

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“SEROPREVALENCIA DE NEOSPOROSIS CANINA EN
VACUNOS *BROWN SWISS* Y CRIOLLOS DEL CENTRO DE
INNOVACIÓN Y PRODUCCIÓN ILLPA – PUNO”**

TESIS

PRESENTADA POR:

GLORIA ALANGUIA BUTRÓN

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2019

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

“SEROPREVALENCIA DE *Neosporosis Canina* EN VACUNOS BROWN SWISS
Y CRIOLLOS DEL CENTRO DE INNOVACIÓN Y PRODUCCIÓN ILLPA –
PUNO”

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. GLORIA ALANGUIA BUTRÓN

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:



PRESIDENTE:

MSc. MÁRIO RUBÉN ZAVALA GIBAJA

PRIMER MIEMBRO:

MVZ. ROLANDO GUADALUPE ALENCASTRE DELGADO

SEGUNDO MIEMBRO:

MSc. WILBUR RUBÉN AYMA FLORES

DIRECTOR / ASESOR:

Dr. JULIO MÁLAGA APAZA

Área : Salud animal

Tema : Seroprevalencia de Neosporosis canina en vacunos Brown Swiss

Fecha de sustentación: 25 de julio de 2019

DEDICATORIA

A mi madre ISIDORA BUTRON por haber sido mi mayor motivación en este camino de mi formación académica, a ella por su apoyo desinteresado, por su amor y cariño, por todos sus consejos que aunque no pudo estar mucho tiempo a mi lado supo inculcarme a ser una persona de bien, por comprenderme siempre y creer en mí, por brindarme tantas cosas que ella nunca tal vez se dio cuenta que me brindaba, para enfrentarme a la vida cuando no estuviera a mi lado, a mi madre por ser una mujer que más que ejemplo ella es mi admiración, mi pilar a ella que jamás pude decirle lo mucho que le debo a su esfuerzo, a ella por vivir y estar en mi vida.

A mi hermano CARLOS ADAN DUX BUTRON por estar en mis momentos más importantes, por sus consejos, por su apoyo incondicional y porque las circunstancias de la vida sin saberlo él me enseñó a no necesitar ser familia completa para apoyarnos lo que hace ser en mi vida alguien más importante, por ser esa imagen masculina en mi vida.

A mis hermanos; IDELVECES VENANCIA, BETO Y URIEL ALANGUIA BUTRÓN por ser parte de mi familia.

A mi novio AMERICO CHARA IBAÑEZ, por su apoyo y cariño incondicional, por ser mi motivación en el inicio de esta etapa de mi vida y hacer posible en mí una mejor persona cada día.

A mis sobrinas; BLANCA Y VALENTINA RODRIGUEZ ALANGUIA.

A todas mis amistades que me acompañaron durante esta travesía

AGRADECIMIENTO

A:

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

La Universidad Nacional del Altiplano Puno por la formación integral a lo largo de toda mi vida profesional, y a mis queridos docentes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por todos sus conocimientos impartidos y por cada experiencia compartida.

Dr. Julio Málaga Apaza, por el asesoramiento y la exigencia durante la ejecución de la presente investigación.

LABORATORIO LAVETSUR - AREQUIPA, por el análisis de muestra y la capacitación en el Ensayo de Inmunoabsorción Ligada a Enzimas.

Mis amigos y compañeros: Edelmira Canaza Choque, Lucia Beatriz Chagua Mamani, Janeth Jihuallanca Flores, Naty Marily Rodrigo, Yonni Saolin, Néstor Francisco Condori Quispe, Mayhua Chinchiercoma, Ubaldino Huaquisto, Roy Raul Quispe Tacca, Juan Carlos Iturri Ponce, Jimena Romero Yanque, shemili chicata ticona Natalia Quenta, Edita Yola Torres Huamani, Angelina Puma Iquise, Max Rudy Borda Pandia, Rut Betsaida Vargas Parra, Vlas Vladimir Huacasi, Richard Apaza Cusi, Arturo Calsina Lope, Macoy Daygoro Tutacano, Arcángel Q, chano hanco.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	8
RESUMEN	9
ABSTRACT.....	10
INTRODUCCIÓN	11
1.1. Objetivos de la investigación.....	12
1.1.1 Objetivo general.....	12
1.1.2. Objetivos específicos	12
REVISIÓN DE LITERATURA	13
2.1. Marco Conceptual.....	13
2.1.1. Ciclo Biológico	15
2.1.2. Epidemiología	16
2.1.3. Factores predisponentes	20
2.1.4. Patogénesis.....	24
2.1.5. Signos clínicos	26
2.1.6. Lesiones	28
2.1.7. Inmunidad	28
2.1.8. Diagnóstico	29
2.1.9. Control y Prevención.....	31
2.2. ANTECEDENTES.....	32
MATERIALES Y MÉTODO	36
3.1. LUGAR DE ESTUDIO.....	36
3.2. MATERIAL DE ESTUDIO.....	36
3.2.1. Cálculo de la muestra para la variable cuantitativa discreta	36
3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	37
3.3.1. Materiales para la toma de muestras sanguíneas.....	37
3.3.2. Materiales para envío de muestras	37
3.3.3. Materiales para prueba de ELISA.....	38
3.3.4. Reactivos.....	38
3.3.5. Reactivos.....	38
3.4. METODOLOGÍA	39
3.4.1. Metodología Para Seroprevalencia De <i>Neospora Caninum</i>	39
3.5. CÁLCULO DE PREVALENCIA.....	41

3.6. METODOLOGÍA PARA FACTOR DE RIESGO	41
3.7. CUESTIONARIO PARA VALIDACIÓN DE LA PRUEBA ELISA	41
3.8. MÉTODO ESTADÍSTICO	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1. PREVALENCIA DE Neospora caninum.....	43
4.2. SEGÚN RAZA	44
4.3. SEGÚN RAZA Y CLASE ANIMAL	45
4.4. SEGÚN RAZA Y SEXO	46
4.5. IDENTIFICACION DE FACTORES DE RIESGO	47
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES.....	50
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	51
ANEXOS	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Estadios de <i>neospora caninum</i>	15
Tabla 2 Distribucion De Animales En Estudio, Segun Raza Y Sexo.....	37
Tabla 3 Distribucion De Muestras Para El Estudio, Segun Raza Y Clace	37
Tabla 4 Seroprevalencia General De <i>Neospora Caninum</i> En Vacunos Brown Swiss Y Criollos De La Estación Experimental Illpa – Región Puno	43
Tabla 5 Seroprevalencia De <i>Neospora Caninum</i> En La Estación Experimental Illpa – Región Puno, Según Raza	44
Tabla 6 Seroprevalencia De <i>Neospora Caninum</i> En Vacunos Brown Swiss Y Criollos De La Estación Experimental Illpa – Región Puno, Según Raza Y Clase Animal.	45
Tabla 7 Seroprevalencia De <i>Neospora Caninum</i> En Vacunos Brown Swiss Y Criollos De La Estación Experimental Illpa – Región Puno, Según Raza Y Sexo Animal..	46
Tabla 8 Factores De Riesgo Para La Ocurrencia De La Neosporosis.	47

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
- VDVB: Virus de la diarrea viral bovina
- LABVETSUR: Laboratorio veterinario de Sur
- FMVZ = Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- C/P = Con producción
- S/P = Sin Producción
- ELISA = Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
- UNA = Universidad Nacional del Altiplano
- T.M. = Toneladas métricas
- RIA = Radio inmunoensayo
- Nm = Nanómetros
- Ig G = Inmunoglobulinas G
- IL-12: Interleucinas 12
- Ig M = Inmunoglobulinas M
- μL = Microlitros
- mL = Mililitro
- ADN = Ácido desoxirribonucleico
- IB: Inmunoblot
- IFI: Inmunofluorescencia indirecta
- IHQ: Inmunohistoquímica
- OD: Densidad Óptica
- SNC: Sistema nervioso central

RESUMEN

La Neosporosis es una enfermedad parasitaria causada por *Neospora Caninum* que está asociada con altas tasas de aborto en el ganado bovino; el presente estudio fue realizado en el Centro de Innovación y Producción Illpa – Instituto Nacional de Investigación Agraria – de la Región Puno; con objetivos de determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos *Brown Swiss* y Criollo, según clase animal (vaca, vaquillona, toro y torete), sexo (hembras y machos), e identificar factores de riesgo para la presentación de la Neosporosis en vacunos. Para ello se ha utilizado un total de 93 animales, (63 son Brown swiss y 30 criollos); de los cuales se colectaron sangre de la vena caudal en tubos vacutainer y el suero se trasvasó a los viales para ser analizado en el LABVETSUR – Arequipa, donde se analizaron mediante la prueba de Inmunoabsorción Ligada a Enzima (ELISA). Los datos obtenidos fueron procesados mediante la prueba estadística de Ji – Cuadrada. La seroprevalencia general de *Neospora caninum* fue de 3.225 % en 93 animales, en vacunos *Brown Swiss* 1.59 % y en criollo 6.67 %. Según clase animal, vacas *Brown Swiss* 1.82 % y vaquillas, vaquillonas 0.00 % mientras que en criollos, vacas, 9.10 % vaquillas, toretes, y toros 0.00%, ($P \geq 0.05$). Según sexo, no se encontraron seropositivos en animales machos, mientras en hembras *Brown Swiss* 1.59 % y criollos 7.41 % ($P \geq 0.05$). En conclusión, el agente causal de la *Neosporosis* se encuentra presente en el hato de vacunos del centro de innovación y producción INIA - Illpa, debido a los factores de riesgo, como es la tenencia de caninos por los pastores, consumo de placenta de vacas post parturientas por los caninos, adquisición de vacunos sin previo análisis serológico o cuarentena.

Palabras Clave: ELISA, Neospora, Seroprevalencia, Vacunos.

ABSTRACT

Canine Neosporosis is a parasitic disease that is associated with high rates of abortion in cattle; for this reason, the present study was carried out in the Illpa Innovation and Production Center - National Institute of Agrarian Research - of the Puno Region; with objectives to determine the seroprevalence of *Neospora caninum* in Brown Swiss and Criollo cattle, according to animal class (cow, heifer, bull and bull), sex (females and males), and to identify risk factors for the presentation of Neosporosis in cattle. For this, a total of 93 animals were used (63 are Brown swiss and 30 Creoles) from which 7 ml of blood from the caudal vein was obtained in vacutainer tubes to be centrifuged in the laboratory of the Illpa Experimental Station and serum it was transferred to the vials to be analyzed in the LABVETSUR of the city of Arequipa through the Enzyme Linked Immunosorbent Test (ELISA). The data obtained were processed through the statistical test of Chi - Square. The results of the general seroprevalence of *Neospora caninum* was 3.225% (3/93). In Brown Swiss race it was 1.59% (1/63) and in Creole 6.67% (2/30). According to animal class, heifer, heifers and Brown Swiss cows showed prevalences of 0.00%, 0.00% and 1.82%; in cows, heifers, bulls and bull criollos 9.10% (2/22), 0.00%, 0.00% and 0.00% respectively ($P \geq 0.05$). According to sex, they were not found seropositive in male animals, while in Brown Swiss females 1.59% (1/63) and 7.41% Creoles (2/27) ($P \geq 0.05$). The identified risk factors were: the possession of canines in the home of the shepherds, the placenta consumption of postparturient cows by the canines. Acquisition of cattle without previous serological analysis.

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

I. INTRODUCCIÓN

La neosporosis, enfermedad producida por *Neospora caninum*, es causa de aborto en hatos lecheros a nivel mundial (Anderson *et al.*, 2000; Dubey *et al.*, 2003), por lo tanto genera pérdidas económicas directas, como también costos indirectos asociados a la asesoría veterinaria para establecer un diagnóstico, la repetición de la inseminación o cruza, aumento del tiempo de lactancia, pérdidas de producción láctea y los costos de reemplazo en los casos de eliminación de las vacas (Barr *et al.*, 1997).

