental *Neospora caninum* infection in mice. *Parasitol. Res.* 87(1): 43- 48.
55. Hässig M, Gottstein B. 2002. Epidemiological investigations of abortions due to *Neospora caninum* on swiss dairy faros. *Vet Rec* 150: 538-542.
56. Hemphill,A.; B. Gottstein y H. Kauffman.1996. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. *Parasitology.* 112: 183-197.

57. Jenkins, M.C., Baszler, T., Björkman, C., Schares, G., y D. Williams. (2002). Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum* associated bovine abortion. *Int. J. Parasitol.* 32, 631-636.
58. Jenkins MC, 2001. Advances and prospects for subunit vaccines against protozoa of veterinary importance. *Vet Parasitol* 101: 291-310.
59. Jensen, L.; T. K. Jensen, P. Lind, S. A. Henriksen, A. Uggla y V. Bille-Hansen. 1998. Experimental porcine neosporosis. *APMIS* 106: 475 – 482.
60. Jensen AM, Björkman C, Kjeldsen AM, Wedderkopp A, Willadsen C, Uggla A, Lind P. 1999. Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Prev Vet* 40: 151-163.
61. Liddell, S.; M.C. Jenkins; C.M. Collica; J.P. Dubey. 1999. Prevention of vertical transfer of *Neospora Caninum* BALB/c mice by vaccination. *J. Parasitol.* 85(6):1072-1075.

62. Linares L. J.,2002. Evidencia serológica de transmision neonatal de *Neospora caninum* en ganado vacunos lechero en Cajamarca. Tesis de Medico Veterinario. Cajamarca: Facultad de ciencias veterinarias, Univ. Nac. Cajamarca.102 p.
63. Lindsay, D. S., Dubey, J. P.1989. *Neospora caninum* (Protozoa: apicomplexa) infections in mice. J.Parasitol. 75, 772-779.
64. Lindsay, D. S.; J. P. Dubey y R. B. Duncan. 1999a. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. Vet Parasitol. 82: 327 – 333.
65. Lindsay, D.Upton S , Dubey J. 1999b. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. Int J Parasitol 29:1521-1523.
66. Lindsay DS, Dubey JP, McAllister MM. 1999c.Neospora caninum and potential for parasite transmission, Compendium 21:317-321.
67. Lindsay DS, Rippey NS, Cole RA, Parsons LC, Dubey JP, Tidwell RR, Blagburn BL. 1994. Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells. Am J Vet Res 55:976-981.

68. Lozada E, 2004 Determinación de la presencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en hatos lecheros de la Sierra Centro norte del Ecuador, por prueba inmunoenzimática. *Tesis de Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia*, Universidad Central del Ecuador. 1-83.
69. Lorenzo V.; M. Fumarola; S. Siso. 2002. Neosporosis with cerebellar involvement in an adult dog. *J Small Anim. Pract.* 43 (2): 76-79.
70. Lunden, A.; S. Wright; J.E. Allen; D. Buxton. 2002. Immunization of mice against neosporosis. *Int. J. Parasitol* 32(7): 867-876.
71. Mamani J (2007). Seroprevalencia *Neospora caninum* en Bovinos Lecheros en el valle de Moquegua, Distrito de Moquegua, Provincia Mariscal Nieto y Departamento de Moquegua-2007. Tesis para optar el Título de Médico Veterinario y Zootecnista. Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Católica de Santa María Arequipa, Peru. 85 pp.
72. Mainar- Jaime, R.C.; M.C. Thurmond., B. Berzal- Herranz., S.K. Hietala. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet Rec.* 145: 72-75.

73. McAllister, M. M.; J. P. Dubey, D. S. Lindsay, W. R. Jolley, R. A. Wills y A. M. McGuire. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 28 (9): 1473 – 1478.
74. Mc Allister, M.; C. Bjorkman; R. Anderson-Sprecher, D.G. Roger. 2000. Evidence of point- source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. *J Am. Vet Med Assoc.* 217(6): 881-887.
75. Merck, 2000. *El Manual Merck de Veterinaria* .Quinta Edición en español Océano Grupo Editorial, S.A
76. Moen, A. R., W. Wouda; M.F. Mul; E.A.M. Graat; T. Van Werven. 1998. Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. *Theriogenology* 49:1301-1309.
77. Moore DP, Odeón AC, Campero CM.2001. Neosporosis bovina: una actualización. *Vet Arg* 180 (13): 752-775.

