

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**



**Presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en
canes residentes en zonas de producción de panca de
maíz, destinada a la alimentación de establos lecheros en
los distritos de Chao y Virú – La Libertad 2017**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

LAURA ANGELICA VILLANES ARROYO

**TRUJILLO, PERÚ
2018**

La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente Jurado:

M.V. Mg. Roberto Briones Cabellos
PRESIDENTE

M.V. Mg. Angélica Huamán Dávila
SECRETARIA

M.V. Mg. Enrique López Jiménez
VOCAL

M.V. Mg. Juan Valdivia Pesantes
ASESOR

DEDICATORIA

A Dios y a nuestra madre la Virgen María, por permitirme en esta vida, poder cumplir una meta de mi hermosa profesión.

A mi Padre, por apoyarme en este proceso de mi educación.

A mi linda Madre, por ser el pilar de mi vida y mi trabajo, gracias por tu cariño.

A mi Hermana Nadia, por el ejemplo a seguir; sin ella no hubiera tenido este logro.

A mis hermanos Cynthia y Denis, por su gran cariño y apoyo.

A mis grandes amistades que me apoyaron alentándome a seguir a delante a pesar de los inconvenientes.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la prestigiosa Universidad Privada Antenor Orrego y a su Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, a su excelente plana docente que me ha formado como profesional que ahora soy.

A mi querido asesor el Mg. Juan Valdivia Pesantes, por su incondicional apoyo y confianza en el transcurso de este estudio de investigación, agradezco mucho su amistad y paciencia.

Al Dr. Mario Löwenstein y al Laboratorio MEGACOR de Austria, por confiar en mi estudio de investigación y proporcionarme desinteresadamente 40 FASTest *Neospora* que ha sido utilizada en la investigación del presente trabajo.

A mi estimada Microbióloga Roxana Mendoza por su apoyo brindado en el laboratorio durante el proceso de esta tesis.

ÍNDICE

	Pág.
CARÁTULA.....	i
APROBACIÓN POR EL JURADO DE TESIS.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
ÍNDICE.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA.....	3
2.1. Generalidades.....	3
2.1.1. Historia.....	3
2.1.2. Taxonomía de la <i>Neospora Caninum</i>	5
2.2. Morfología del parásito.....	6
2.3. Ciclo biológico.....	7
2.4. Transmisión.....	10
2.4.1. Transmisión vertical.....	12
2.4.2. Transmisión horizontal.....	13
2.5. Patogénesis.....	16
2.6. Signos clínicos.....	17
2.6.1. Signos clínicos en bovinos.....	17
2.6.2. Signos clínicos en caninos.....	18
2.7. Diagnóstico diferencial.....	22
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. Lugar de Estudio.....	23
3.2. Metodología.....	23
3.3. Materiales y Equipos.....	24
3.3.1. Material biológico.....	24
3.3.2. Material de Laboratorio.....	24

3.4. Metodología	25
3.4.1.Recolección de muestras	25
3.4.2.Procesamiento	26
IV. RESULTADOS.....	29
V. DISCUSIÓN	35
VI. CONCLUSIONES	38
VII. RECOMENDACIONES	39
VIII. BIBLIOGRAFÍA	40
IX. ANEXOS.....	49

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Signos Clínicos de presentación de polirradiculitis – miositis	20
Cuadro 2. Presentaciones no neurológicas de la Neosporosis	21
Cuadro 3. Caninos positivos a <i>Neospora caninum</i> , con sus respectivos porcentajes en cada centro poblado y pueblo productores de panca de maíz para el consumo de vacas lecheras.	29
Cuadro 4. Factores de evaluación como sexo y edad en los caninos seropositivos y seronegativos contra <i>Neospora caninum</i>	30
Cuadro 5. Caninos analizados por inmunocromatografía de <i>Neospora caninum</i> pertenecientes al distrito de Virú.	32
Cuadro 6. Resultados de caninos positivos a inmunocromatografía de <i>Neospora caninum</i> , de los centros poblados de “Buena Vista” y “El Inca” del distrito de Chao.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Toma de muestra de sangre	26
Figura 2. Colocación de muestras en la centrífuga.....	26
Figura 3. Técnica de extracción de suero.....	27
Figura 4. Adición de 1 gota de suero en el Casset FASTest <i>Neospora caninum</i>	28
Figura 5. Traslase del suero a viales.....	28
Figura 6. Resultado total de seropositivos de <i>Neospora caninum</i>	31
Figura 7. Porcentaje de Seropositivos de acuerdo a los centros poblados y pueblos evaluados del distrito de Virú y el distrito de Chao.....	34

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Tabla epidemiológica con datos extraídos de los propietarios de los caninos residentes del distrito de Virú.	49
Anexo 2. Tabla epidemiológica con datos extraídos de los propietarios de los caninos residentes del Distrito de Chao.....	51
Anexo 3. Canino perteneciente al distrito de Virú en el centro poblado de “Santa Elena”, se encontró teniendo contacto con el área de producción de panca de maíz.	53
Anexo 4. Canino perteneciente al distrito de Virú en el centro poblado de “Huancaquito alto”, se encontró conviviendo con ganado vacuno en área de secado de panca de maíz.	53
Anexo 5. Canino residente del distrito de Chao, convive directamente en el área de secado de panca seca de maíz.	54
Anexo 6. Canino residente del distrito de Chao, convive directamente con otras especies de animales domésticos.	54
Anexo 7. Canino deambulando en el canal de agua que riega la panca seca de maíz del centro poblado de “El Inca” en el Distrito de Chao.	55
Anexo 8. Muestras de sangre recolectadas de los caninos que viven en la provincia de Virú.	55
Anexo 9. FASTest <i>Neospora caninum</i> , pipetas descartables y gotero con antígeno de <i>Neospora caninum</i> , utilizados para el diagnóstico de <i>Neospora caninum</i>	56
Anexo 10. Resultado positivo a <i>Neospora caninum</i> luego de 15 minutos post aplicación de suero canino y antígeno.....	56
Anexo 11. Resultado negativo a <i>Neospora caninum</i> luego de 15 minutos post aplicación de suero canino y antígeno.....	57

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el propósito de demostrar la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en sangre de aquellos canes que se encuentran en los principales centros poblados y pueblos de la Provincia de Virú, en donde se cultiva maíz para obtener como subproducto la panca, el principal alimento forrajero de las vacas en los establos de producción lechera en el distrito de Trujillo. Se utilizó como técnica de diagnóstico un análisis de inmunocromatografía como el Kit FASTest *Neospora caninum*, del laboratorio MEGACOR de Austria. Este estudio serológico se realizó en 36 caninos, los cuales, se les extrajo sangre de la vena cefálica, todos procedentes de los centros poblados de la provincia de Virú.