En los últimos años se ha identificado al parásito *Neospora caninum* como uno de los principales agentes infecciosos causantes de problemas reproductivos en ganado bovino lechero. El *N. caninum* pertenece a un nuevo género de la familia Sarcocystidae, del Phylum Apicomplexa y está estrechamente relacionado al *Toxoplasma gondii* (Holmdahl *et al.*, 1994). El aborto, es el principal signo clínico producido por este parásito en el ganado bovino, se puede presentar en cualquier momento de la gestación, aunque con mayor frecuencia entre el cuarto y sexto mes de gestación (Anderson *et al.*, 1994). También puede provocar la muerte de terneros neonatos o nacimiento de animales enfermos con signos nerviosos, o el nacimiento de otros sin infección aparente, los cuales pueden comportarse como diseminadores de la enfermedad dentro del hato (Dubey, 1999; Schares *et al.*, 1998). La única forma de transmisión reconocida en bovinos es la vertical de madre a cría, vía trasplacentaria. La transmisión horizontal en cambio, es frecuente en caninos (Bergeron *et al.*, 2000).

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

Estudios recientes indican que el *N. caninum* se viene convirtiendo en un agente parasitario de gran importancia en el Perú, según los estudios de prevalencia realizados en las diversas cuencas lecheras (Rivera, 2001). Entre los problemas que producen mayores pérdidas económicas a nivel pecuario se encuentran los índices reproductivos, destacando los abortos de diversa etiología (Anderson *et al.*,1994).

En zonas alto andinas mayores a 4000 m de altitud se crían vacunos con fines de producción de leche para la seguridad alimentaria de los productores individuales; en el cual no se tiene reportes sobre la situación de salud de los animales en la estación experimental.

1.1. Objetivos de la investigación

1.1.1 Objetivo general

- Determinar la seroprevalencia de neospora, *caninum* en vacunos Brown swiss y Criollos de la Estación Experimental Illpa – Región Puno

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum*, según raza, clase y sexo animal,
- Identificar factores de riesgo que predisponen la presentación de la Neosporosis.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Marco Conceptual

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

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

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

La Neosporosis bovina es producida por un protozoo formador de quistes perteneciente a la familia Sarcocystidae, género Neospora. Solo una especie ha sido citada, *Neospora caninum* por Dubey en 1998, como agente productor de una encefalomiелitis congénita y ataxia locomotora en los cachorros (Cordero del Campillo & Vázquez, 1999), también afecta a las principales especies de ganado doméstico, animales de compañía y a algunos animales salvajes (Radostits y Arundel, 2002).

En cuanto a las características morfológicas se considera que está conformada por tres fases, considerando a los taquizoitos como primer estado infeccioso de *Neospora caninum* y se encuentra en el hospedador intermedio y en forma intracelular,

generalmente a nivel citoplasmático específicamente en la vacuola parasitófaga de la célula hospedador; puede parasitar a un gran número de células como neuronas, macrófagos, fibroblasto, células endoteliales, miocitos, hepatocitos. Los taquizoitos se dividen por endodiogénesis en forma rápida, miden aproximadamente 7,5 μm aprox. (3-7 μm) de longitud, (1- 5 μm) de ancho, tiene entre 6-16 roptrias y en algunos casos presentaron entre 4-6 roptrias localizados posterior al núcleo, raramente se observa un microporo. Son de forma ovoide, semilunar o globosa (Anderson *et al.*, 2000).

En cuanto a los bradizoitos considerado como el segundo estado infeccioso se dividen por endodiogénesis, en forma lenta, encontrándose dentro de los quistes titulares, miden aproximadamente 7-8 μm presentan un número menor de roptrias, morfológicamente son similares a los taquizoitos. Los quistes titulares han sido observados en tejido nervioso y muscular (Anderson *et al.*, 2000). Es un estado en el hospedador intermediario; los quistes en el tejido son ovalados o redondos y miden hasta 107 μm de diámetro y se encuentran primariamente en el sistema nervioso central, dentro de los quistes se encuentran los bradizoitos aproximadamente entre 50 a 500, su pared es lisa y gruesa (Moore *et al.*, 2005).

Los ooquistes no esporulados son eliminados por el hospedador definitivo midiendo entre 11.7 a 11.3 mm de diámetro (Lindsay *et al.*, 1993). Estos ooquistes no esporulados luego de tres días en el medio ambiente desarrollan dos espro-quistes con cuatro esporozoitos cada uno morfológicamente similar a los ooquistes de *Toxoplasma gondii* y *Hammondia* en perro, los estados enteroepiteliales en el perro no han sido descritos hasta el presente (Paz, 2005).

Tabla 1 Estadios de neospora caninum

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

Fuente: Escalona *et al.*, 2010

2.1.1. Ciclo Biológico

El *Neospora caninum* comprende un ciclo biológico indirecto, es decir requiere de hospedadores intermediarios y definitivos que favorecen su diseminación (Martínez *et al.*, 2012). Hasta la fecha se han descrito como hospedadores definitivos, el perro, el coyote, el dingo y el lobo (Dubey, Schares, & Moore, 2005).

Se ha definido a diferentes animales domésticos como hospedadores intermediarios entre ellos los caninos, bovinos, ovinos, caprinos, búfalos y animales silvestres como lobos, coyotes, zorros, ciervos y alces. El perro actúa como hospedador intermediario y hospedador definitivo, desarrollando las fases de reproducción asexual (merogonia) y sexual (gametogonia), respectivamente; luego de ingerir los quistes tisulares con bradizoitos (infección transversal). Consecuentemente en las heces los perros excretan los ooquistes inmaduros, que luego de unos pocos días esporulan y entonces están listos para infectar al bovino y a otros animales. En el bovino ocurre una reproducción asexual (merogonia), asintomática, pero con capacidad de infección vertical o transplacentaria, para generar patología fetal y aborto. En estos tejidos hay taquizoitos y bradizoitos, que al ser ingeridos por el perro complementan el ciclo (Cordero del Campillo, 1999).

Los huéspedes intermediarios, por ejemplo, los bovinos, ingieren los ooquistes con agua o alimento contaminados, los mismos se abren en el intestino, y penetrando las células se transforman en taquizoitos que se dividen rápidamente y se distribuyen por

todo el organismo. Estos proliferan en diversas células, las destruyen, se liberan e infectan otras células vecinas. También son capaces de cruzar la placenta e infectar el feto. Cuando el huésped desarrolla una respuesta inmunitaria suficiente, se forman los quistes tisulares en el sistema nervioso (Fisher & McGarry, 2007).

En humanos no existen antecedentes de infección con este parásito (Schaes *et al.*, 1998). Sin embargo, existe la posibilidad que sea subdiagnosticado como toxoplasmosis (Barr *et al.*, 1997). Se considera que tiene un potencial zoonótico debido a que experimentalmente se ha logrado infectar a 2 monos Rhesus, pero, aún no existe evidencia de infección en humanos (Dubey, 2003).

La fase sexual en el tracto gastrointestinal del perro liberan ooquistes esporulados que miden 10 a 11 micras (Quispe *et al.*, 2016). Y la fase asexual conformada por los dos estados como los Taquizoítos; forma infectiva y bradizoítos de forma latente. La neospora es un endoparásito ya que se encuentra ubicado en el intestino tanto de perros (h. definitivo) como en el del vacuno (h. intermediario). También se ubican en hígado, pulmón, cerebro, placenta y músculos (Paz, 2005).

2.1.2. Epidemiología

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

consecuentes pérdidas económicas por la reducción en la producción de leche, la muerte de neonatos y la pérdida de animales adultos citado por Vargas y Cortés (2001).

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

Los estados patógenos corresponden a los taquizoitos que se replican por endodiogenia y son estadios intracelulares en diferentes tejidos, igual a lo que sucede con *Toxoplasma gondii* (Vargas & Cortés, (2001).

Los taquizoitos de *Neospora caninum* han sido observados en la mayoría de tejidos de terneros infectados de forma congénita asociados con las lesiones, cuando se observa por microscopio. Los taquizoitos crecen en cultivos celulares de fibroblastos y son fuente de antígeno para las pruebas de diagnóstico serológico. Los quistes tisulares han sido aislados en cerebro y cordón espinal de fetos infectados y normalmente no se encuentran asociados a las lesiones. Estos quistes contienen numerosos bradizoitos (más de 200), su pared es gruesa de 2 a 4 micras de grosor. Los caninos excretan ooquistes no esporulados después de la ingestión de quistes tisulares. Se asume que existe una fase asexual en el intestino del perro antes del ciclo sexual pero el tiempo necesario para excretar los ooquistes después de la infección no se conoce. La esporulación se lleva a cabo en el medio ambiente durante 3 días y se observan ooquistes de 10 a 11 μm que contienen dos esporoquistes con cuatro esporozoitos, estos ooquistes son difíciles de visualizar por las

técnicas convencionales de flotación cuando las infecciones son bajas (McAllister *et al.*, 1998; Vargas & Cortés, 2001).

A comienzos de la década de los 90, Anderson *et al.*, (1994) y Barr *et al.*, (1997) reconocieron a la neosporosis como la principal causa de aborto en el ganado bovino lechero de California, hecho que fue apoyado por los resultados obtenidos por diferentes grupos investigadores de otros países. Desde entonces, se han multiplicado los estudios para la obtención y caracterización de diversos aislados de *N. caninum*, no solo de origen canino sino también bovino (Anderson *et al.*, 1994).

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

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

Los perros que consumen tejidos infectados pueden eliminar quistes manteniendo su condición de seronegativo; un canino que se comporta como hospedador intermediario puede ser seropositivo y transmitir la infección vertical a sus cachorros o presentar miositis, parálisis y dermatitis. La exposición postnatal de los caninos está demostrada por el incremento de la seroprevalencia en perros de mayor edad (Moore *et al.*, 2005).

La infección en los canes ha sido reportada en varios países, aunque los casos de enfermedad clínica son escasos. Estudios epidemiológicos demuestran que los perros presentan prevalencias variadas, sin embargo, los perros de zonas urbanas presentan una

tasa de infección menor que aquellos que viven en establos; y además dicha infección aumenta cuando los animales proceden de establos con problemas de abortos (Cornejo *et al.*, 1999).

Todavía se encuentra en debate si los zorros y más aún los lobos que tienen una relación filogenética cercana con los perros puedan también ser hospedadores definitivos de *Neospora caninum* (Dubey *et al.*, 2007).

Se describen diversos hospederos intermediarios, tanto animales domésticos (caninos, bovinos, ovinos, caprinos, búfalos y equinos) como silvestres (lobos, coyotes, zorros, ciervos y alces) (Moore *et al.*, 2005).

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

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

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

Los hospedadores susceptibles se infectan ingiriendo forraje y agua contaminada con heces que contienen ooquistes de *N. caninum*. Seguidamente a la ingestión los

esporozoitos son liberados en el tracto intestinal. Estos se dividen rápidamente, causando daño tisular y diseminando la infección a otros tejidos del hospedador (Lindsay *et al.*, 1993).

También este protozoo puede ser eliminado a través del semen en toros y su ADN ha sido ocasionalmente detectado en muestras de semen congelado. Aunque los toros se comportan como hospedadores intermediarios sería poco probable la ocurrencia de transmisión venérea; sin embargo, esta posibilidad aún no ha sido investigada (Moore *et al.*, 2005).

2.1.3. Factores predisponentes

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

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

Las diferencias encontradas en relación con el riesgo de aborto de los animales y la edad han sido poco sólidas o no son significativas, señalando que la infección se ha diagnosticado en fetos abortados por vacas de edad muy variable (Dubey, 1999).

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

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

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

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

En un estudio realizado en Alemania, grandes rebaños tenían un mayor riesgo, siendo los de leche de mayor positividad. Las explicaciones posibles son que al aumentar el tamaño

del hato hay una mayor probabilidad de adquirir *Neospora caninum*, por ejemplo, al comprar vaquillas de reposición (Dubey *et al.*, 2007).

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

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

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

Se puede indicar que la mayoría de las infecciones se llevan a cabo en épocas de lluvia, ya que la viabilidad de los ooquistes disminuye en época seca, se debe tener

presente que sólo son necesarios 300 ooquistes esporulados para infectar una ternera (Gondim *et al.*, 2004).