78. Moore DP, Odeon AC, Venturini MC, Campero CM. 2005. Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. *Rev Arg Mic* 37:217-228.
79. Moreno, E; A. Canales; L. Flores; M. Pineda; D. Aranibar 1998. Punto Focal; Puno, Estrategia regional para la conservación y utilización sostenible de la diversidad biológica. P.55. Consejo Nacional del Ambiente (CONAM).
80. Moskwa B, Pastusiak K, Bien J, Cabaj W. 2007. The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. *Parasitol Res* 100 (3): 633-636.
81. Nishikawa, Y.; Mikami; H. Nagasawa. 2002. Vaccine development against *Neospora caninum* infection. *J Vet. Med. Sci.* 64(19):1-5
82. Olivera S. Luis, MSc Asesor Técnico Gloria S.A. Sanidad del ganado lechero de la cuenca del Sur. *Rev. investig. vet. Perú*, 2001 jul./dic., vol.12, no.2.
83. Ortega-Mora, L. M.; A.Alonso, G. Alvarez, E.Collantes, J.M. Corpa, C. Frisuelos, M. Gómez - Bautista, L. Martin, G. Miró, J.Pereira Bueno,V.

Pérez, A. Quintanilla-Gozalo y L. Del Rio-González. 1999. Patología de la reproducción de etiología parasitaria II : Neosporosis. 2(88):1-17.

84. Ortega-Mora, L. M.; E. Collantes y G. Alvarez. 2001. La neosporosis del ganado bovino: una enfermedad emergente. *Rev de Cien Vet.* 17 (1): 7-14.

85. Ortega- Mora L, Fernández- Garcia A, Gómez- Bautista M. 2006. Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives. *Acta Parasitología* 51: 1-14

86. Ortega ,L.M.; E. Collantes;G. Alvarez. 2001.La neosporosis del ganado bovino: Una Enfermedad Emergente. *Rev. de Ciencias Veterinarias.* Lima, Perú 17(1):7-14.

87. Oviedo S. Teresa, Betancur H. Cesar, Mestra P. Alberto, y col. Estudio Serológico en Bovinos con Problemas Reproductivos en Montería, Córdoba, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, ene./jun. 2007, vol.12, no.1.

88. Packham, A. E. ; K.W. Sverlow; P.A. Conrad; E.F. Loomis; J.D. Rowe; M.I. Anderson; A.E. Marsh; C. Cray; 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.

89. Paré, J.; G. Fecteau; M. Fortin ; G. Marsolais. 1998. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *J Am. Vet. Med. Assoc.* 213(11): 1595-1598.
90. Patitucci, A.N., Perez, M.J., Carcamo, C.M. *et al.* Prevalencia de anticuerpos sericos contra *Neospora caninum* en rebaños lecheros de la IX Región de Chile. *Arch. med. vet.*, vol.32, no.2, Valdivia 2000 p.203-206.
91. Puray CH., Nidia, Chavez V., Amanda, Casas A., Eva *et al.* Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de una empresa ganadera de la sierra central del Perú. *Rev. investig. vet. Perú*, jul./dic 2006, vol.17, no.2, p.189-194.
92. Quevedo J, Chavez A, Rivera H, Casas E, Serrano E. 2003. Neosporosis en Bovinos lecheros en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. *Rev. investig. vet. Perú*, ene./jun.,14: 33-37. .

93. Quinn HE, Ellis JT, Smith NC. 2002. Neospora caninum: a cause of immune mediated failure of pregnancy. Trends Parasitol 18: 391-394.
94. Reichel, M.P. 2000. Neospora caninum infections in Australia and New Zeland Aust Vet. J. 78(4): 258-261
95. Rivera H. 2001. Etiología Infecciosa del Aborto Bovino. Revista de Investigación Veterinaria – Lima, Perú. 1:95 – 99.
96. 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.
97. Rojas M, 2004. Nosoparasitosis de los rumiantes domésticos peruanos. 2° ed. 146 p.
98. Rodríguez G. 2009. Neosporosis en la ganadería pecuaria en el Perú. Tesina de Medico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 48 p.