Los resultados determinaron la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum*, en un 28% del total de canes en el distrito de Virú; 0% en el centro poblado de “California”; 14%, en el pueblo de “Chanquin”; 50%, en el centro poblado de “Santa Elena” y 28%, en el centro poblado de “Huancaquito Alto”. La presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en el distrito de Chao fue del 18%, en su totalidad; 0%, en el centro poblado de “Buena Vista” y 25 %, en el centro poblado de “El Inca”.

En conclusión, se demuestra la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum*, en la sangre de los caninos residentes de los centros poblados de Virú (28 %) y Chao (18%), donde se produce el subproducto del cultivo de maíz conocido como panca de maíz. Siendo los caninos seropositivos a *Neospora caninum* posibles contaminadores o lo hayan sido, excretando ooquistes de *Neospora caninum* en la panca de maíz destinados para la alimentación del ganado, lo que convierte a este insumo en el vehículo en que este parásito llega a los establos lecheros.

ABSTRACT

The present study was carried out with the purpose of demonstrating the presence of antibodies of *Neospora caninum* in blood of those dogs that are found in the main populated centers and towns of the Province of Virú, where corn is grown to obtain as a byproduct the panca, the main fodder for cows in dairy production stables in the district of Trujillo. An immunochromatographic analysis was used as a diagnostic technique, such as FASTest *Neospora caninum*, from the MEGACOR laboratory in Austria. This serological study was carried out on 36 canines, which extracted blood from the cephalic vein, all from the population centers of the province of Virú.

The results determined the presence of antibodies against *Neospora caninum*, in 28% of the total number of dogs in the district of Virú; 0% in the populated center of "California"; 14%, in the town of "Chanquin"; 50%, in the town of "Santa Elena" and 28%, in the center of "Huancaquito Alto". The presence of antibodies against *Neospora caninum* in the Chao district was 18%, in its entirety; 0%, in the town of "Buena Vista" and 25%, in the town of "El Inca".

In conclusion, the presence of antibodies against *Neospora caninum* is demonstrated in the blood of the resident canines of the populated centers of Virú (28%) and Chao (18%), where the by-product of the corn culture known as panca de corn. Being the canine seropositive to *Neospora caninum* a possible polluter or it has been, excreting oocysts of *Neospora caninum* in the panca of corn destined for the feeding of the cattle, turns to this input in the vehicle in which this parasite arrives at the dairy stages.

I. INTRODUCCIÓN

La ganadería lechera en la zona costera de La Libertad, está basada en la utilización de productos y sub productos de la agricultura, dentro de estos la panca de maíz es un insumo de utilización masiva. Los lugares de producción de panca de maíz más importante son los distritos de Virú y Chao, donde es costumbre en los agricultores cortar primero la planta completa del maíz y dejarla en el suelo de la chacra hasta la cosecha del grano, permaneciendo luego la panca en el suelo hasta que es comprada por los negociantes que la llevan a los establos lecheros de Trujillo.

Esta panca de maíz puede convertirse en un vehículo para la difusión de diferentes enfermedades, dentro de ellas la Neosporosis. Siendo el perro el hospedero definitivo de *Neospora caninum* (McAllister y otros;1998) y estando muy relacionado a la actividad agropecuaria, podría convertirse en un contaminador de la panca de maíz mientras esta permanece tirada en el suelo.

La ocurrencia de Neosporosis en establos en los cuales no tuvieron caninos en sus instalaciones, pero que tenían en común la utilización de panca de maíz como alimento, nos llevó a sospechar que esta pueda venir contaminada en su origen por los perros que conviven en las zonas productoras de panca.

Con la finalidad de corroborar estas sospechas, se diseñó un estudio tendiente a demostrar la presencia de anticuerpos en estos perros residentes. Para lo cual se examinaron muestras de sangre de caninos residentes de las principales zonas de producción de panca de maíz, específicamente se utilizó el suero, previamente centrifugado, con el propósito de encontrar anticuerpos de *Neospora caninum* a través de una

prueba rápida de inmunocromatografía como lo es el Kit FASTest *Neospora caninum*, y así demostrar que aquellos caninos seropositivos a dicha enfermedad, son una fuente de diseminación del parásito de *Neospora caninum*.

II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

2.1. Generalidades

2.1.1. Historia

La Neosporosis surge como enfermedad emergente en 1984, con un reporte de Bjerkas en Noruega de un caso de encefalitis y miocarditis en caninos, producido por un protozooario. Dubey y otros (1988), propusieron el nombre de *Neospora caninum* y lograron comprobar los postulados de Koch en esta especie. Thilsted y otros (1989), reporta la participación de Neospora, como causa de aborto en bovinos, además, se obtuvo in vitro el primer aislado de *Neospora caninum*, permitiendo el desarrollo de una prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), para el diagnóstico serológico de la Neosporosis y, un año más tarde, Lindsay y Dubey (1989), desarrollaron una prueba de inmunohistoquímica para la detección del parásito en tejidos de animales infectados.

Posteriormente Dubey y su grupo (1990), demostraron la transmisión transplacentaria en caninos, felinos, ovinos y bovinos de *Neospora caninum*. Desde el punto de vista diagnóstico, el mismo Bjerkas (1991), reportó que las cepas aisladas en caninos son idénticas a las aisladas en bovinos. Con este hallazgo y el desarrollo de técnicas de diagnóstico inmunohistoquímico (Lindsay, 1989) y de ELISA (Bjorkman, 1994), se amplían las herramientas diagnósticas. A pesar de los estudios realizados, quedaban por definir algunos aspectos relacionados con el ciclo de vida del protozooario, especialmente referentes al huésped definitivo de la entidad, y aunque este tema, fue elaborado desde 1988 por varios autores como Dubey y otros, solamente en 1998, el grupo de

McAllister y otros, logran definir al perro como huésped definitivo, al haber demostrado la presencia de ooquistes en materia fecal de animales alimentados con tejidos infectados de taquizoitos, que es una forma evolutiva del parásito adulto (Cordero, 1999).

A partir de ese momento, las diferentes líneas de investigación, centraron sus esfuerzos en estudiar los mecanismos de patogenicidad del parásito, en diferentes animales naturales y experimentales, así como, en determinar las repercusiones de esta parasitosis en el ganado bovino, mediante la realización de numerosos estudios de prevalencia en diversos países de todo el mundo. Los primeros estudios sobre los mecanismos de transmisión de *Neospora caninum*, realizados por Lindsay y Dubey (1990), pusieron de manifiesto, la importancia de la transmisión vertical del parásito y establecieron un modelo experimental en el ratón, para el estudio de la patogenia de la infección.

A comienzos de la década de los 90, Anderson (1991) y Barr (1991), 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 de investigadores de otros países. Desde entonces, se han multiplicado los estudios para la obtención y caracterización de diversas técnicas de estudio de *Neospora caninum*, no solo de origen canino, sino también bovino (Conrad, 1993 y Barr, 1994).