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

Se ha confirmado la Neosporosis en más de 30 razas incluyendo el Yorkshire Terrier, el West Highland White Terrier, el Border Collie, el Springer Spaniel, el Husky, el Gran Danes y el Bernés de la Montaña. Los labradores y los Boxers están bien representados, pero estas son razas muy populares (J. Barber, 1998). No se conoce si existe una mayor susceptibilidad por raza o sexo. Sólo se tiene el antecedente de que la mayoría de los casos se han descrito en Labradores, Boxers, Greyhounds, Golden Retriever y Basset Hounds (Barr *et al.*, 1997).

Debemos considerar la existencia de infecciones concurrentes por otros patógenos, agentes inmunosupresores infecciones y no infecciosos que pueden predisponer al aborto de fetos infectados por *Neospora caninum* (Barr *et al.*, 1997).

Algunos autores sugieren que la infección por el virus de la diarrea viral bovina (DVB) favorece la manifestación clínica de la neosporosis bovina por la inmunosupresión que ocasiona en el animal facilitando la reactivación de las infecciones latentes o la infección postnatal (Dubey *et al.*, 2007). En estos casos las infecciones por *Neospora caninum* afectan significativamente el riesgo de aborto en los hatos con presencia de DVB (Bjerkås *et al.*, 1984).

2.1.4. Patogénesis

La transmisión en perros ocurre cuando estos animales adquieren la infección al consumir tejidos con quistes tisulares de hospedadores intermediarios, y posteriormente liberarán ooquistes al medio ambiente a través de las heces (Perera, 2015).

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

En la transmisión horizontal el perro es el huésped definitivo por lo tanto el principal factor de difusión de la enfermedad, contaminando con su materia fecal las pasturas, aguas y alimentos donde las vacas conviven y al ingerir dichos focos de contaminación adquieren la enfermedad (Echaide, 2000).

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

La transmisión de la infección en bovinos se realiza mediante dos formas: vertical o congénita (endógena) y horizontal (exógena). En la primera, la madre infecta el feto a través de la placenta, se presenta en el hospedador intermediario ya sea carnívoro o herbívoro y frecuentemente se describe en los bovinos y en el perro. En la segunda, el hospedador intermediario debe consumir alimento o agua contaminados con ooquistes esporulados provenientes de heces del hospedador definitivo (Santana *et al.*, 2010)

También este protozoo puede ser eliminado a través del semen en toros y su ADN ha sido ocasionalmente detectado en muestras de semen congelado. Aunque los toros se

comportan como hospedadores intermediarios sería poco probable la ocurrencia de transmisión venérea; sin embargo, esta posibilidad aún no ha sido investigada (Moore *et al.*, 2005).

La transmisión vertical vía transplacentaria se produce tanto en animales en los que no se observa patología abortiva como en aquellos que han abortado (Dubey & Lindsay, 1993).

La infección vertical ocurre en hembras preñadas, generalmente con infección subclínica, en las cuales se produciría la infección de los fetos como consecuencia de una parasitemia durante la preñez (Barber, 1998).

La transmisión vertical es la forma más frecuente de infección en los bovinos a nivel mundial, en diversas investigaciones se ha demostrado que la transmisión transplacentaria es la ruta más dominante de infección, ya que un 75-95% de terneras nacidas de vacas infectadas, nacen infectadas (Jimenez & Zambrano, 2011).

La transmisión de madre a hija fue sugerida como la principal vía por varios autores. (Bergeron *et al.*, 2000), demostraron que *N. caninum* puede ser mantenida por varias generaciones a un nivel constante de prevalencia, aparentemente sin la necesidad de dispersión de un hospedador definitivo, corroborando la teoría de que la ruta transplacentaria es la más importante en la especie bovina.

Desde el punto de vista del origen de la infección transplacentaria, se han descrito dos modos de transmisión, la exógena y la endógena (Barber & Trees, 1998). Ambos modos presentan consecuencias patogénicas y epidemiológicas diferentes, por lo que sus medidas de control también lo son. La transmisión transplacentaria endógena ocurre tras la recrudescencia de una infección crónica durante la gestación en una hembra persistentemente infectada. En cambio, la transmisión transplacentaria exógena se presenta en vacas que adquieren la infección por primera vez por el consumo de ooquistes

esporulados durante la gestación, transmitiendo la infección a su descendencia. Las granjas infectadas crónicamente presentan abortos de manera endémica, como consecuencia de una transmisión transplacentaria endógena. Por el contrario, las granjas que sufren una primera exposición a la infección por el contacto con ooquistes esporulados presentan un brote de abortos (30-57%) que son debidos a una transmisión transplacentaria exógena (Williams & Trees, 2006).

En este sentido, la transmisión transplacentaria endógena aparece como el modo de transmisión predominante en muchos rebaños, mientras que existe controversia en cuanto a la relevancia de la transmisión transplacentaria exógena para dar lugar a una infección crónica (Dijkstra *et al.*, 2002).

2.1.5. Signos clínicos

La infección por *Neopora caninum* en el ganado bovino no gestante es, generalmente, asintomática, mientras que en animales gestantes tiene como signo clínico más relevante el aborto (Dubey, 2007).

El aborto es el único signo clínico observado en las vacas infectadas. Los fetos pueden intrauterino, con reabsorción, maceración o aborto; no obstante, las terneras pueden nacer con la enfermedad o pueden ser clínicamente normales, pero con infección crónica (Radostits & Arundel, 2002). Éste puede ocurrir a partir del tercer mes de gestación, aunque suele observarse con más frecuencia entre los 5 y 7 meses (Dubey *et al.*, 2007).

Por otra parte, si la muerte fetal se produce entre los meses 3 y 8 de gestación, el feto suele ser eliminado presentando una autólisis moderada. Sin embargo, algunos fetos que mueren antes del quinto mes podrían momificarse y quedar retenidos en el útero durante meses (Dubey, 2003).

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

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

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

En estos animales que nacen vivos, los primeros signos clínicos aparecen, frecuentemente, a los 4-5 días del parto o pueden retrasarse hasta 2 semanas. La casuística de la neosporosis congénita clínica es reducida. Estos animales suelen presentar problemas neuromusculares muy variables desde incoordinación ligera hasta parálisis completa, debilidad y dificultad para levantarse. Los miembros anteriores y posteriores están flexionados o hiperextendidos y el examen neurológico revela ataxia, disminución del reflejo patelar y pérdida de coordinación (Barr *et al.*, 1997).

La infección congénita subclínica parece ser más frecuente, produciéndose el nacimiento de terneros clínicamente sanos, aunque infectados en útero (Anderson *et al.*, 2000).

Las vacas infectadas muestran una disminución en la producción de leche durante la primera lactancia, produciendo aproximadamente 1 litro menos de leche/vaca/día que las vacas no infectadas, tienen tendencia al aborto y presentan una posibilidad mayor de ser eliminadas del rebaño a una edad menor (Radostitis., *et al*, 2002).

2.1.6. Lesiones

Las lesiones asociadas a la infección se pueden observar en diversos órganos, dependiendo de la etapa y gravedad de la misma, siendo, en general, de naturaleza inflamatoria no supurativa. En la placenta se suelen observar focos de necrosis y zonas de intensa inflamación con infiltración de células mononucleares que, en procesos avanzados, pueden progresar hacia la regeneración conjuntiva con hiperplasia, fibrosis e incluso calcificación de los focos necróticos (Barr *et al.*, 1997).

Estas infiltraciones comienzan primero en las carúnculas maternas y luego se extienden al cotiledón fetal, con aparición de áreas de hemorragia y necrosis. Con frecuencia se observa separación de la carúncula y el cotiledón con liberación de suero en el septo materno-fetal. En el SNC, este parásito invade de forma activa neuronas y astrocitos, por lo que provoca trastornos neuromusculares graves por destrucción de las células nerviosas, incluyendo nervios craneales y espinales, afectando la transmisión del impulso nervioso (Barr *et al.*, 1997).

2.1.7. Inmunidad

En condiciones naturales, sucede que los animales están sometidos a contagios frecuentes; esto indica que conforme el hospedador se va relacionando con el parásito, el huésped desarrolla una inmunidad protectora que la previene ante las sucesivas

infecciones, limitando su número, las posibilidades de multiplicación del parásito y, por ende, la capacidad de producir daño (Aycachi, 2005).

La respuesta inmune del hospedero en la placenta puede ser lesiva para el feto. Por tanto el aborto es causado por una destrucción masiva de los tejidos placentarios; desencadenada por la respuesta inmune de la madre y el feto (Andrianarivo et al., 2005).

La probabilidad de aborto en ganado infectado crónicamente es más alta en la primera preñez, y es reducida en preñeces subsecuentes, evidenciando la generación de inmunidad adquirida (Aleadine et al., 2005).

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

N. caninum es un parásito intracelular obligado, por lo tanto, provoca una respuesta inmune de anticuerpos, cuya evidencia es de gran ayuda para el diagnóstico y estudios epidemiológicos (Gondim *et.*, al 2004).

2.1.8. Diagnóstico

El diagnóstico de la neosporosis bovina se hace complejo debido a la falta de signos clínicos patognomónicos y a su fácil asociación con otro tipo de enfermedades que generan problemas reproductivos como Brucelosis, Campilobacteriosis, Tricomoniasis y Leptospirosis que son los agresores más frecuentes que provocan abortos en vacunos, pero para realizar un diagnóstico definitivo se requiere de las pruebas de laboratorio, entre las principales están: la prueba de ELISA (Campero, 2002).

En establecimientos con problemas de abortos deberían llevarse a cabo la serología materna de vacas abortadas y vacas gestantes del mismo rodeo, así como también el examen de los fetos y placentas (Anderson *et al.*, 2000; Dubey *et al.*, 2007).

a) **ELISA**

Se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo, un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente, Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto, simple en su realización, emplea reactivos económicos y consigue, mediante el uso de la fase sólida, de una separación fácil entre la fracción retenida y la fracción libre. Además, se han propuesto y desarrollado diferentes métodos de amplificación de la señal (luminiscentes, cascadas enzimáticas,) que han permitido elevar la sensibilidad de algunos ELISA (Jara *et al.*, 2011). Este método ha tenido una enorme aplicación en aquellos campos en los que se precisa la cuantificación de productos mediante anticuerpos: diagnóstico clínico, detección viral, clasificación de anticuerpos en isotipos, búsqueda de anticuerpos monoclonales etc.

La prueba ELISA está basada en la proteína recombinante que presentan niveles mayores de sensibilidad y especificidad que las basadas en lisados de taquizoitos completos (Radostitis., *et al.*, 2002).

Dentro de los tipos de ELISA, el más utilizado es ELISA indirecto, el cual emplea antígeno soluble de taquizoito, mezcla de antígenos intracelulares y de membranas de los diferentes aislados de *Neospora caninum*, puede ser usado con muestra de suero, leche y líquidos fetales para la detección de anticuerpos, además los resultados pueden ser

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

La técnica de ELISA, tiene la ventaja del costo/tiempo, ante exámenes de un gran número de muestras de suero de bovinos, lo cual es aplicable en hatos en los cuales es necesario el análisis de un gran número de animales. En cuanto a especies menores, los laboratorios de diagnóstico veterinario, reciben pocas muestras, tal es el caso de las muestras de perros, por lo cual en estos casos el IFI es utilizado como examen de rutina, por causa de su flexibilidad (Bartels *et al.*, 2006).

2.1.9. Control y Prevención

El control se basa principalmente en eliminar los animales infectados y evitar la transmisión tanto vertical como horizontal (Cebrián *et al.*, 2003). En la actualidad, las vacunas que se encuentran disponibles a nivel mundial son vacunas muertas, aun así, su eficacia en la prevención de la infección congénita ha demostrado ser deficiente. Uno de los principales problemas de la vacunación es que todos los animales serán seropositivos por lo que el uso de la serología como diagnóstico se hace imposible de utilizar en un hato (Valenzuela, 2005), (Jiménez y Zambrano, 2011).

Se cree que la ruta de contagio postnatal es a través de la ingestión de carne cruda, por lo que tiene sentido recomendar a los dueños de los perros que cocinen la carne completamente antes de dársela a los perros (Barber, 1998).