99. Sanderson MW, Gay JM, Baszler TV. 200. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Vet Parasitol* 90: 15-24.
100. SAU-SENASA. Sistema de Atención al Usuario (Internet), (15 de diciembre del 2008). Disponible http://www.senasa.gob.pe/servicios/servicios_en_linea/sigsa_web/default.asp
101. Schares G, Peters M, Wurm R, Barwald A, Conraths F. 1998. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet Parasitol* 80: 87-98.
102. SENAMHI, 2009. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrografía. Estación Tacna.
103. Silva, P.; A. Chávez; H. Rivera; E. Casas. 2002. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del valle de Lima. *Rev. Inv. Vet., Perú* 13: 51-55.
104. Slotved HC, Jensen L, Lind P. 1999. Comparison of the IFAT and Iscom- ELISA response in bovine foetuses with *Neospora caninum* infection. *Int J Parasitol* 29: 1165-1174.

105. Ståhl K, 2006. Bovine Viral Diarrhoea Virus and Other Reproductive Pathogens. Epidemiological Studies in Peruvian Cattle. Tesis doctoral. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences. P 44.
106. Thilsted, J. P. y J. P. Dubey. 1989. Neosporosis-Like Abortions in a Herd of Dairy Cattle. J Vet Diagn Invest. 1: 205 - 209.
107. Thurmond MC, Hietala S. 1995. Strategies to control Neospora infection in cattle. The Bovine Practitioner 29: 60-63.
108. Thurmond MC, Hietala S. 1996. Culling associated with Neospora caninum infection in dairy cows. Am. J. Vet. Res. 57: 1559-1562.
109. Thurmond MC, SK Hietala. 1997. Effect of Neospora caninum infection on milk production in first-lactation dairy cows. J. Am. Vet. Med. Assoc. 210:672-674.
110. Thornton RN, Thompson EJ, Dubey JP. 1991. Neospora abortion in New Zealand cattle. N Z Vet J 39: 129-133.

111. Torres L.2006. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en ganado vacuno lechero de Chota. Tesis de Medico Veterinario. Cajamarca : Facultad de Ciencias Veterinarias Univ. Nac. de Cajamarca.81 p.
112. Trees, A. J., H.C. Davison, E. A. Innes y J. M. Wastling1999.Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. Int J Parasitol. 29: 1195- 1200.
113. Ugglä, A.; S. Stenlund, O. J. M. Holmdahl, E. –B. Jakubek, P. Thebo, H. Kindahl y C. Björkman. 1998. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. Int J Parasitol. 28: 1467 – 1472.
114. Williams DJL, Guy CS, Smith RF, Guy F, McGarry JM, McKay JS, Trees AJ.2003. First demonstration of protective immunity against foetopathy in cattle with latent *Neospora caninum* infection. Inter J Parasitol 33: 1059-1065.
115. Wouda W, Dubey JP, Jenkins MC. 1997. Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. J Parasitol 83: 547-550.

116. Wouda, W; R. Moen y H Schukken. 1998. Abortion risk progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. Theriogenology. 49: 1311-1316.
117. Wouda, W.; T. Dijkstra; A.M. Kramer; C. J. Bartels. 2000. The role of the dog the epidemiology of neosporosis in cattle. Tijdschr Diergeneeskd. 125 (20): 614- 618.

ANEXOS

Anexo 1

FICHA DE ENCUESTA Y TOMA DE MUESTRA

Propietario:
 Localidad:
 Fecha de muestreo:
 Explotación: ()intensivo ()extensivo ()mixta
 Tecnificación: ()si ()no
 Propósito: ()leche ()carne ()mixta
 Total de animales: ()bovinos
 Total de muestras:

Calendario sanitario

Esp.	Animales vacunados	Prevención enfermedad	fecha	Lote	Nº. certif.