Conrad y otros (1993), logran reproducir la enfermedad, al inocular taquizoitos en bovinos en forma experimental. Desde entonces, *Neospora caninum* ha sido descrita en vacunos de muchos países, e incluso en otras especies como: ovejas, cabras, búfalos de agua, caballos, ciervos, camellos, coyotes, zorros y dingos (Rojas, 2003). Por otra parte, McAllister y otros en 1998, describieron al perro como el

hospedador definitivo de *Neospora caninum*, cerrando de este modo el ciclo biológico de *Neospora caninum*.

Se han desarrollado nuevas pruebas diagnósticas indirectas como: la enzima inmunoensayo (ELISA), la prueba de aglutinación directa y el Western Blot (Börkman y Uggla, 1999), Atkinson (2000); y directas como la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Lally y otros, 1996), incluyendo la PCR cuantitativa (Collantes-Fernández, 2002; Müller, 2002).

2.1.2. Taxonomía de la *Neospora Caninum*

Neospora caninum, es un protozoo del Phylum Apicomplexa y de la familia *Sarcocystidae*. *Neospora caninum*, presenta un espectro amplio de huéspedes e infecta a las principales especies de ganado doméstico, así como a animales de compañía y algunas especies salvajes (Radostitis., y otros, 2002). *Neospora Caninum* es morfológicamente similar a *Toxoplasma gondii* y está relacionado a otros protozoos formadores de quistes como *Hammondia* o *Besnoitia*, sin embargo fue descrito como una especie distinta en 1988 (Fredes, 2003).

Reino: Protista

Subreino: Protozoa

Phylum: Apicomplexa

Clase: Sporozoa

Orden: Eucoccida

Familia: Sarcocystidae.

Subfamilia: Toxoplasmatinae

Género: Neospora

Especie: *Neospora caninum* (Vignau, 2005; Gamón, 2003).

2.2. Morfología del parásito

Neospora caninum presenta tres estadios diferentes: los taquizoitos; los quistes tisulares, con bradizoitos en su interior y los ooquistes. Los dos primeros, son muy similares entre *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* cuando se observan mediante microscopía óptica, si bien existen notables diferencias ultraestructurales.

Los Taquizoitos son uno de los tres estadios infecciosos de *Neospora caninum* y se encuentra en el hospedador intermedio en forma intracelular, generalmente a nivel citoplasmático, específicamente, en la vacuola parasitófaga de la célula del hospedador (Dubey, 2003). Puede parasitar a un gran número de células como neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miocitos, hepatocitos (Dubey y otros, 1988; Dubey y otros, 1993; Dubey, 1999). Los taquizoitos se dividen por endodiogénesis en forma rápida. Miden aproximadamente 3 - 7 μm , tienen entre 6-16 roptries y en algunos casos presentan entre 4-6 roptries localizados posterior al núcleo, raramente se observa un microporo (Speer, 1999). Son de forma ovoide, semilunar o globosa (Cordero, 1999).

Los Bradizoitos son el segundo estadio y se dividen por endodiogénesis, en forma lenta, encontrándose dentro de los quistes tisulares (Dubey, 2003). Miden aproximadamente 7-8 μm (Dubey, 2003), contiene las mismas organelas que el taquizoito, pero presentan un número menor de roptries, aunque morfológicamente son similares a los taquizoitos. Los quistes son un estado encontrado en el hospedador intermedio. Los quistes en el tejido son ovalados redondos y miden hasta 107 μm de diámetro y se encuentran principalmente en el sistema nervioso central, dentro de estos encontramos los bradizoitos, su pared es lisa y gruesa (Speer, 1999).

Finalmente, los ooquistes que pueden ser, esporulados o no esporulados. Los no esporulados son eliminados por los perros infectados

experimentalmente, midiendo entre 11.7 a 11.3 μm de diámetro (Lindsay y otros, 1999) (Cordero, 1999). Los ooquistes esporulados, son los que después de tres días en el medio ambiente contienen dos esporo-quistes con cuatro esporozoitos cada uno (Dubey, 1999), son morfológicamente similares a los ooquistes de *Toxoplasma gondi* y *Hammondia* (Dubey y otros 2002).

2.3. Ciclo biológico

El perro actúa a la vez 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 en el medio ambiente estando 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, 2003). Con base en los trabajos realizados por Lindsay y otros (1993), y la definición por McAllister y otros, (1998), el perro actúa como huésped definitivo. El ciclo de vida de *Neospora caninum* comprendería una fase sexual, en el intestino del perro, con la formación de ooquistes que al ser eliminados en las heces, posteriormente son ingeridos por los bovinos dando inicio a la fase asexual, con la formación de quistes tisulares y taquizoitos en los tejidos del huésped intermediario o del feto, que al ser ingeridos por los caninos cerrarían el ciclo epidemiológico con la formación de ooquistes.

Experimentalmente se puede llegar a infectar a felinos, ratones, cerdos y monos, en todos ellos, la infección natural ocurre por el consumo de ooquistes esporulados, presentes en los alimentos y aguas

contaminadas, generando en el hospedero intermediario las otras dos formas del parásito, de ubicación intracelular, taquizoitos y quistes tisulares (bradizoitos). La infección en el perro, ocurre por el consumo de bradizoitos y taquizoitos, contenidos en los tejidos de las especies animales hospederos intermediarios, y a los 5 días comienza a eliminar ooquistes sin esporular y una vez en el medio externo, al cabo de 24 horas, esporulan, cuando las condiciones son óptimas, finalmente, para completar el ciclo, estos ooquistes que contaminan las aguas y los alimentos, son consumidos por sus hospederos intermediarios (Fredes, 2000).

Lindsay y otros, (2001), corroboraron la eliminación de ooquistes en perros que habían sido alimentados con tejido que contenía quistes tisulares procedentes de ratones infectados con taquizoitos. Así mismo, comprobaron que los ooquistes eliminados esporulaban en el medio ambiente transcurridas 48-72 horas. Sin embargo, se desconoce si los perros pueden eliminar ooquistes tras la ingestión de ooquistes esporulados y no se han evidenciado las fases enteroepiteliales del parásito. Por otra parte, el bajo número de ooquistes eliminados en las heces de los perros puede ser un indicio que posiblemente, el perro no sea el mejor hospedador definitivo en la naturaleza. Se especula con la hipótesis de que otras especies puedan actuar como hospedadores definitivos.