Se ha comprobado una asociación epidemiológica entre perros y vacas con serología positiva, es recomendable disminuir el contacto entre estos animales. En este mismo sentido, debe disminuirse la contaminación fecal de alimentos y agua. Para cortar el ciclo hacia el hospedero definitivo, además se deben retirar los tejidos potencialmente

infectados, como fetos abortados y membranas fetales (Dubey, 1999; Anderson *et al.*, 2000; Dijkstra *et al.*, 2001).

Otra medida de control de la Neosporosis podría incluir la transferencia de embriones a vacas negativas a *N. caninum*, ya que es improbable que este patógeno se transmita por esa vía debido a que los embriones bovinos con zona pelucida intacta en estado de pre implantación son resistentes a la invasión de este parásito. De esta manera se estaría también controlando la transmisión vertical de la enfermedad. La vaca donadora positiva a *Neospora caninum* será estimulada hormonalmente para producir varios embriones en forma simultánea, los cuales serán recuperados y transferidos a vacas receptoras libres de *N. caninum*. De esta manera, los embriones tendrán la calidad genética de la madre donadora, pero serán retirados antes que ocurra la transmisión transplacentaria. (Dubey *et al.*, 2007).

Realizar exámenes serológicos a las hembras para reposición. Tanto las nacidas en el hato, como las adquiridas de otras ganaderías (Valerde, 2007)

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

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

2.2. ANTECEDENTES

A NIVEL REGIONAL. Para el CIP Chuquibambilla, provincia de Melgar, se obtiene una prevalencia del 15,28% (Huarachi, 2008). En el estudio para establecer la

seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros criados al pastoreo de la provincia de Melgar, departamento de Puno evaluó 419 sueros obtenidos en forma aleatoria de siete fundos ganaderos, mediante la detección de anticuerpos séricos por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), obtuvo una prevalencia general de $18.1 \pm 3.7\%$ (Atoccsa *et al.*, 2005).

La seroprevalencia de *Neospora caninum*, en Taraco fue de 9,42%, Progreso 8,49% y 0% para Cabanillas. La coexistencia de DVB y *Neospora caninum* de ambos agentes en el huésped bovino, para Taraco fue de 5,07%, Progreso 5,66% y 0% para Cabanillas (Laura, 2010).

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

A NIVEL NACIONAL, En la investigación sobre agentes comunes involucrados en abortos del ganado lechero en el valle de Lima al estudiar 126 fetos abortados determinó que el 40% presentaban antígenos de *Neospora caninum*, sugiriendo este agente, como la principal causa de abortos y pérdidas embrionarias (Rivera, 2001). En una muestra de bovinos lecheros del valle de Lima, se reporta una seroprevalencia para *N. caninum* del $40.83\% \pm 8.79\%$ (Silva & Pimentel, 2017).

Neospora caninum, es un parásito ampliamente conocido como causante del abortos y mortalidad neonatal en bovinos a nivel mundial; en el Perú esta infección está presente en bovinos de las principales cuencas lecheras: 57% en Arequipa, 42.9% en Cajamarca, Lima 29.6%, 40.38% y en perros de establos lecheros de Lima 32.7%. En

otro estudio del mismo autor para determinar la presencia de *Neospora caninum*, en caninos de dos distritos de la provincia de Chachapoyas y Amazonas, evaluó 142 sueros de caninos, 63 de Molinopampa y 79 de Leymebamba; determinando que el 28.9 7.5% de caninos, presentaron anticuerpos contra *Neospora caninum*, representando seroprevalencias de 34.9% y 24.1% respectivamente; los resultados demuestran una seroprevalencia moderadamente alta en caninos infectados con *Neospora caninum* (Horna *et al.*,1999).

En la serie histórica de seroprevalencias en zonas zooecológicas: La campiña, San Isidro, San camilo, Santa Rita, La Cano, Yuramayo, La Joya, El pedregal de la Región Arequipa (Manrique, 2007), determinó para el año 2000 (56,2%), 2001 (22,7%), 2002 (67,9%), 2003 (50,8%), 2004 (68,4%) y 2005 (66.6%). Al estudiar la presencia de Neosporosis en bovinos lecheros de 2 a más años de Molinopampa y Leymebamba de la provincia de Chachapoyas- Amazonas (Quevedo *et al.*, 2006), reporta una prevalencia del 40,4%.

En el estudio para establecer la seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos lecheros criados al pastoreo de la provincia de Melgar, departamento de Puno evaluó 419 sueros obtenidos en forma aleatoria de siete fundos ganaderos, mediante la detección de anticuerpos séricos por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), obtuvo una prevalencia general de $18.1 \pm 3.7\%$ (Atoccsa *et al.*, 2005).

A NIVEL MUNDIAL, la Neosporosis fue descrita por primera vez en caninos como un síndrome neuromuscular causado por un protozoo intracelular *Neospora caninum*, dicho agente posteriormente es relacionado como causante de la disminución en la producción de carne, leche y de abortos en vacunos; tiene distribución mundial y se señalan tasas elevadas en rebaños de carne y leche, así para Inglaterra se reportan 6,000

abortos anuales con una pérdida de 800 dólares americanos por cada aborto (Moore *et al.*, 2005).

Para las provincias de Santa Fé y Córdoba de Argentina, se establece una seroprevalencia de 24,4% en fetos abortados, 64,5% en bovinos lecheros y 92,3% para vacunos de carne; para Estados Unidos 10% de prevalencia, Nueva Zelanda 38%, Francia 26%, Suiza 21%, Holanda 17%, Austria 34,1%, para Reino Unido la estimación es 12,5% de abortos, en España se determinaron tasas de prevalencia de 17,9% en fetos bovinos abortados y 83,2% en rebaños lecheros y para México 36,5% (Andresen, 1999).

En vacas lecheras de la raza Holstein de Vietnam del Sur obtuvo 53% de prevalencia 65 (Duong, 2004).

En la provincia este de Turquía de 185 sueros de vacunos lecheros, se reportó una prevalencia del 13,48% y en 89 vacas preñadas con historia de repeticiones de celo, la prevalencia para Neosporosis fue de 3,19% (Samisimsek *et al.*, 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODO

3.1. Lugar de estudio

El trabajo de investigación fue realizado en el Centro de Innovación y Producción Illpa – INIA – Puno; cuya ubicación en el distrito de Paucarcolla, provincia y departamento de Puno. En las coordenadas; Sur 15°42' 37'' de altitud y Oeste 70° 04' 56'' de longitud y a una altitud de 3822 m. (SENAMHI, 2018). Las muestras fueron remitidas al Laboratorio Veterinario del Sur (LABVETSUR).

3.2. MATERIAL DE ESTUDIO

El tamaño de muestra se determinó mediante la fórmula de la variable cuantitativa discreta, considerando 6.5 % de la enfermedad en estudios anteriores en vacas con un nivel de confianza de 95 % y un error de precisión de 5 %, mediante la siguiente fórmula. (Moncho 2015)

3.2.1. Cálculo de la muestra para la variable cuantitativa discreta

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

$$n_i = \frac{(1.96)^2(0.065 \times 0.935)}{(0.05)^2} \quad n_i = 93.38$$

Donde:

n_i = tamaño inicial de la muestra.

Z^2 = nivel de confianza 95 %.

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

q = complemento (1-p)

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

La muestra estimada fue de 93 animales.

Tabla 2 Distribucion de animales en estudio, segun raza y sexo

RAZA	DISTRIBUCION MUESTREAL			
	Brown Swiss		Criollo	
SEXO	Hembras	Machos	Hembra	Macho
Número	63	0	27	3
Totales	63		30	

Tabla 3 Distribución de muestras para el estudio, segun raza y clace

Raza	Brown Swiss			Criollo			
Clase animal	Vaquilla	Vaquillona	Vaca	Vaca	vaquilla	Torete	Toro
Número	55	04	04	22	05	02	01
Totales	63			30			

3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.3.1. Materiales para la toma de muestras sanguíneas

- Agujas Hipodérmicas 21G. X 2 pulgadas.
- Frascos colectores de suero sanguíneo (viales criogénicos) x 2mL
- Tubos vacutainer de 10 mL
- Algodón.
- Alcohol yodado al 3%
- Lapiceros de tinta indeleble.
- Pipetas automáticas o manuales.
- Guantes de exploración.

3.3.2. Materiales para envío de muestras

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

3.3.3. Materiales para prueba de ELISA.

- Micropipetas de precisión y micropipetas de multi dispensadores.
- Puntas de pipetas desechables.
- Probetas graduadas para la solución de lavado.
- Lector de placas de 96 pocillos (equipo con filtro de 450 nm).
- Lavador de placas, manual semiautomática o automática.
- Vortex o equivalente.
- Bandejas para depósito de reactivos.
- Papel toalla.
- Papel de aluminio.
- Cámara húmeda.
- Incubadora.
- Algodón.
- Agua destilada

3.3.4. Reactivos.

- Placa tapizado con antígeno Neospora.
- Control negativo (Negativo control ELISA (bovine) x 1MI)
- Control positivo (positivo control ELISA (bovine) x 1MI)
- Conjugado.
- Diluyente de la muestra.
- Substrato TMB.
- Solución de frenado.
- Solución de lavado concentrada (10X).

3.3.5. Equipos

- Estufa incubadora a 37°C

- Balanza analítica
- Refrigeradora convencional
- Congeladora a -20°C
- Potenciómetro.
- Cronómetro de tiempo.
- Lector de ELISA
- Agitador tipo Vórtex
- Micropipeta canal simple 20 a 200 µl.
- Micropipeta canal simple 100 a 1000 µl
- Micropipetas multicanal 20-200UI

3.4. METODOLOGÍA

3.4.1. Metodología Para Seroprevalencia De *Neospora Caninum*

A) Toma de Muestra de Suero Sanguíneo

Se colectó aproximadamente 7.0 mL de sangre de la vena caudal, en tubos al vacío con anticoagulante (vacutainer) a 93 vacunos, los cuales fueron centrifugados a 2000 rpm durante 10 minutos para la extracción del suero, posteriormente los sueros sanguíneos se aislaron en viales y se mantuvieron en congelación a -20°C, y fueron llevados al laboratorio veterinario del sur (LABVETSUR).

B) Procesamiento de la prueba de ELISA

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

4. Se dispersó 50 µl de control negativo (CN).
5. Luego se dispersó 50 µl de muestra NO DILUIDA en los pocillos apropiados.
6. Se mezcló el contenido de los pocillos agitando levemente con un homogeneizador de placas.
7. Se Cubrió la placa para incubar a 60 minutos (± 5 min) a $+37^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3^{\circ}\text{C}$).
8. Se eliminó el contenido de líquido de cada pocillo y se lavó cada pocillo con aproximadamente 300 µl de solución de lavado 3 veces. Evitar que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente. Después del lavado final, se eliminó el fluido de lavado residual de cada placa golpeándolos sobre el material absorbente.
9. Se dispersó 50 µl conjugado en cada pocillo.
10. Se cubrió la placa para Incubar durante 20 min. (± 5 min.) a $+37^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3^{\circ}\text{C}$). Las placas deben de estar selladas herméticamente o incubarse en una cámara húmeda usando cubiertas de placa para evitar evaporación.
11. Se lavó por 3 veces.
12. Se Dispersó 50 µl de sustrato TMB en cada pocillo.
13. Se Incubó a $20-25^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos (± 1 min).
14. Se ha dispersado 50 µl de solución frenado en cada pocillos
15. Se leyó los resultados a una longitud de onda de 405 nm.

C) Interpretación De Resultados

$$\text{IRPC} = \left(\frac{DO_{405} \text{ MUESTRA} - \text{MEDIA } DO_{405} \text{ Control Negativo}}{\text{Media } DO_{405} \text{ Control Positivo} - \text{Media } DO_{405} \text{ Control Negativo}} \right) \times 100$$

Fuente: civtest bovis neospora

D) Interpretación De Resultados

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

3.5. CÁLCULO DE PREVALENCIA

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

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

3.6. METODOLOGÍA PARA FACTOR DE RIESGO

Para identificar los factores de riesgo se utilizó observación directa en los dos hatos de vacunos de la Estación Experimental Illpa - Puno y se ha relacionado con la bibliografía revisada.