DESCRIPCIÓN

nº	Identificación (arete)	Raza	Edad	Sexo	Origen	Foráneo	Observaciones

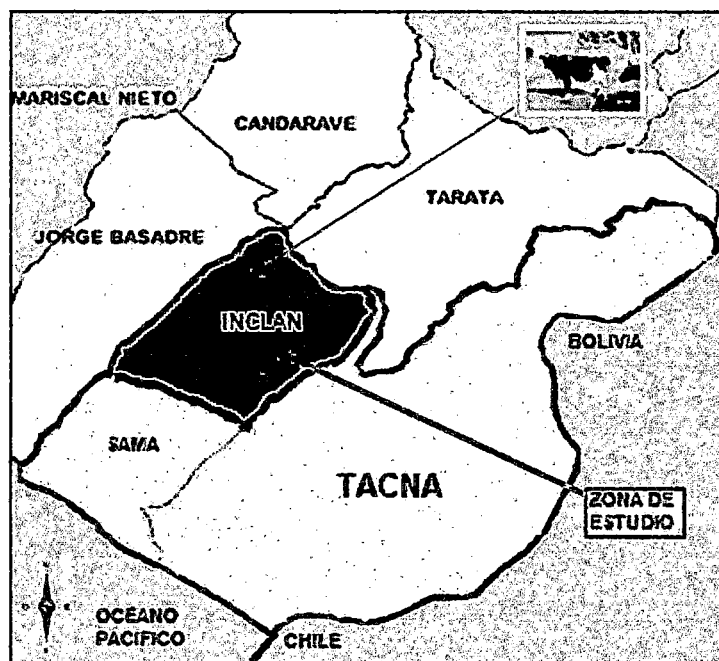
Manejo y conocimiento de la enfermedad.

- ¿Ha oído hablar de la **Neosporosis bovina**? ()si ()no
- ¿Cuáles son los problemas que ocasiona principalmente? Grado de conocimiento:
 ()bueno ()regular ()ninguno
- ¿Saben como prevenir y controlar la enfermedad?
 ()bueno ()regular ()ninguno
- Tipo de manejo
 - Compra de animales de reposición: ()si ()no
 - Ha comprado animales para su hato: ()hace un año ()hace meses
 ()hace semanas ()hace muy poco
 - Cuando los compra, previamente hace una prueba de descarte a Neosporosis: ()si ()no
 - Sus bovinos comparten bebederos y pastizales comunes: ()si ()no
 - A tenido problemas de Aborto en sus vacas últimamente: (fetos momificados) ()si ()no
 - ¿ En que mes de gestación abortan sus vacas? () no abortan () Primer tercio () segundo tercio () tercer tercio
 - Se utiliza una aguja por animal para tratamientos y vacunaciones: ()si ()no
 - limpia y desinfecta sus bebederos y comederos frecuentemente: ()si ()no
 - Que hace con los fetos y placenta de los abortos: ()entierra ()incinera ()deja a la intemperie
 - A observado zorros o perros merodeando por su chacra: ()si ()no

.....
 Firma del propietario.

Anexo 2

UBICACIÓN DEL DISTRITO DE INCLÁN, VALLE DE SAMA, REGION
DE TACNA-2009



Fuente: Elaboración propia

Anexo 3



CONSTANCIA

El que suscribe Medico Veterinario Oscar Pérez Chavez, Jefe del Área de Sanidad Animal de la Dirección Ejecutiva del SENASA-TACNA, hace CONSTAR que el Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia,

ESTHER CONTRERAS CALISANA

Ha realizado Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta Ig G en 230 muestras de sangre, para el Diagnostico de *Neospora caninum*. Las muestras fueron tomadas del Distrito de Incian del Valle de Sama, Región Tacna 2009.

Estas muestras corresponden a su trabajo de Tesis.

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para fines académicos.

Tacna, 27 de Julio del 2010.