Las investigaciones que se han llevado a cabo en diversas especies de mustélidos (McAllister y otros, 1999), no han aportado información concluyente al respecto. Por el contrario, los estudios realizados en el zorro rojo (*Vulpes vulpes*) han demostrado que interviene como hospedador intermediario en el ciclo biológico de *Neospora caninum*, al haberse diagnosticado la infección mediante la técnica de PCR y pruebas serológicas y no haberse detectado la eliminación de ooquistes en zorros

con infección natural (Almería, 2002), ni con infección experimental (Echares, 2002); (Ortega, 2003).

Los mecanismos implicados en la conversión del taquizoito en bradizoito, en el paso de una fase de infección aguda a una crónica, no han sido esclarecidos si bien están siendo objeto de estudio en la actualidad (Ortega, 2003).

Los taquizoitos dejan de ser infectivos a las pocas horas de haberlos inoculado en el cultivo celular, si para entonces no han penetrado en la célula hospedadora (Hemphill y otros, 1996). Además, la presencia de agentes como el interferón- γ (IFN- γ) y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) en el medio extracelular pueden afectar a la adhesión e invasión celular, puesto que inhiben la multiplicación intracelular del parásito (Innes y otros., 1995; Yamane y otros., 2000). En los quistes, los bradizoitos conservan su capacidad infectante durante períodos de tiempo prolongados (al menos 1 año en cerebro de ratones con infección experimental) y son resistentes a la acción del HCl y la pepsina (Lindsay y Dubey, 1990), lo que corrobora la hipótesis demostrada de que el hospedador definitivo es un carnívoro (perro).

Los quistes tisulares pueden sobrevivir hasta 14 días a 4°C. Sin embargo, los bradizoitos conservados en tejido nervioso a -20°C mueren transcurridas 24 horas (Lindsay y otros, 1992). Posteriormente, (McGuire y otros, 1997), estudiaron la viabilidad de los quistes tisulares separados del tejido nervioso, comprobando que los quistes eran resistentes a una solución de HCl-pepsina y los bradizoitos mantenían su infectividad tras ser sometidos a un tratamiento de criopreservación en nitrógeno líquido durante 36 días (García, 2003).

2.4. Transmisión

Hasta el año 1998, tan solo se conocía una vía de transmisión demostrada, que era la transplacentaria. Los estudios experimentales (McAllister, 1998), fueron definitivos en el conocimiento de la biología de este parásito, ya que demostraron el papel del perro, como hospedador definitivo de *Neospora caninum*, y por consiguiente, el modo de transmisión horizontal, la cual, se confirmó con la eliminación fecal de ooquistes sin esporular en perros de 8 semanas de edad, tras la administración de tejidos procedentes de ratones infectados experimentalmente (Ortega, 2003).

Diversos estudios han sugerido la existencia de una relación entre la presentación de una curva epidémica de aborto, por Neosporosis, en algunos rebaños y una exposición puntual a una fuente de infección externa, señalando la presencia del perro en el rebaño, como un factor de riesgo, implicado en la presentación de brotes de aborto asociados a la infección por *Neospora caninum* (Bartels y otros, 1999; Wouda y otros, 1999; McAllister y otros, 2000).

El descubrimiento del perro, como un hospedador definitivo para *Neospora caninum*, puso de manifiesto la posible transmisión horizontal de la infección, ya que se detectó la eliminación de ooquistes en las heces del perro (McAllister y otros, 1998; Lindsay y otros, 1999). Posteriormente, De Marez y otros (1999) y, posteriormente, Trees y otros (2002), lograron detectar la infección en el ganado bovino al que se le había administrado vía oral ooquistes de *Neospora caninum* eliminados por el perro. Otras posibles rutas de transmisión horizontal en el ganado bovino adulto, como la ingestión de calostro y placenta infectados por *Neospora caninum*, no han sido demostradas experimentalmente, ya que Davison y otros (2001), no detectaron el parásito en los tejidos de los animales infectados por vía oral. Finalmente, se desconoce la posibilidad de que *Neospora caninum*

pueda transmitirse vía venérea, ya que no se dispone de datos sobre la prevalencia de la infección en los sementales bovinos y no se han realizado estudios para determinar la eliminación del parásito en el semen ni en infecciones naturales ni experimentales. (Ortega y otros, 2003)

La infección postnatal en el perro puede tener lugar por ingestión de tejidos de bovinos infectados (fetos abortados), placentas y restos de animales muertos que probablemente tendría como consecuencia la eliminación de ooquistes en sus heces que contaminarían el medio ambiente y podrían infectar al ganado. En los animales infectados, los quistes con bradizoitos están presentes principalmente en el tejido nervioso (cerebro y médula). En los quistes, los bradizoitos conservan su capacidad infectante durante períodos de tiempo prolongados (al menos 1 año en cerebro de ratones con infección experimental) y son resistentes a la acción del ácido clorhídrico y la pepsina, lo que indica que el carnivorismo podría contribuir a la transmisión del parásito entre determinados hospedadores que participan en el ciclo biológico. Por otra parte, diversos autores han señalado la presencia de *Neospora caninum* en la placenta (Shivaprasad y otros, 1989; Barr y otros, 1994; Schares y otros, 1997; Bergeron y otros, 2001), pero, únicamente, Dijkstra y otros (2002) han demostrado, que la ingestión de placenta infectada naturalmente por *Neospora caninum* podría ser una posible ruta de transmisión entre el perro y el ganado. Sin embargo, la ingestión de fetos bovinos infectados por *Neospora caninum*, no parece ser una importante vía de transmisión, de acuerdo con los resultados obtenidos por Bergeron y otros (2001), en cuyo estudio los perros alimentados con fetos bovinos infectados no eliminaron ooquistes. Por otra parte, la ingestión de leche o calostro de origen bovino infectados con taquizoitos de *Neospora caninum* tampoco parece ser una posible vía de infección para el perro (Dijkstra y otros, 2001).

Se desconoce si los ooquistes eliminados por el perro son infectantes para esta especie y/o para otras especies domésticas y silvestres en las que se ha demostrado la infección por *Neospora caninum*. Probablemente, dada la estrecha relación filogenética entre *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii*, el perro desempeña en el ciclo biológico de *Neospora caninum* el mismo papel que el gato, en el ciclo biológico de *Toxoplasma gondii*. Siguiendo este modelo, los ooquistes eliminados en sus heces serían infectantes para él mismo y para los hospedadores intermediarios. Además del perro doméstico, se han detectado anticuerpos anti *Neospora caninum*, en otros carnívoros como el zorro (Schaes y otros, 2001; Almería y otros, 2002), el coyote (Lindsay y otros, 1996) y el dingo (Barber y otros, 1997), aunque son necesarios más estudios para determinar la importancia real de estos animales en la transmisión de la neosporosis, puesto que no se han detectado ooquistes en sus heces. Por el momento, se desconoce la importancia relativa del pasto, contaminado con ooquistes, comparado con el forraje y los piensos almacenados, de los cánidos silvestres (zorros, coyotes y dingos) en relación con los perros domésticos, así como de las diferentes aptitudes (de compañía, de pastor, de caza) y razas de perros.