3.7. CUESTIONARIO PARA VALIDACIÓN DE LA PRUEBA ELISA

- Se elaboró una pregunta para determinar la relación entre la prueba ELISA y el aborto.
- Se ha entrevistado a los pastores de los animales seropositivos sobre el comportamiento de las vacas
- Sistematización de los datos.
- Interpretación de resultados.

3.8. MÉTODO ESTADÍSTICO

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

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

Dónde:

X_c^2 = Valor calculado de Ji cuadrado.

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

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

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Prevalencia de *Neospora Caninum*

Tabla 4 Seroprevalencia general de *Neospora caninum* en vacunos Brown swiss y Criollos de la Estación Experimental Illpa – región Puno

Variable	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Prevalencia	93	3	3.225

En la tabla 4, muestra una prevalencia baja de *Neospora caninum* en vacunos Brown Swiss y criollos de la Estación Experimental Illpa del Distrito de Paucarcolla. Determinado mediante la técnica de ELISA indirecta. El resultado encontrado refleja que la ocurrencia de la enfermedad es baja en la zona estudiada en comparación al reporte de Laura, (2016), quien encontró 9.42% de prevalencia en vacunos del distrito de Taraco, 8.49% de prevalencia para vacunos del Centro Poblado de Progreso; no obstante que en el Distrito de Cabanillas no se encontró reactores positivos a *Neospora caninum*.

El valor encontrado en el presente estudio es inferior a lo que reporta (Atoccca *et al.*, 2005) con la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la Provincia de Melgar, que es 18.10 % de prevalencia; además manifiesta que la edad y procedencia de los animales son factores de riesgo, y que la seroprevalencia de *N. caninum* esté relacionado con la población de canes. Igualmente, Laura, (2016) reporta en vacunos Brown Swiss y Criollos del CIP Chuquibambilla 15.28 %, a su vez señala que el hospedador definitivo es el perro que cumple el modo de transmisión del parásito al contaminar los pastizales en las zonas de pastoreo.

El valor de la prevalencia obtenida es determinada para algunas zonas del altiplano de la región puno, es relativamente bajo comparados con otras regiones del Perú así para Arequipa 57% (Andresen, 1999), Cajamarca se determina una seroprevalencia de 40%

(Cabrera *et al.*, 2000) y Lima 29.6% (M. A. M. Silva y Pimentel, 2017); y en los distritos de Leymebamba y Molinopampa (Amazonas) encontraron una prevalencia de 40.4% (Quevedo *et al.*, 2003). A diferencia, en otros estudios realizados por (SENASA, 2010) encontraron para dichos departamentos las siguientes prevalencias: Arequipa 48.91% \pm 7.22, Cajamarca 19.59% \pm 3.20, Lima 50.51% \pm 6.96, Puno 6.68% \pm 2.27, Amazonas 17.22% \pm 5.52. Estas diferencias podrían deberse al tipo de prueba utilizada como inmunofluorescencia indirecta-IFI, y ELISA indirecto, tipo de manejo de animales, presencia de huésped definitivo; el medio ambiente y aspectos culturales de los criadores.

4.2. Según raza

Tabla 5 Seroprevalencia de *Neospora caninum* en la Estación Experimental Illpa – Región Puno, según raza

Variable	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Brown swiss	63	1	1.59
Criollo	30	2	6.67

En la tabla anterior, se observa la prevalencia de *Neospora caninum* en vacunos según raza; en el cual los animales Brown Swiss se encontró una baja prevalencia y en ganado Criollo 6.67 %; los mismos que no muestran diferencias significativas ($P \geq 0.05$). Esta semejanza se debería a que los animales de ambas razas se encuentran en el mismo ámbito de la Estación Experimental Illpa, además de estar expuestos a los mismos factores de riesgo, como la presencia de hospedero definitivo en las zonas de pastoreo, la provisión de placenta y tejidos contaminados (taquizoitos y bradizoitos) a los caninos. EL hato de ganado criollo está expuesta al factor de riesgo como es la libre pululación de los canes, ya que el predio de Illpa no se encuentra cercado. Los dos hatos tienen un manejo de pastoreo a campo abierto; también podríamos decir, que no se introducen animales de

reemplazo; y es posible que la infección se haya establecido en la zona con la descarga de materia fecal en los pastizales por los canes infectados con *Neospora caninum*. La informalidad y ausencia de un control sanitario básico en la adquisición del ganado podrían favorecer el ingreso de esta infección (Quevedo *et al.*, 2003).

4.3. SEGÚN RAZA Y CLASE ANIMAL

Tabla 6 Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos Brown swiss y Criollos de la Estación Experimental Illpa – región Puno, según raza y clase animal.

RAZA	Clase Animal	N	Positivos	Porcentaje
Brown swiss	Vaquillas	04	0	0.00
	Vaquillonas	04	0	0.00
	Vacas	55	1	1.82
Criollos	Vacas	22	2	9.10
	Vaquillas	05	0	0.00
	Torete	02	0	0.00
	Toro	01	0	0.00

En la tabla 6, se observa la prevalencia de *Neospora caninum* en vacunos según clase animal dentro de cada raza; las vacas Brown Swiss solo muestra un seropositivo y mientras las vacas criollas dos seropositivos de 22 animales evaluados, y demás clases de animales no mostraron seropositividad (0.00 %) en ambas razas ($P \geq 0.05$).

Los resultados del presente estudio son inferiores a los estudios realizados por Escalona *et al.*, (2010), quienes indican seroprevalencias para vaquillas 21.8%, y vacas 20.8%, en concordancia con los resultados presentados por Torres (2006) quien evaluó 174 sueros sanguíneos en vacas, vaquillonas y terneras, y encuentra prevalencias de 44.6, 34.3, 31.2%, respectivamente; en el cual, se observa mayor prevalencia en vacas que en

vaquillas; diferencias que se deberían a diferente tipo de manejo que está sometido los grupos de animales estudiados, diferentes técnicas de diagnóstico.

4.4. SEGÚN RAZA Y SEXO

Tabla 7 Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos Brown Swiss y Criollos de la Estación Experimental Ilpa – Región Puno, según raza y sexo animal.

Raza	Sexo	Número Total	Positivos	Porcentaje (%)
Brown swiss	Machos	0	0	0.0
	Hembras	63	1	1.59
Criollos	Machos	03	0	0.00
	Hembras	27	2	7.41

En la tabla 7, se observa la prevalencia de *Neospora caninum* en vacunos según sexo animal dentro cada raza; en el cual, las hembras Brown Swiss mostró un seropositivo de 63 vacas y 02 seropositivos de 27 vacas criollas; mientras los animales de sexo macho no mostraron seropositividad (0.00 %) en ambas razas ($P \geq 0.05$).

Los valores encontrados en animales hembras del presente estudio son inferiores al reporte de (Silva *et al.*, 2002), quienes en muestras de bovinos lecheros del valle de Lima, encuentran una seroprevalencia de $40.83\% \pm 8.79\%$ para *N. caninum*; y (Del Campo *et al.*, 2002) en un estudio para determinar la presencia de abortos en establos lecheros del valle de Lima, obtuvieron una prevalencia de $32.7 \pm 9.0\%$ de *N. caninum*. A estos resultados coadyuva (Horna *et. al.*, 2003) manifestando que el *Neospora caninum*, es un parásito ampliamente conocido como causante del abortos y mortalidad neonatal en bovinos a nivel mundial; en el Perú esta infección está presente en bovinos de las principales cuencas lecheras: 57% en Arequipa, 42.9% en Cajamarca, Lima 29.6%, 40.38% y en perros de establos lecheros de Lima 32.7%.

En Arequipa según zonas zoológicas: La campiña, San Isidro, San camilo, Santa Rita, La Cano, Yuramayo, La Joya, El pedregal (Laura, 2016), determinaron en el año 2000 (56,2%), 2001 (22,7%), 2002 (67,9%), 2003 (50,8%), 2004 (68,4%) y 2005 (66.6%) de presencia de Neosporosis en bovinos lecheros.

El resultado del presente estudio muestra prevalencia baja, comparado a otros reportes, lo cual se podría atribuir a la escasa y esporádica introducción de animales de reemplazo en los dos hatos de la Estación Experimental, poco contacto con el hospedero definitivo, respecto a la presencia de canes en la zona de pastoreo, ya que el encargado del cuidado de los animales solo tiene 2 caninos desparasitados. Además, la diferencia se debería al tipo de prueba utilizada (inmunofluorescencia indirecta-IFI, y ELISA indirecto), tipo de manejo de animales, el no recojo de las placentas eliminadas por las vacas pos parturientas.

4.5. IDENTIFICACION DE FACTORES DE RIESGO

Tabla 8 factores de riesgo para la ocurrencia de la Neosporosis.

FACTORES DE RIESGO	INDICADOR
Presencia de caninos en los hatos ganaderos	Tenencia de 2 caninos por el pastor de vacunos criollos
Ingreso de vacas sin la cuarentena en el hato	Presencia de 1 vaca enferma en Brown swiss o subclínicas.
Vacas parturientas que eliminan placenta	Falta de seguimiento a las vacas parturientas para observar la eliminación de placentas.
Consumo de placenta por parte de caninos	Frecuencia de canes que consumen las placentas.

En la tabla 8, se aprecia los 4 factores primordiales que tiene mucha relación con la ocurrencia de la enfermedad. La identificación de dichos factores de riesgo orienta en planificar e implementar medidas de control y prevención, y la aplicación de educación sanitaria sobre el modo de transmisión de la enfermedad a todo el personal que está directamente relacionado con el manejo ganadero de la Estación Experimental. Un factor de riesgo, que en toda circunstancia o situación que aumenta las probabilidades de que un animal contraiga una enfermedad o cualquier otro problema de salud; son características y atributos que se presentan asociados con la enfermedad o el evento estudiado. Debemos controlar los factores de riesgo, identificándose en la Estación Experimental. Miguel, (1998) señala que los factores de riesgo no son necesariamente las causas, sólo están asociadas con el evento, así constituyen una probabilidad medible, tienen valor predictivo y pueden usarse tanto en la prevención individual como en la población; pueden ser modificados por alguna forma de intervención, para disminuir la probabilidad de la ocurrencia de una enfermedad u otro daño específico.

V. CONCLUSIONES

La seroprevalencia de *Neospora caninum* fue de 3.225 % de 93 animales. En vacas *Brown Swiss* se encontró 01 seropositivo y vacas criollas dos seropositivos; mientras, en las vaquillas, vaquillonas y en machos no se observaron seropositividad.

Los factores de riesgo identificados fueron presencia de caninos en los hatos ganaderos, la eliminación de placenta a campo abierto en vacas criollas parturientas, consumo de placenta por los caninos e ingreso de vacas sin la cuarentena.