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRIARIA
DIRECCIÓN EJECUTIVA TACNA
SENASA

Anexo 4



PERU	Ministerio de Agricultura	Servicio Nacional de Sanidad Agraria SENASA	Dirección Ejecutiva Tacna
------	---------------------------	---	---------------------------

"Decenio de las Personas con Discapacidad en el Perú"
"Año de la Consolidación Económica y Social del Perú"

CERTIFICADO DE TOMA DE MUESTRAS

El que suscribe el presente Jefe del Área de Sanidad Animal de la Dirección Ejecutiva del SENASA-TACNA, certifica que conjuntamente con el Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia Esther Contreras Calisana, realizo la toma de muestras de sangre en bovinos para la obtención de suero sanguíneo para el trabajo la tesis "Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros del Distrito de Inclán del valle de Sama, Región Tacna 2009", mediante punción en la arteria caudal utilizando tubos al vacío, a los cuales se identifico y fueron conservados en plano inclinado a temperatura ambiente en sombra, dejándolos coagular la sangre durante 1-2 horas; luego de lo cual se extrajo el suero, el cual se extravaso en un crioval debidamente identificado. Los sueros así obtenidos fueron conservados en congelación a - 20°C y remitidos en una caja isotérmica con refrigerantes a la Unidad del Centro de Diagnóstico de Sanidad Animal (UCDSA) del SENASA, para su análisis mediante la Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta Ig G.



FECHA DEL MUESTREO	PROPIETARIO	NUMERO DE BOVINOS	RESULTADOS	
			Positivo	Negativo
27/04/2009	Rosado Lopez Alberto	3	0	3
27/04/2009	Escobar Gutierrez Hilda	4	2	2
27/04/2009	Ayala Sayuca Darriaso	3	2	1
27/04/2009	Carpio Liendo Pedro	2	0	2
27/04/2009	Ticona Ninaja Santos	4	2	2
27/04/2009	Nieto Cabrera Raul	3	1	2
27/04/2009	Escobar Qui Gerardo	2	1	1
27/04/2009	Machaca Huanacuni Silveria	6	3	3
27/04/2009	Oscor Mandilla Sixto	9	3	6
27/04/2009	Maquera Arpad Lidia	15	9	6
27/04/2009	Escobar Gutierrez Elsa	4	2	2
27/04/2009	Chamblla Mamani Juan	10	2	8
27/04/2009	Nieto Cabrera Juan	1	0	1
08/05/2009	Uaca Quispe Guillermo	2	2	0
08/05/2009	Fora Ninaja Rogelio	3	0	3
08/05/2009	Mamani Mamani Reimer	9	6	3
08/05/2009	Cahuana Gutierrez Julio	13	2	11
08/05/2009	Nina Ninaja Santiago	5	1	4
08/05/2009	Layme Valeriano Hector	2	0	2
08/05/2009	Conde Linares Teofilo	6	3	3
08/05/2009	Rodriguez Maldonado Ever	1	0	1



"Decenio de las Personas con Discapacidad en el Perú"
"Año de la Consolidación Económica y Social del Perú"

08/05/2009	Hernache Bedño	3	2	1
08/05/2009	Velásquez Catacora, Walter	9	4	5
08/05/2009	Quispe Mamani Ana	11	6	5
08/05/2009	Vega Fernandez Jufo	5	3	2
08/05/2009	Tuyo Santuza Eharu	3	2	1
08/05/2009	Lopez Maquera Eliseo	4	3	1
08/05/2009	Mamani Condori Jorge	2	1	1
08/05/2009	Mamani Mamani Francisco	2	1	1
08/05/2009	Lupaca Lupaca Leonarcho	5	5	0
15/05/2009	Rosado Vica Jufo	3	0	3
15/05/2009	Layme Maquera Hilario	2	1	1
15/05/2009	Condori Velasquez Mauro	3	2	1
15/05/2009	Chanini Coama Javier	4	3	1
15/05/2009	Chavez Chavez Manuel	4	4	0
15/05/2009	Soto Vargas Jose	2	0	2
15/05/2009	Quispe Laura Vicente	4	2	2
15/05/2009	Cosí Maquera Isidora	5	3	2
15/05/2009	Laura Mamani Juan	4	3	1
15/05/2009	Colque Huanca Daniel	3	1	2
15/05/2009	Rosas Lupaca Andres	3	1	2
15/05/2009	Morales Lucana Miguel	2	1	1
15/05/2009	Justo Gutierrez Rosendo	4	2	2
15/05/2009	Condori de Tuyo Victoria	5	3	2
15/05/2009	Vega Melendez Wilfredo	4	2	2
15/05/2009	Paco Paniagua Paulo	7	2	5
15/05/2009	Yacub Rios Tomas	11	7	4
15/05/2009	Pantahua Conde Toribia	3	1	2
15/05/2009	Atencio Lupaca Juana	6	4	2
TOTAL		230	110	120