2.4.1. Transmisión vertical

La transmisión vertical transplacentaria es el principal modo de infección en el ganado bovino y parece jugar un papel relevante en la propagación y mantenimiento de la enfermedad (Björkman y otros, 1996; Paré y otros, 1996; Anderson y otros, 1997; Schaes y otros, 1998). La ausencia de variaciones en las tasas de prevalencia, entre los distintos grupos de edad en un rebaño y la detección de anticuerpos precalostrales frente a *Neospora caninum* en el suero de terneros nacidos de vacas seropositivas, indican la presencia de la infección congénita y la importancia relativamente escasa de la transmisión postnatal (Davison y otros, 1999; Hietala y Thurmond, 1999). Una vez adquirida la infección (*in*

utero o desde el medio), los animales permanecen infectados probablemente de por vida y pueden transmitir la infección a su descendencia en distintas gestaciones, consecutivas o no, con porcentajes que oscilan entre el 50% y el 95% (Paré y otros, 1996; Schares y otros, 1998; Wouda y otros, 1998; Davison y otros, 1999; Pereira-Bueno y otros, 2000). La transmisión vertical transplacentaria se produce tanto en animales en los que no se observa patología abortiva, como en aquellos que han abortado (Dubey y Lindsay, 1996).

La transmisión del parásito de la madre al ternero por el calostro o la leche puede ocurrir, aunque hasta ahora sólo se ha demostrado experimentalmente y no se considera importante desde un punto de vista epidemiológico (Uggla y otros, 1998; Davison y otros, 2001). En lo que se refiere a la transmisión de la infección por transferencia de embriones, en un estudio reciente, la infección por *Neospora caninum*, no se detectó en ninguno de los 70 fetos o terneros nacidos de vacas seronegativas, las cuales, habían recibido embriones de vacas seropositivas; mientras que, 5 de 6 terneros, procedentes de embriones transferidos de madres seronegativas a seropositivas, estuvieron infectados por el parásito (Baillargeon otros, 2001). Landman y otros (2002), confirmaron este hecho y expusieron que la transferencia comercial de embriones, previene la transmisión del parásito cuando ésta, se realiza de vacas seropositivas, a receptoras seronegativas. Igualmente, los embriones bovinos preimplantados parecen ser resistentes a la invasión por *Neospora caninum* durante esta fase del desarrollo (Bielanski y otros, 2002).

2.4.2. Transmisión horizontal

A pesar de que la transmisión vertical es el modo de infección más importante en el ganado bovino, la transmisión horizontal también puede tener lugar. Hasta el momento, no existen evidencias de

diseminación horizontal entre las vacas, aunque se ha sugerido que la ingestión de placentas infectadas podría ser una posible forma de infección, (Modry y otros, 2001), Anderson y otros (1997), demostraron que vacas seronegativas alojadas con seropositivas permanecían negativas (al igual que su progenie), mientras que las vacas seropositivas tuvieron terneros congénitamente infectados. Por su parte, la infección no fue detectada en el ganado bovino alimentado con placentas infectadas (Davison y otros, 2001). La infección por transmisión horizontal del ganado bovino adulto posiblemente tendría lugar por la ruta orofecal, el hospedador definitivo eliminaría pequeñas cantidades de ooquistes (McAllister y otros, 1998; Dubey, 1999) que contaminarían el medio (pastos, forrajes, agua de bebida y piensos almacenados). Se ha demostrado experimentalmente que los ooquistes son infectantes cuando se administran por vía oral a terneros (De Marez y otros, 1999; Gondim y otros, 2001) y a vacas gestantes (Trees y otros, 2002).

Existen evidencias seroepidemiológicas que apoyarían la teoría de la infección postnatal, como la presencia de seroconversión en el rebaño junto con la falta de asociación entre los resultados positivos de la serología materna y de su progenie (Paré y otros, 1996; Davison y otros, 1999b; Hietala y Thurmond, 1999; Dijkstra y otros, 2001, 2002).

La infección postnatal en el perro puede tener lugar por ingestión de tejidos de bovinos infectados (fetos abortados, placentas y restos de animales muertos), calostro o leche de origen bovino contaminados con taquizoitos de *Neospora caninum* (Dijkstra y otros, 2002).

La infección, probablemente, causaría la eliminación de los ooquistes en las heces del perro, sin embargo, este hecho no se ha observado en perros alimentados con fetos naturalmente infectados (Bergeron y otros, 2001) o calostro contaminado con taquizoitos de cultivo

celular (Dijkstra y otros, 2001). Diversos autores han señalado la presencia de *Neospora caninum* en la placenta (Shivaprasad y otros, 1989; Bergeron y otros, 2001) demostrándose la eliminación de ooquistes en las heces de perros alimentados con placentas de vacas seropositivas (Dijkstra y otros, 2001). Por otra parte, la cantidad de ooquistes eliminada por los perros después de la ingestión de cerebros de origen murino es baja, describiéndose un mayor número, si los perros son alimentados con tejidos de terneros experimentalmente infectados (Gondim y otros, 2002). Por otra parte, en el 51% de 300 perros, alimentados con carne cruda de origen bovino, se han encontrado anticuerpos anti- *Neospora caninum* (Trees y Williams, 2000). La presencia de ooquistes en perros naturalmente infectados se ha referido en contadas ocasiones (Basso y otros, 2001; Slapeta y otros, 2002; McGarry y otros, 2003) y apenas se conoce la frecuencia de eliminación. En este sentido, la administración de placentas infectadas a perros en diferentes días no dio lugar a la excreción repetida de ooquistes (Dijkstra y otros, 2001b). No obstante, McGarry y otros (2003) han observado en un perro naturalmente infectado, la eliminación de ooquistes en más de una ocasión. En lo que concierne al papel de los carnívoros silvestres como hospedadores definitivos, hasta el momento no se logrado la detección del parásito en las heces, aunque se han demostrado anticuerpos anti-*Neospora caninum* en el zorro (Schaes y otros, 2001; Almería y otros, 2002), el coyote (Lindsay y otros, 1996) y el dingo (Barber y otros, 1997), pero son necesarios más estudios para determinar la importancia real de estos animales en la transmisión de la neosporosis.

La transmisión venérea del parásito podría ser posible, ya que recientemente se ha descrito la presencia esporádica de ADN de *Neospora caninum* tanto en semen fresco como congelado, procedente de sementales bovinos con infección natural crónica (Ortega-Mora y otros,

2003). Por el momento se desconocen las implicaciones de esta posible vía de transmisión en la epidemiología de la neosporosis bovina.