VI. RECOMENDACIONES

- Identificar los animales seropositivos para hacer el seguimiento ó destino al camal.
- Implementar gestión de factores de riesgo y vigilancia de enfermedades reproductivas en el hato de vacunos de la Estación Experimental Illpa.
- Capacitación a la población sobre la importancia de la *Neosporosis*.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alaeddine F, Keller N, Leepin A, Hemphill A. Reduced infection and protection from clinical signs of cerebral neosporosis in C57BL/6 mice vaccinated with recombinant microneme antigen NCMIC1. *J. Parasitol.* 2005. 91(3): 657-665.
- Almería, S. 2003. *Neospora caninum* and Wildlife. [en línea] Barcelona, España.
- Altamirano, A. (2016). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en el establo lechero de la granja Kayra de la fac. de Agronomía y Zootecnia UNSAAC. Universidad Nacional del Altiplano.
- Andrianarivo AG, Anderson ML, Rowe JD, Gardner IA, Reynolds JP, Choromanski L, Conrad PA. Immune responses during pregnancy in heifers naturally infected with *Neospora caninum* with and without immunization. *Parasitol. Res.* 2005. 96: 24–31.
- Andresen H. (1999). Neosporosis en el Perú y en el Mundo. *Mv. Revista de Ciencias Veterinarias*. Bolivis N. Neosporosis en Uruguay. *Intervet*.1999. (Consultado 15/12/2010) URL:http://www.sinervia.com/library_files/951429225_Neosporosis%20en%20Uruguay.pdf
- Anderson, M., Andrianarivo, A., & Conrad, P. (2000). Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, 60–61, 417–31. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10844212>
- Anderson, M., Barr, B., & Conrad, P. (1994). Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. *Pub Med*, 10. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7728629>
- Anderson. (2005, Julio 10). Produccion Animal, from http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/48 diagnostico_causas_infecciosas.pdf
- Atoccca H., J., Chávez V., A., Casas A., E., Falcón P., N., & P., N. F. (2005). seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros criados al pastoreo en la provincia de Melgar, Puno. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 16(1), 71–75. <https://doi.org/10.15381/rivep.v16i1.1541>
- Barber, J. (1998). *Neosporosis canina*. Retrieved from [http:// repository. LaSalle .edu.co/bitstream/handle/10185/6057/T14.09R196e.pdf;jsessionid=1906454AF412511DD0A4DE2D4F7DD756?sequence=1](http://repository.LaSalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6057/T14.09R196e.pdf;jsessionid=1906454AF412511DD0A4DE2D4F7DD756?sequence=1)
- Barber, J. S., & Trees, A. J. (1998). Naturally occurring vertical transmission of *Neospora*

- caninum* in dogs. *International Journal for Parasitology*, 28(1), 57–64. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9504335>
- Barling, K. S., McNeill, J. W., Paschal, J. C., McCollum, F. T., Craig, T. M., Adams, L. G., & Thompson, J. A. (2001). Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas, USA. *Preventive Veterinary Medicine*, 52(1), 53–61. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11566378>
- Barr, B. C., Bjerkås, I., Buxton, D., Conrad, P. A., Dubey, J. P., Ellis, J. T., ... Wouda, W. (1997). *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* (Vol. 19). [Veterinary Learning Systems]. Retrieved from <https://ucdavis.pure.elsevier.com/en/publications/neosporosis-report-of-the-international-neospora-workshop>
- Bartels, C. J. M., Arnaiz-Seco, J. I., Ruiz-Santa-Quitera, A., Björkman, C., Frössling, J., von Blumröder, D., ... Ortega-Mora, L. M. (2006). Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden. *Veterinary Parasitology*, 137(1–2), 17–27. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.12.016>
- Bartels, C. J. M., Wouda, W., & Schukken, Y. H. (1999). Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology*, 52(2), 247–257. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00126-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00126-0)
- Baszler, T. V., Knowles, D. P., Dubey, J. P., Gay, J. M., Mathison, B. A., & McElwain, T. F. (1996). Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(6), 1423–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8735092>
- Bergeron, N., Fecteau, G., Paré, J., Martineau, R., & Villeneuve, A. (2000). Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Québec. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 41(6), 464–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10857030>
- Bjerkås, I., Mohn, S. F., & Presthus, J. (1984). Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Zeitschrift Fur Parasitenkunde (Berlin, Germany)*, 70(2), 271–4. Retrieved from

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6426185>
- Björkman C, Johansson O, Stenlund S, Holmdahl OJM, UgglA A. 1996. Neospora species infection in a herd of dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 208: 1441-1444.
- Cabrera, M.; P. Ortiz; J. Claxton; D. Willians; A. Trees. 2000. Evidencia serológica de infección por *Neospora caninum* en el ganado vacuno del Perú. Resúmenes IV Congreso Peruano de Parasitología. Lima. p 212.
- Campero M. (2002). Patología Veterinaria. INTA E.E.A. BALCARCE, Rev. Idia BS. AS, P.P. 127-131.
- Cebrián, L., Barberán, M., & Ferrer, L. (2003). Neosporosis y aborto en el ganado bovino. Retrieved November 30, 2018, from http://www.veterinaria.org/asociaciones/vet-uy/articulos/artic_bov/050/0009/bov009.htm
- Cordero del Campillo, M., & Vázquez, F. (1999). *Parasitología veterinaria*. McGraw-Hill, Interamericana de España. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=489596>
- Cornejo, P., Chavez, V., Casas, A., & Arana, D. (1999). *Seroprevalencia de Neospora caninum en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* (Vol. 15). Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172004000100010
- Cuddon, P., Lin, D. S., Bowman, D. D., Lindsay, D. S., Miller, T. K., Duncan, I. D., ... Cooper, B. (n.d.). *Neospora caninum* infection in English Springer Spaniel littermates. Diagnostic evaluation and organism isolation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 6(6), 325-32. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1484374>
- Dijkstra, T., Barkema, H. W., Hesselink, J. W., & Wouda, W. (2002). Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. *Veterinary Parasitology*, 105(2), 89-98. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11900922>
- Dubey, J. P. (1999). *Recent advances in Neospora and neosporosis*. *Veterinary Parasitology* (Vol. 84). Retrieved from <https://pubag.nal.usda.gov/pubag/downloadPDF.xhtml?id=24868&content=PDF>
- Dubey, J. P., Carpenter, J. L., Speer, C. A., Topper, M. J., & UgglA, A. (1988). Newly

- recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 192(9), 1269–85. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3391851>
- Dubey, J. P., & Dubey, J. (2003). Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*, 41(1), 1–16. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12666725>
- Dubey, J. P., Schares, G., & Ortega-Mora, L. M. (2007). Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 323–367. <https://doi.org/10.1128/CMR.00031-06>
- Duong Chi Mai 2004. Neospora caninum and bovine viral diarrhoea virus infections in dairy cattle. Depart. Of Clinical Vet. Med. usspala Sweden p.o. box 7017, SE 75007.
- Echaide, E. (2000). La Neosporosis Bovina. Retrieved from www.produccion-animal.com.ar
- Escalona J, García F, Mosquera O, Vargas F, Corro A. (2010). Factores de riesgo asociados a la prevalencia de neosporosis bovina en el municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. *Zootecnia Trop* 28: 201-212.
- Fernandes, B. C. T. ., Gennari, S. ., Souza, S. L. ., Carvalho, J. ., Oliveira, W. ., & Cury, M. . (2004). Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais—Brazil. *Veterinary Parasitology*, 123(1–2), 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.05.016>
- Fisher, M., & McGarry, J. (2007). *Fundamentos de parasitología en animales de compañía: una enciclopedia única que detalla los parásitos más importantes y peligrosos para la salud de los pequeños animales, su identificación y diagnóstico*. Retrieved from <https://booksmedicos.org/fundamentos-de-parasitologia-en-animales-de-compania/>
- Fredes, M., & Fernando, G. (2000). La neosporosis una parasitosis emergente. Retrieved November 30, 2018, from http://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D11542%2526ISID%253D464,00.html
- Gondim, L. F. P., McAllister, M. M., Mateus-Pinilla, N. E., Pitt, W. C., Mech, L. D., & Nelson, M. E. (2004). Transmission Of *Neospora caninum* Between Wild And Domestic Animals. *Journal of Parasitology*, 90(6), 1361–1365. <https://doi.org/10.1645/GE-341R>

- Holmdahl, O. J., Mattsson, J. G., Uggla, A., & Johansson, K. E. (1994). The phylogeny of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* based on ribosomal RNA sequences. *FEMS Microbiology Letters*, *119*(1–2), 187–92. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8039658>
- Horna, M., Chavez, A., Rivera, H., Casas, A., & Serrano, E. (1999). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en caninos en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, *14*(2), 150–154. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009
- Huarachi, G. 2008. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en vacunos del Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla de la Provincia de Melgar -Puno. Tesis Mev. Vet y Zoot. UNA-Puno.
- Quevedo Janios, V., Amanda Chávez, V., Hermelinda Rivera, G., Eva Casas, A., & Enrique Serrano, M. (2003). Neosporosis En Bovinos Lecheros En Dos Distritos De La Provincia De Chachapoyas. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *14*(1), 33–37.
- Jara., J, V ., Amanda Chávez, V., Eva Casas, A., Nofre Sánchez, P., Moreno-López, J., & Merza, M. (2011). Determinación de anticuerpos contra *Neospora caninum* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en la Amazonía Peruana. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *22*(1), 61–65.
- Jimenez, C., & Zambrano, J. (2011). Enfermedades que afectan la reproducción bovina en Colombia, no sujetas a control oficial - 9789588214887 - LibreriadelaU. Retrieved November 30, 2018, from <https://www.libreriadelaU.com/enfermedades-que-afectan-la-reproduccion-bovina-en-Colombia-no-sujetas-a-control-oficial-produmedios-9789588214887-agropecuario/p>
- Jorge Del Campo, S., Amanda Chávez, V., Alfredo Delgado, C., Néstor Falcón, P., Angela Ornelas, A., Eva Casas, A., & Enrique Serrano, M. (2003). Frecuencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros del valle de lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *14*(2), 145–149.
- Klevar, S., Kulberg, S., Boysen, P., Storset, A. K., Moldal, T., Björkman, C., & Olsen, I. (2007). Natural killer cells act as early responders in an experimental infection with *Neospora caninum* in calves. *International Journal for Parasitology*, *37*(3–4), 329–339. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2006.11.002>
- Lasri, S., De Meerschman, F., Rettigner, C., Focant, C., & Losson, B. (2004). Comparison

- of three techniques for the serological diagnosis of *Neospora caninum* in the dog and their use for epidemiological studies. *Veterinary Parasitology*, 123(1–2), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.05.025>
- Laura, E. (2016). seroprevalencia y factores de riesgo asociados al virus de la diarrea viral bovina (vdvb) y *Neospora caninum* en tres cuencas lecheras de la región Puno. Universidad Nacional del Altiplano. https://doi.org/10.1007/8904_2014_350
- Lindsay, D. S., Speer, C. A., Toivio-Kinnucan, M. A., Dubey, J. P., & Blagburn, B. L. (1993). Use of infected cultured cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. *American Journal of Veterinary Research*, 54(1), 103–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8427452>
- Manrique, G. 2007. Series históricas 2000-2005 de seroprevalencia de Diarrea viral bovina (DVB), Rinotraqueitis infecciosa (IBR) y Neosporosis bovina por zonas zo ecológicas de la Región Arequipa. Revista Medicina A de la Producción, LABVETSUR.
- Mamani, M. (2013). Incidencia de Neosporosis en vacunos con antecedentes de aborto e infertilidad en la comunidad campesina de Catañiray-Anta. Tesis de Ing Zootecnista. Cusco: facultad de Agronomía y Zootecnia. Univ.Nac.San Antonio Abad del Cusco.
- Martinez, A., Moreno, G., & Carrillo, A. (2012). *Actualización de la neosporosis bovina. Conexión Agropecuaria JDC* (Vol. 2). Retrieved from <https://www.jdc.edu.co/revistas/index.php/conexagro/article/view/340>
- Miguel F. 1998. Factores de riesgo: una nada inocente en el corazón de la medicina actual. *Atención Primaria*, 22, 585-595.
- McAllister, M. M. (2016). Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 32(2), 443–463. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.012>
- McAllister, M. M., Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Jolley, W. R., Wills, R. A., & McGuire, A. M. (1998). Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, 28(9), 1473–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9770635>
- Moncho J. Estadística aplicada a las Ciencias de la Salud. Barcelona: Elsevier. 2015
- Moore, D., Odeon, A., Venturini, M., & Campero, C. (2005). Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. *Revista Argentina de Microbiología*, 37(4), 217–228. Retrieved from