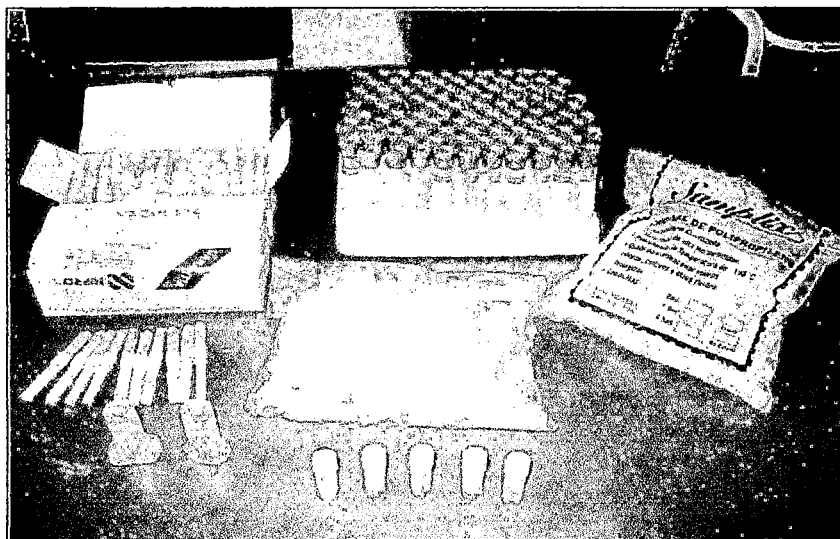


Se expide el presente para los fines del interesado y que crea por conveniente, siendo el 27 de Julio del 2010.

MINISTERIO DE AGRICULTURA
Servicio Nacional de Sanidad Agraria
SENASA - TACNA

REP. VET. OSCAR FERRER
COORDINADOR TACNA

TRABAJO EN EL CAMPO



Fuente: Elaboración propia.

Imagen 1.- agujas vacutainer (1), tubos al vacío (2) y holders (3).



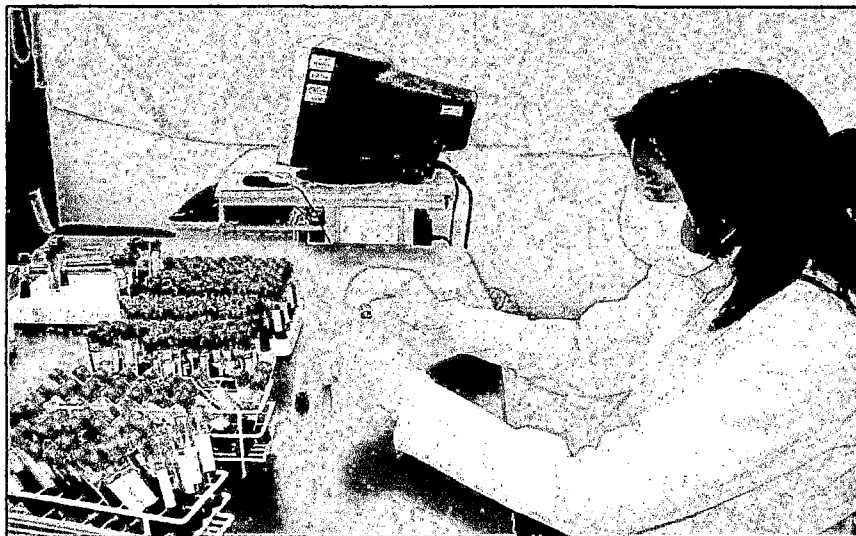
Fuente: Elaboración propia.

Imagen 2.-Llenado de la ficha de encuesta



Fuente: Elaboración propia.

Imagen 3. -Toma de muestra sanguínea no menor a 7 ml,
por la vena coccígea.



Fuente: Elaboración propia.

Imagen 4.-Separación del suero sanguíneo.