2.5. Patogénesis

Los taquizoitos, responsables de la fase aguda de la infección, pueden invadir una gran variedad de tipos celulares en el hospedador parasitado incluyendo: macrófagos, neutrófilos, células neuronales, hepatocitos, fibroblastos, miocitos y células endoteliales de los vasos sanguíneos y renales (Dubey, 1988; Bjerkas y Presthus, 1989; Speer y Dubey, 1989).

En los perros infectados que presentan cuadros de paresia, los taquizoitos se encuentran con frecuencia en la musculatura estriada, aislándose fácilmente del músculo cuádriceps. *Neospora caninum*, es un parásito intracelular obligado, por tanto, el reconocimiento de la célula hospedadora es un requisito necesario para que tenga lugar la invasión y multiplicación. Los taquizoitos penetran en la célula hospedadora mediante invasión activa en menos de 5 minutos, localizándose en el interior de una vacuola parasitófora en el citoplasma.

El fenómeno de invasión celular ha sido ampliamente estudiado en cultivos celulares y conlleva un previo reconocimiento y adhesión a la célula hospedadora. En el interior de la vacuola parasitófora los taquizoitos se multiplican mediante endodiogenia, pudiendo albergar una célula más de 100 taquizoitos. Tras la ruptura celular, los taquizoitos salen al medio extracelular y en pocas horas se iniciarán los mecanismos de adhesión e invasión de nuevas células diana. La destrucción celular y, por consiguiente, la enfermedad depende de un equilibrio entre la habilidad de los taquizoitos, para penetrar y multiplicarse en la célula hospedadora y la habilidad del hospedador para inhibir la multiplicación del parásito. (Hemphill, 1996).

Los quistes tisulares con bradizoitos en su interior, responsables de la fase crónica de la infección, han sido observados tanto en el tejido nervioso (cerebro, médula espinal, nervios periféricos y retina) de diversas especies con infecciones naturales y experimentales (Dubey, 1988 y Barr, 1992 y Kobayashi, 2001) como en el tejido muscular esquelético del perro y de la vaca con infecciones naturales (Peters, 2001).

2.6. Signos clínicos

2.6.1. Signos clínicos en bovinos

La manifestación clínica más importante de la infección por *Neospora caninum* en el ganado bovino, es el aborto. Generalmente puede producirse en cualquier época del año; presentándose de forma esporádica, endémica o epidémica y tiene lugar entre el tercer y noveno mes de gestación, siendo más frecuente en torno a los 5-6 meses. Los fetos que mueren pueden ser reabsorbidos, momificarse o estar autolíticos. Los fetos abortados no suelen presentar lesiones macroscópicas características y no hay retención de placenta. En determinadas circunstancias puede producirse la momificación del feto (hallazgo clínico característico en los brotes de aborto por neosporosis) que es abortado o bien retenido hasta el final de la gestación. La placenta suele ser eliminada con el feto abortado sin que exista retención (Dubey y Lindsay, 1996).

Lo más frecuente es el nacimiento de terneros vivos, clínicamente sanos, pero crónicamente infectados y con altos títulos de anticuerpos precalostrales (Anderson y otros, 2000). Sin embargo, en terneros menores de 2 meses, se han descrito ocasionalmente el signo clínico neuro-musculares, apareciendo los primeros signos clínicos a los 4-5 días después del parto, aunque estos pueden retrasarse hasta transcurridas dos semanas. Los signos clínicos que se han observado van desde incoordinación ligera hasta parálisis completa, debilidad y dificultad

para levantarse. Los miembros anteriores o posteriores están flexionados o hiperextendidos y el examen neurológico revela ataxia, disminución del reflejo patelar y pérdida de coordinación (Barr y otros, 1991; Barr y otros, 1993).

En ocasiones hay exoftalmia, posición asimétrica de los ojos, ceguera, deformaciones asociadas con la lesión de las células nerviosas embrionarias, hidrocefalia, estrechamiento de la médula espinal (Dubey y otros, 1990; Barr y otros, 1991; Dubey y Lathunda 1993; Bryan y otros, 1994; Locatelli-Dittrich y otros, 2003).

2.6.2. Signos clínicos en caninos

La Neosporosis canina se puede presentar en cualquier edad. La mayoría de casos descritos implicaron varios miembros de camadas, en los que los signos clínicos aparecieron entre las 2 y las 20 semanas de edad, pero ha habido casos confirmados en perros tan jóvenes como de dos días de edad (Barber, 1996) y tan viejos como de 15 años (Dubey, 1988). Se han descrito casos en individuos aislados, así como en grupos de perros relacionados. También es posible que la neosporosis produzca nacido muertos, abortos o reabsorciones, pero esto no ha sido confirmado (Barber, 1998). Se han descrito casos en los que los dueños tenían un solo animal de compañía y también en grandes criaderos con muchos animales, y en perros de zonas tanto rurales como urbanas. Otras enfermedades simultáneas, como el moquillo canino, no son comunes en los casos de neosporosis, pero la inmunosupresión, ya sea natural o iatrogénica, puede exacerbar la enfermedad (Barber, 1998).

Los perros pueden desarrollar la enfermedad a cualquier edad, pudiendo además ser localizada o generalizada, afectando a distintos órganos. La mayoría de los casos severos ocurren en cachorros infectados congénitamente, los cuales manifiestan paresia que progresa a parálisis en los miembros traseros y los miembros anteriores pueden

afectarse con hiperextensión rígida (Gasser y otros, 1993; Dubey, 1993; Ruehlmann y otros, 1995). Los signos neurológicos dependerán del sitio afectado y puede presentarse disfagia, parálisis mandibular, flacidez muscular, atrofia muscular e incluso falla cardíaca (Buxton y otros, 2002; Dubey, 2003).

Otra manifestación de la enfermedad, pero menos frecuente, es la dermatitis que se ha manifestado en algunos perros (Dubey, 2003). La mayoría de los perros afectados presentan una alta carga parasitaria, con la presencia de numerosos taquizoitos, lo que puede sugerir una inmunodeficiencia asociada o diferencias entre las cepas actuantes (Dubey, 1999).

El síndrome descrito más comúnmente es "Polirradiculoneuritis-miositis", implica una paresia del miembro posterior que progresa hasta la parálisis, y debilidad del miembro anterior con deficiencias de los nervios craneales. La muerte se produce como consecuencia de parálisis progresiva y meningoencefalomielitis, insuficiencia cardíaca, neumonía o eutanasia. El curso de la enfermedad es variable y los casos hiperagudos mueren durante la primera semana en la que se presentan los signos clínicos. En otros casos el curso es mucho más crónico y los signos progresan gradualmente durante varias semanas. Inicialmente, los dueños notan con frecuencia un tipo de marcha como de saltos de conejo, debilidad al saltar, o que las patas se abren, cuando el perro está sentado, la paresia de los miembros puede ser uni o bilateral, y la parálisis puede ser flácida o espástica; alrededor de la mitad de los casos se desarrolla una hiperextensión rígida de la rodilla y/o del tarso en uno o ambos miembros posteriores, la incontinencia, es rara al principio pero puede desarrollarse a medida que la enfermedad progresa (Barber, 1996).