- http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0325-75412005000400011
- Oviedo, T., Betancur, C., Mestra, A., González, M., Reza, L., & Calonge, K. (2007). *Estudio Serológico Sobre Neosporosis En Bovinos Con Problemas Reproductivos En Montería, Córdoba, Colombia. Rev.MVZ Córdoba* (Vol. 12). Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/693/69312108.pdf>
- Panaftosa. (2017). *Manual Veterinario de Toma y Envío de Muestras. Departamento Salud Animal* (1° edición).
- Pare, J., Thurmond, M., & Hietala, s. (1996). Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calf hood mortality. *Can J Vet Res*, 60, 133 citation_lastpage=139.
- Paz, V. (2005). *Neosporosis en bovinos y caninos*. Retrieved from <http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET1-2005/PDF/BMepavet08.pdf>
- Perera, I. (2015). *Manejo de hembras durante la gestación, el parto y la lactancia de las crías*. (Editorial Elearning, Ed.) (Edición 1). Retrieved from <https://www.amazon.es/Manejo-hembras-durante-gestación-lactancia/dp/8416492832>
- Puray, N., Chavez, A., Casas, E., & Falcon, N. (2006). Prevalencia De *Neospora caninum*. En Bovinos De Unaempresa Ganadera de la sierra central del Perú. *Investigaciones Veterinarias Del Perú, RIVEP*, 17, 189–194. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371838845018>
- Quispe, J., Belizario, C., Apaza, E., Maquera, Z., & Quisocala, V. (2016). Desempeño productivo de vacunos Brown Swiss en el altiplano peruano., 18, 411–421. Retrieved from file:///C:/Users/pc/Downloads/233-362-1-PB (2).pdf
- Quevedo, J.; A. Chávez; H. Rivera; E. Casas. 2003. Neosporosis en bovinos lecheros en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. *Rev. Inv. Vet. Perú* 14: 33-37.
- Radostits, O. M., & Arundel, J. H. (2002). *Medicina veterinaria : tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. McGraw Hill Interamericana. Retrieved from <https://www.casadellibro.com/libro-medicina-veterinaria-tratado-de-las-enfermedades-del-ganado-bovi-no-ovino-porcino-caprino-y-equino/9788448603199/812378>
- Rivera G., H., Nelson, D., Tabacchi N., L., & N., L. T. (2014). *Neospora caninum* y otros

- agentes en fetos abortados de bovinos lecheros del valle de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 11(1), 1–7.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v11i1.6766>
- Rivera, H. (2001). Causas frecuentes de aborto Bovino. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 12(2), 117–122. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172001000200014
- Samisimsek Armagan, Erdem Utuk, Ergum koroglu, Nazir Dumanli, Alí Risvanli. 2008. Seroprevalence of *Neospora caninum* in repeat breeder dairy cows in Turkey. *Arch. Tierz Dummerstorf*. 51 (2), p.p. 143-148.
- Sanchez, M. F. (2008). El Ciclo Estral de la Vaca - Diagnostico Fotografico (p. 279).
- Santana, O., Vasquez, O., Medina, L., Ramos, P., Morales, C., & Quezada, G. (2010). *Neospora caninum*: Detección de ADN en sangre durante la primera gestación de vaquillas infectadas naturalmente. *Veterinaria México*, 41(2), 131–137. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922010000200006
- Schares, G., Bärwald, A., Staubach, C., Ziller, M., Klöss, D., Wurm, R., ... Conraths, F. J. (2003). Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modelled by Logistic regression. *International Journal for Parasitology*, 33(14), 1631–40. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14636679>
- Schares, G., Peters, M., Wurm, R., Bärwald, A., & Conraths, F. J. (1998). The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Veterinary Parasitology*, 80(2), 87–98. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9870361>
- Senamhi. (n.d.). Yauri. Retrieved November 30, 2018, from http://www.senamhi.gob.pe/include_mapas/_dat_esta_tipo.php?estaciones=000757
- Senasa. (2010). *Caracterización De La Diarrea Viral Bovina, Neosporosis Bovina Y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina En El Peru*. Retrieved from <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/jer/BOVINOS/Caracterizacion DVB NB y RIB.pdf>
- Serrano-Martínez, E., Evaristo R., R., Quispe H., M., Hinostroza M., E., & M., E. H. (2018). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de Lima y comparación entre ELISA e IFI. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(3), 916.

- <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i3.14757>
- Silva, M. A. M., & Pimentel, L. A. (2017). Mejoramiento genético en bovinos a través de la inseminación artificial y la inseminación artificial a tiempo fijo. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(2), 247–259. Retrieved from <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/2050/2261>
- Silva, P., Chávez, V., Rivera, G., & Casas, A. (2002). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en Bovinos lecheros del valle de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 13(2), 51–55. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172002000200007&script=sci_arttext
- Thilsted, J. P., & Dubey, J. P. (1989). *Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. J Vet Diagn Invest* (Vol. 1). Retrieved from <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/104063878900100301>.
- Torres L. (2006). Seroprevalencia de *N. caninum* en ganado vacuno lechero de chota. Tesis de Medico Veterinario. Cajamarca: Facultad de Ciencias Veterinarias, Univ. Nac. Cajamarca.
- Valenzuela p. Neosporosis en bovinos y caninos. Monografías Electrónica de Patología Veterinaria. 2005 (Consultado 20/02/2011) Vol.: 2(1): Págs.: 17-33. URL: <http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET1-2005/PDF/Mepavet08.pdf>
- Valerde, e. Epidemiología de la Neosporosis en los rumiantes (Monografía de grado) Universidad de Cuenca: 2007. Págs. 29, 30, - 32
- Vargas, J. J., & Cortés, J. A. (2001). *Neospora caninum*, ¿Una Zoonosis Potencial? *Rev. Salud Pública* (Vol. 3). Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v3n1/v3n1a07.pdf>
- Williams, D., & Trees, a. (2006). Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetophaty in *Neospora caninum*-infected cattle. *Parasite Immunol*, 28, 61 [citation_lastpage=67](#).

ANEXOS

Tabla 9: Relación de Vacunos en el estudio

Nº	ARETE DE ANIMAL	LUGAR	RAZA	CÓDIGO DE MUESTRA	CLASE ANIMAL	RESULTADO
1	102CF	EE Ilpa	Criollo	1	VACA	NEGATIVO
2	85X	EE Ilpa	Criollo	2	VACA	NEGATIVO
3	CR10	EE Ilpa	Criollo	3	VACA	NEGATIVO
4	173C	EE Ilpa	Criollo	4	VACA	NEGATIVO
5	111XF	EE Ilpa	Criollo	5	VACA	NEGATIVO
6	146C	EE Ilpa	Criollo	6	VAQUILLA	NEGATIVO
7	83C	EE Ilpa	Criollo	7	VACA	NEGATIVO
8	140C	EE Ilpa	Criollo	8	VACA	NEGATIVO
9	CR3	EE Ilpa	Criollo	9	VACA	NEGATIVO
10	147C	EE Ilpa	Criollo	10	VACA	NEGATIVO
11	144C	EE Ilpa	Criollo	11	VACA	NEGATIVO
12	165C	EE Ilpa	Criollo	12	VACA	NEGATIVO
13	159C	EE Ilpa	Criollo	13	VACA	NEGATIVO
14	118X	EE Ilpa	Criollo	14	VACA	POSITIVO
15	70X	EE Ilpa	Criollo	15	VACA	POSITIVO
16	142C	EE Ilpa	Criollo	16	VACA	NEGATIVO
17	137C	EE Ilpa	Criollo	17	VACA	NEGATIVO
18	126CF	EE Ilpa	Criollo	18	VACA	NEGATIVO
19	CR4	EE Ilpa	Criollo	19	VACA	NEGATIVO
20	156C	EE Ilpa	Criollo	20	VACA	NEGATIVO
21	145C	EE Ilpa	Criollo	21	VACA	NEGATIVO

22	C02	EE Illpa	Criollo	22	VACA	NEGATIVO
23	167C	EE Illpa	Criollo	23	VACA	NEGATIVO
24	181C	EE Illpa	Criollo	24	VACA	NEGATIVO
25	188C	EE Illpa	Criollo	25	TORETE	NEGATIVO
26	174C	EE Illpa	Criollo	26	TORO	NEGATIVO
27	200C	EE Illpa	Criollo	27	TORETE	NEGATIVO
28	191C	EE Illpa	Criollo	28	VAQUILLA	NEGATIVO
29	178CA	EE Illpa	Criollo	29	VAQUILLA	NEGATIVO
30	196C	EE Illpa	Criollo	30	VAQUILLA	NEGATIVO
31	797	EE Illpa	Brown Swiss	31	VAQUILLONA	NEGATIVO
32	806	EE Illpa	Brown Swiss	32	VAQUILLONA	NEGATIVO
33	811	EE Illpa	Brown Swiss	33	VAQUILLONA	NEGATIVO
34	713	EE Illpa	Brown Swiss	34	VACA	NEGATIVO
35	812	EE Illpa	Brown Swiss	35	VAQUILLA	NEGATIVO
36	746	EE Illpa	Brown Swiss	36	VACA	NEGATIVO
37	408	EE Illpa	Brown Swiss	37	VACA	NEGATIVO
38	439	EE Illpa	Brown Swiss	38	VAQUILLA	NEGATIVO
39	753	EE Illpa	Brown Swiss	39	VACA	NEGATIVO
40	802	EE Illpa	Brown Swiss	40	VAQUILLA	NEGATIVO

41	447	EE Illpa	Brown Swiss	41	VACA	NEGATIVO
42	524	EE Illpa	Brown Swiss	42	VACA	NEGATIVO
43	478	EE Illpa	Brown Swiss	43	VACA	NEGATIVO
44	448	EE Illpa	Brown Swiss	44	VACA	NEGATIVO
45	790	EE Illpa	Brown Swiss	45	VAQUILLONA	NEGATIVO
46	395	EE Illpa	Brown Swiss	46	VACA	NEGATIVO
47	561	EE Illpa	Brown Swiss	47	VACA	NEGATIVO
48	575	EE Illpa	Brown Swiss	48	VACA	NEGATIVO
49	774	EE Illpa	Brown Swiss	49	VAQUILLONA	NEGATIVO
50	450	EE Illpa	Brown Swiss	50	VACA	NEGATIVO
51	813	EE Illpa	Brown Swiss	51	VAQUILLONA	NEGATIVO
52	*04	EE Illpa	Brown Swiss	52	VACA	NEGATIVO
53	814	EE Illpa	Brown Swiss	53	VAQUILLA	NEGATIVO
54	460	EE Illpa	Brown Swiss	54	VACA	NEGATIVO
55	743	EE Illpa	Brown Swiss	55	VACA	NEGATIVO
56	786	EE Illpa	Brown Swiss	56	VACA	NEGATIVO

57	475	EE Illpa	Brown Swiss	57	VACA	NEGATIVO
58	405	EE Illpa	Brown Swiss	58	VACA	NEGATIVO
59	763	EE Illpa	Brown Swiss	59	VACA	NEGATIVO
60	781	EE Illpa	Brown Swiss	60	VACA	NEGATIVO
61	*02	EE Illpa	Brown Swiss	61	VACA	NEGATIVO
62	640	EE Illpa	Brown Swiss	62	VACA	NEGATIVO
63	MERY	EE Illpa	Brown Swiss	63	VACA	POSITIVO
64	703	EE Illpa	Brown Swiss	64	VACA	NEGATIVO
65	701	EE Illpa	Brown Swiss	65	VACA	NEGATIVO
66	480	EE Illpa	Brown Swiss	66	VACA	NEGATIVO
67	590	EE Illpa	Brown Swiss	67	VACA	NEGATIVO
68	799	EE Illpa	Brown Swiss	68	VACA	NEGATIVO
69	LIZET	EE Illpa	Brown Swiss	69	VACA	NEGATIVO
70	665	EE Illpa	Brown Swiss	70	VACA	NEGATIVO
71	548	EE Illpa	Brown Swiss	71	VACA	NEGATIVO
72	721	EE Illpa	Brown Swiss	72	VACA	NEGATIVO

73	476	EE Illpa	Brown Swiss	73	VACA	NEGATIVO
74	454	EE Illpa	Brown Swiss	74	VACA	NEGATIVO
75	564	EE Illpa	Brown Swiss	75	VACA	NEGATIVO
76	314	EE Illpa	Brown Swiss	76	VACA	NEGATIVO
77	769	EE Illpa	Brown Swiss	77	VACA	NEGATIVO
78	720	EE Illpa	Brown Swiss	78	VACA	NEGATIVO
79	435	EE Illpa	Brown Swiss	79	VACA	NEGATIVO
80	668	EE Illpa	Brown Swiss	80	VACA	NEGATIVO
81	341	EE Illpa	Brown Swiss	81	VACA	NEGATIVO
82	688	EE Illpa	Brown Swiss	82	VACA	NEGATIVO
83	565	EE Illpa	Brown Swiss	83	VACA	NEGATIVO
84	330	EE Illpa	Brown Swiss	84	VACA	NEGATIVO
85	710	EE Illpa	Brown Swiss	85	VACA	NEGATIVO
86	780	EE Illpa	Brown Swiss	86	VACA	NEGATIVO
87	443	EE Illpa	Brown Swiss	87	VACA	NEGATIVO
88	723	EE Illpa	Brown Swiss	88	VACA	NEGATIVO

89	389	EE Illpa	Brown Swiss	89	VACA	NEGATIVO
90	631	EE Illpa	Brown Swiss	90	VACA	NEGATIVO
91	*03	EE Illpa	Brown Swiss	91	VACA	NEGATIVO
92	764	EE Illpa	Brown Swiss	92	VACA	NEGATIVO
93	705	EE Illpa	Brown Swiss	93	VACA	NEGATIVO

FOTO 1.- HOJA DE TRABAJO PARA ELISA INDIRECTA



HOJA DE TRABAJO PARA ELISA INDIRECTA NEOSPOR CIVTEST

Fecha de Ensayo: 29/01/19 Analista KZUERAC

Código: B.20/1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CN	7	15 ⁺	23	31	39	47	55	63 ⁺	71	79	87
B	CP	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88
C	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89
D	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82	90
E	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91
F	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84	92
G	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85	93
H	6	14 ⁺	22	30	38	46	54	62	70	78	86	

- Preparación de la solución de lavado (10X) ✓
- Preparación del Diluyente de muestra (3x) ✓
- Dispensar 50 µl de control (+) NO diluido ✓
- Dispensar 50 µl de control (-) NO diluido en dos pocillos ✓
- Dispensar 50 µl de muestra diluida (1/100) en pocillos ✓
- A: 10 ul muestra + 190ul prep. Diluyente. ✓
- B: 40ul prep. Diluyente + 10 ul sol. A ✓
- Homogenizar ✓
- Incubar a 37°C x 60' Hora de Inicio: 10:43 Hora Fin: 11:43 ✓
- Lavado x 3 veces ✓
- Dispensar 50 µl de conjugado ✓
- Incubar a 37 °C x 20' Hora de Inicio: 11:54 Hora Fin: 12:16 ✓
- Lavado x 3 veces ✓
- Dispensar 50 µl de sustrato TMB ✓
- Incubar 20°C +- 25°C x 15' Hora de Inicio: 12:27 Hora Fin: 12:42 ✓
- Frenar con 50 µl de solución de frenado ✓
- Lectura a 405 nm ✓
- Validación del ensayo: si la D.O CP es > 0.9 y la relación CP- CN es > 5.0
- IRPC= (Muestra-CN) / (CP- CN) *100

Foto 2.- RESULTADOS LABORATORIO VETERINARIO DEL SUR



ENVIADO POR: GLORIA ALANGUIA BUTRON	FECHA DE INFORME: 29/01/2019
DIRECCION: Jr. Cotabamba 232	Nro. DE DIAG: 55
	REFERENCIA: B20/1-19
	FECHA DE ENVIO: 28/01/2018
	FECHA DE RECIBIDO: 28/01/2019

REPORTE DE EXAMENES

PROPIETARIO: Instituto de Innovacion Agraria	ANIMAL N°:
DIRECCION:	ESPECIE/LAB.: BOVINO
LOCALIDAD:	RAZA: Brown Suis
PROVINCIA:	SEXO:
DPTO: PUNO	EDAD:

HISTORIA

PRUEBAS REALIZADAS:

Laboratorio	Muestras	Total	Prueba
INMUNOLOGIA	SANGRE	93	NEOSPORA

RESULTADOS

IDENTIFICACION	NEOSPORA	IDENTIFICACION	NEOSPORA
1	S.R NEGATIVO	28	S.R NEGATIVO
2	S.R NEGATIVO	29	S.R NEGATIVO
3	S.R NEGATIVO	30	S.R NEGATIVO
4	S.R NEGATIVO	31	S.R NEGATIVO
5	S.R NEGATIVO	32	S.R NEGATIVO
6	S.R NEGATIVO	33	S.R NEGATIVO
7	S.R NEGATIVO	34	S.R NEGATIVO
8	S.R NEGATIVO	35	S.R NEGATIVO
9	S.R NEGATIVO	36	S.R NEGATIVO
10	S.R NEGATIVO	37	S.R NEGATIVO
11	S.R NEGATIVO	38	S.R NEGATIVO
12	S.R NEGATIVO	39	S.R NEGATIVO
13	S.R NEGATIVO	40	S.R NEGATIVO
14	S.R POSITIVO	41	S.R NEGATIVO
15	S.R POSITIVO	42	S.R NEGATIVO
16	S.R NEGATIVO	43	S.R NEGATIVO
17	S.R NEGATIVO	44	S.R NEGATIVO
18	S.R NEGATIVO	45	S.R NEGATIVO
19	S.R NEGATIVO	46	S.R NEGATIVO
20	S.R NEGATIVO	47	S.R NEGATIVO
21	S.R NEGATIVO	48	S.R NEGATIVO
22	S.R NEGATIVO	49	S.R NEGATIVO
23	S.R NEGATIVO	50	S.R NEGATIVO
24	S.R NEGATIVO	51	S.R NEGATIVO
25	S.R NEGATIVO	52	S.R NEGATIVO
26	S.R NEGATIVO	53	S.R NEGATIVO
27	S.R NEGATIVO	54	S.R NEGATIVO

Av. Alfonso Ugarte N° 500-A
 Teléfono: 054-213677
 Cel. Gerencia: 978404610
 Cel. Sub Gerencia: 978404667
 e-mail: labvetsur@hotmail.com
 e-mail: labvetsur.acreditación@gmail.com
 Arequipa - Perú



IDENTIFICACION	NEOSPORA	IDENTIFICACION	NEOSPORA
55	S.R NEGATIVO	75	S.R NEGATIVO
56	S.R NEGATIVO	76	S.R NEGATIVO
57	S.R NEGATIVO	77	S.R NEGATIVO
58	S.R NEGATIVO	78	S.R NEGATIVO
59	S.R NEGATIVO	79	S.R NEGATIVO
60	S.R NEGATIVO	80	S.R NEGATIVO
61	S.R NEGATIVO	81	S.R NEGATIVO
62	S.R NEGATIVO	82	S.R NEGATIVO
63	S.R POSITIVO	83	S.R NEGATIVO
64	S.R NEGATIVO	84	S.R NEGATIVO
65	S.R NEGATIVO	85	S.R NEGATIVO
66	S.R NEGATIVO	86	S.R NEGATIVO
67	S.R NEGATIVO	87	S.R NEGATIVO
68	S.R NEGATIVO	88	S.R NEGATIVO
69	S.R NEGATIVO	89	S.R NEGATIVO
70	S.R NEGATIVO	90	S.R NEGATIVO
71	S.R NEGATIVO	91	S.R NEGATIVO
72	S.R NEGATIVO	92	S.R NEGATIVO
73	S.R NEGATIVO	93	S.R NEGATIVO
74	S.R NEGATIVO		

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

Material y Método empleado:

ELISA INDIRECTA DE ANTICUERPOS NEOSPORA. KIT CIVTEST - HIPRA

Mg. MVZ. JORGE MANRIQUE MEZA
C.M.P. - 803
GERENTE

Av. Alfonso Ugarte N° 500-A
Teléfono: 054-213677
Cel. Gerencia: 978404610
Cel. Sub Gerencia: 978404667
e-mail: labvetsur@hotmail.com
e-mail: labvetsur.acreditación@gmail.com
Arequipa - Perú

Software Version 2.07.17
 Plate Number Plate 1
 Date 29/01/2019
 Time 12:50:33 p.m.
 Reader Type: ELx808
 Reading Type Reader

Procedure Details

96 WELL PLATE
 Absorbance Endpoint
 Wavelengths: 405
 Read Speed: Normal
 24

Results
 Actual Temperature:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.123	0.076	0.542	0.092	0.075	0.088	0.092	0.078	0.421	0.086	0.076	0.098
B	1.166	0.076	0.076	0.093	0.075	0.081	0.085	0.078	0.081	0.091	0.084	0.082
C	0.078	0.088	0.091	0.09	0.073	0.083	0.09	0.096	0.081	0.095	0.082	0.085
D	0.078	0.077	0.071	0.109	0.075	0.092	0.077	0.095	0.078	0.081	0.081	0.094
E	0.076	0.076	0.082	0.082	0.075	0.07	0.076	0.078	0.078	0.121	0.069	0.074
F	0.11	0.072	0.076	0.07	0.073	0.078	0.08	0.082	0.086	0.083	0.076	0.103
G	0.075	0.077	0.076	0.088	0.083	0.096	0.079	0.088	0.102	0.085	0.083	0.089
H	0.071	0.607	0.076	0.076	0.07	0.093	0.078	0.073	0.07	0.077	0.071	

CONTROL NEGATIVO
CONTROL POSITIVO

1.043

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.123	-4.506	40.173	-2.972	-4.602	-3.356	-2.972	-4.314	28.571	-3.547	-4.506	-2.397
B	1.166	-4.506	-4.506	-2.876	-4.602	-4.027	-3.643	-4.314	-4.027	-3.068	-3.739	-3.931
C	-4.314	-3.356	-3.068	-3.164	-4.794	-3.835	-3.164	-2.589	-4.027	-2.685	-3.931	-3.643
D	-4.314	-4.410	-4.986	-1.342	-4.602	-2.972	-4.410	-2.685	-4.314	-4.027	-4.027	-2.780
E	-4.506	-4.506	-3.931	-3.931	-4.602	-5.081	-4.506	-4.314	-4.314	-0.192	-5.177	-4.698
F	-1.246	-4.890	-4.506	-5.081	-4.794	-4.314	-4.123	-3.931	-3.547	-3.835	-4.506	-1.918
G	-4.602	-4.410	-4.506	-3.356	-3.835	-2.589	-4.219	-3.356	-2.013	-3.643	-3.835	-3.260
H	-4.986	46.405	-4.506	-4.506	-5.081	-2.876	-4.314	-4.794	-5.081	-4.410	-4.986	

Foto 3.- LUGAR DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS



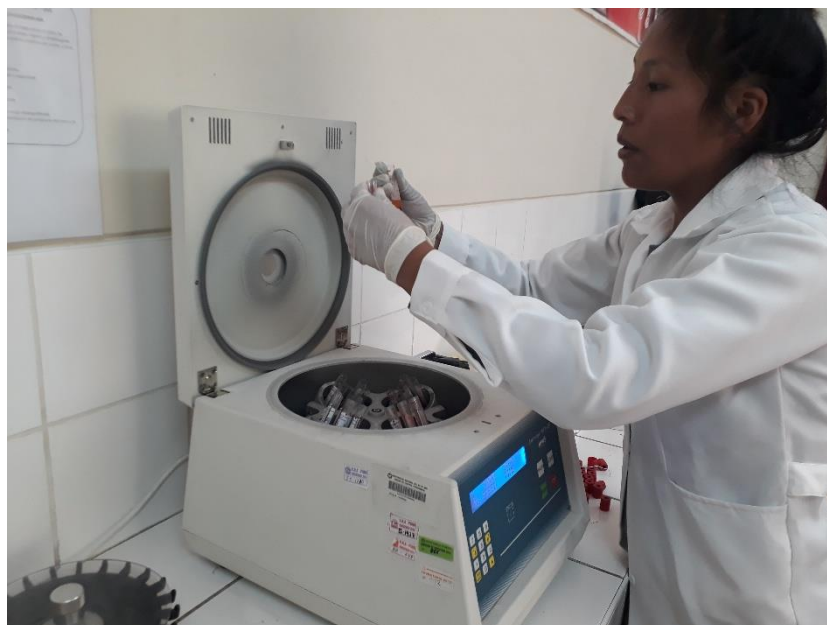
FOTO 4.- EXTRACCION DE MUESTRA SANGUINEA



FOTO 5.- ROTULADO DE MUESTRAS SANQUINEAS



FOTON 6.- CENTRIFIGACION DE MUESTRAS



**FOTO 7.- EXTRACCION DE SUERO Y CONSERVACION DE MUESTRAS
PARA ENVIO A LAVETSUR**



FOTO 8.- RECEPCION DE MUESTRAS AL LABORATORIO



**FOTO 9.- REACTIVOS PARA LA REALIZACION DEL ANALISI
LABORATORIAL**



**FOTO 10.- COLOCACION DE LAS MUESTRAS AL EQUIPO
LABORATORIAL**