En la mayoría de los casos, el examen físico revela signos tales como los que se detallan en el Cuadro 1, pero las presentaciones pueden ser variables y no todos los signos se desarrollan simultáneamente. De esta manera, los signos clínicos progresan hasta producir paresia o parálisis de los miembros anteriores, depresión, alteración de los reflejos oculares (por ejemplo, reflejos pupilares lentos, anisocoria, estrabismo, ptosis palpebral, nistagmo), inhabilidad para abrir o cerrar la mandíbula, disfagia y disnea, en esta fase la mayoría de los perros sufren eutanasia (Barber, 1996).

Cuadro 1. Signos Clínicos de presentación de polirradiculitis – miositis

Signos principales de presentación	Otras presentaciones neurológicas
1. Reflejos propioceptivos y espinales alterados – por ejemplo, reflejos de colocación y rotulianos usualmente débiles o ausentes, ocasionalmente hiperreflexia, percepción del dolor mantenido.	1. Paresia de los miembros anteriores (uni o bilateral)
2. Atrofia muscular	2. Hemiparesia/cuadriparesia
3. Mialgia, especialmente de los músculos cuádriceps, mas raramente dolor de cuello	3. Ataxia/hipermetría
4. Xifoescoliosis lumbar	4. Comportamiento alterado
5. Hiperextensión rígida de uno o ambos miembros posteriores.	5. Ceguera central
	6. Cabeza ladeada
	7. Temblores/movimientos de afirmación con la cabeza
	8. Convulsiones

Fuente: Jackie S. 2006

En los cachorros infectados por vía trasplacentaria, la presentación típica es una paresia flácida de las extremidades posteriores. En los casos en los que el cuadro aparece en un adulto, la

presentación está presidida por signos clínicos neurológicos, dermatitis nodular, neumonía, incontinencia fecal y urinaria, hepatitis, miocarditis y miositis (Bowman; 2004). La mayoría de los perros afectados presentan una alta carga parasitaria, con la presencia de numerosos taquizoitos, lo que puede sugerir una inmunodeficiencia asociada o diferencias entre las cepas actuantes (Dubey, 1999). En caninos la enfermedad puede ser fatal tanto en perros jóvenes como adultos, pero los casos de infección congénita son los más dramáticos (Dubey y Lindsay, 1989, Cuddon y otros, 1992).

Hay casos ocasionales que pueden presentarse o tener signos asociados de lesiones cardiacas, pulmonares o dermatológicas (Cuadro 2). También puede haber pancreatitis, hepatitis o adrenitis, ya que los taquizoitos del *Neospora caninum* producen necrosis en estos órganos (Dubey, 1988), dando lugar a signos clínicos tales como vómitos y polidipsia como complicaciones de casos neuromusculares.

Cuadro 2. Presentaciones no neurológicas de la Neosporosis

Enfermedad	Edad de los casos confirmados	Signos de presentación
Miocarditis	2 días – 10 meses + 1 adulto	Muerte subita
Neumonía	11 años	Tos, letargia, pirexia
Dermatitis	6 a 15 años	Dermatitis hemorrágica, ulcerosa, necrótica, piogranulomatosa multifocal.

Fuente: Barber, 2006

En casos aislados, perros muy viejos presentan signos similares y tienen un ataque tardío de la enfermedad, es improbable que estos casos sean el resultado de transmisión trasplacentaria, y la posibilidad de transmisión oral necesitan ser consideradas. Esto también podría ser un modo posible de transmisión en casos de neosporosis en

perros adultos con signos más comúnmente de sistema nervioso central (Shelton, 2002).

2.7. Diagnóstico diferencial

Muchas otras enfermedades pueden producir signos clínicos similares, incluyendo:

1. Traumatismos (si es posible que la perra haya aplastado al cachorro o que el perro se haya caído)
2. Enfermedades de disco intervertebral, incluyendo hernia de los discos toracolumbares y espondilomielopatía cervical caudal.
3. Toxoplasmosis
4. Moquillo
5. Rabia
6. Neuropatías congénitas/ hereditarias tales como la axonopatía de los Boxers, las enfermedades de almacenamiento lisosomales o las enfermedades hipomielinizantes.
7. Meningoencefalopatía granulomatosa (MEG) y otras enfermedades inflamatorias del SNC.
8. Enfermedades tromboembólicas
9. Neoplasia
10. Intoxicaciones
11. Varios tipos de miopatías, incluyendo las metabólicas y las distrofias musculares.
12. Otras causas de miocarditis, neumonía, etc.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de Estudio

El presente estudio fue llevado a cabo en diferentes centros poblados de los distritos de Chao y Virú en la provincia de Virú del departamento de La Libertad, Perú, estos fueron elegidos mediante una previa encuesta con los negociantes y camioneros que trasladan la panca de maíz a los establos lecheros de Trujillo; cuyos nombres y coordenadas de estos centros poblados y pueblos se especifican a continuación.

En el distrito de Virú:

- Centro Poblado “California”: -8.420077,-78.809919
- Pueblo “Chanquin”: -8.4202274,-78.804555
- Centro Poblado “Santa Elena”: -8.428411,-78.818622
- Centro Poblado “Huancaquito Alto”: -8.449053,-78.822835

En distrito de Chao:

- Centro Poblado “Buenavista”: -8.542772,-78.673165
- Centro Poblado “El Inca”: -8.514822,-78.649267

3.2. Metodología

El presente estudio se realizó en 36 caninos de propiedad de los productores de panca de maíz, que abastecen a diferentes establos de producción de leche en la zona costera de la Libertad.

La muestra total es de 36 caninos, siendo esta una muestra por conveniencia ya que se desconoce la población canina de los centros poblados donde se desarrolla la actividad agropecuaria.

3.3. Materiales y Equipos

3.3.1. Material biológico

Sangre entera.

3.3.2. Material de Laboratorio

- **Equipo:**
 1. Gradilla.
 2. Guantes.
 3. Casset *Neospora caninum*.
 4. Pipetas descartables.
 5. Viales de suero estériles.
- **Instrumento:**
 1. Centrifuga.
- **Reactivos:**
 1. 4 goteros con Antígeno de *Neospora caninum*.
 2. Suero canino.
- **Materiales de Campo:**
 1. Cuaderno de apuntes.
 2. Cooler.
 3. Vacutainer con EDTA.
 4. Capuchón de Vacutainer.
 5. Agujas n° 21.
 6. Alcohol Yodado.
 7. Peróxido de Hidrógeno.
 8. Algodón.
 9. Bozales.
 10. Guantes.
 11. Gradilla.
 12. Rotulador.

3.4. Metodología

3.4.1. Recolección de muestras

Las muestras fueron tomadas de cada uno de los 36 caninos con adecuada asepsia mediante punción en la vena cefálica, utilizando el método de recolección de sangre al vacío, evitando así la contaminación con viento y polvo.

Se identificó a aquellos caninos que viven en los campos donde se procesa la panca de maíz que es utilizada como alimento de las vacas de los establos lecheros.

Se recolectó información de los caninos, según entrevistas con sus propietarios a través de una ficha de registro de cada centro poblado del distrito de Virú (Anexo 1) y también de los centros poblados del distrito de Chao (Anexo 2).

Se sujetó a los caninos con ayuda de sus propietarios, en caso de perros agresivos; se utilizó bozales como medio de precaución, para evitar accidentes y se identificó la vena cefálica, para luego desinfectar con alcohol yodado.

La extracción se realizó con aguja n° 21 en un tubo de vacutainer con EDTA, una vez recolectado la cantidad requerida, se procedió a retirar la aguja y colocamos un algodón con peróxido de hidrógeno en el sitio de la punción.

Se homogenizó la sangre que está contenida en el tubo vacutainer con EDTA, para evitar la formación de coágulos.

Se rotuló el tubo de EDTA de la muestra, con el nombre del canino y el lugar de procedencia para evitar confusiones con caninos del mismo nombre.

Se colocó en una gradilla en posición vertical dentro de un cooler para evitar perder la muestra recolectada.



Figura 1. Toma de muestra de sangre

3.4.2. Procesamiento

Las muestras extraídas fueron transportadas al Laboratorio de microbiología de la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Privada Antenor Orrego, para ser procesadas.

Se procedió a centrifugar las muestras durante 30 min a 15 000 revoluciones por minuto.



Figura 2. Colocación de muestras en la centrífuga

Luego se extrae el suero, a través de una pipeta descartable, que viene incluida con el Kit FASTest *Neospora caninum*, que es el análisis para determinar *Neospora caninum* en perros, el cual consiste en una prueba rápida de Inmunocromatografía para la detección de anticuerpos de *Neospora caninum* en sangre.



Figura 3. Técnica de extracción de suero

Se adiciona 1 gota de suero en el Casset de FASTest *Neospora caninum*, y luego 4 gotas del antígeno de *Neospora Caninum*, se esperó 15 minutos para leer el resultado del casset. La lectura del resultado de la prueba debe ser estrictamente después de 15 minutos, debido al aumento de las reacciones inespecíficas entre 15 y 20 minutos, respectivamente, y al aumento de los resultados que son más difíciles de interpretar.

En vista del laboratorio de referencia para neosporosis, FASTest® NEOSPORA caninum es kit de prueba de la empresa MEGACOR cumple todos los requisitos para una prueba rápida sensible (sensibilidad relativa del 96,2%) y específica (especificidad relativa del 100%) para la detección de N. caninum en perros y vacas.

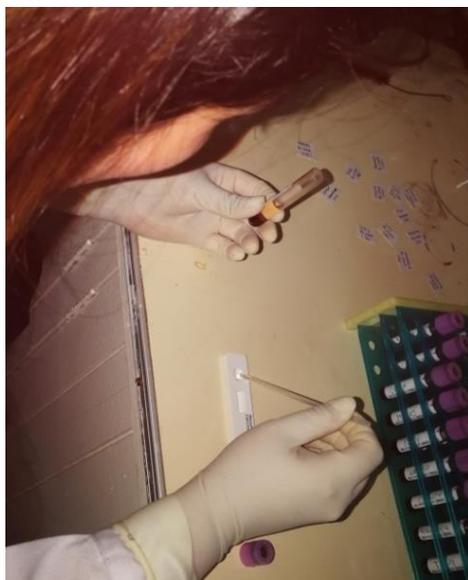


Figura 4. Adición de 1 gota de suero en el Casset FASTest
Neospora caninum

Se colocó el suero estéril sobrante en los viales para luego ser enviados a Austria para el análisis de inmunofluorescencia indirecta



Figura 5. Trasvase del suero a viales.

IV. RESULTADOS

Se determinó la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum*, en los canes pertenecientes a los centros poblados y pueblo en el distrito de Virú y de los centros poblados del distrito de Chao, donde se producen la panca de maíz para la alimentación de las vacas lecheras. De los cuales, el centro poblado con mayor resultado positivo al análisis de inmunocromatografía es el centro poblado de “Santa Elena” en proporción a la cantidad de animales muestreados. (Cuadro 1)

Cuadro 3. Caninos positivos a *Neospora caninum*, con sus respectivos porcentajes en cada centro poblado y pueblo productores de panca de maíz para el consumo de vacas lecheras.

Lugar	N° de Caninos		
	Muestreados	Positivos	Porcentaje
<i>Zonas Virú</i>			
<i>California</i>	2	0	0%
<i>Chanquin</i>	2	1	50%
<i>Santa Elena</i>	9	4	44%
<i>Huancaquito Alto</i>	5	2	40%
<i>Zonas Chao</i>			
<i>Buena Vista</i>	6	0	0%
<i>El Inca</i>	12	4	33%

También se tomó en consideración la edad y el sexo de los caninos evaluados, que conviven en los centros poblados de producción de panca de maíz, Teniendo en cuenta el comportamiento canino cuando son cachorros y cuando son adultos; los caninos menores de 1 año son considerados cachorros, por lo que su comportamiento no es ambulatorio, es decir no se alejan de su vivienda, a comparación de caninos machos adultos, por motivos de reproducción y la liberación de feromona de las hembras en estado de celo, estos van a donde las hembras están

receptivas al macho, teniendo así contacto con otros animales y con otros agentes infectivos ya sea de *Neospora caninum* u otros agentes.

En el Cuadro 4, se muestra que los caninos menores de 1 año, ninguno fue positivo a la presencia de anticuerpos de *Neospora caninum*, a diferencia de los caninos mayores de 1 año, que, de los 28 caninos muestreados, 11 de estos resultaron positivos a la presencia de anticuerpos de *Neospora caninum*. Con respecto al Sexo, de las 11 hembras muestreadas solo 2 hembras caninas resultaron positivas a *Neospora caninum*, considerando el comportamiento de las hembras, no son ambulatorias; en machos, de los 25 muestreados, 9 resultaron positivos a anticuerpos contra *Neospora caninum*, esto se debe a lo anteriormente expuesto de que los caninos machos mayores de 1 año, son ambulatorios y pueden salir de su zona de vivienda e infectarse en las zonas donde este estuvo.

Cuadro 4. Factores de evaluación como sexo y edad en los caninos seropositivos y seronegativos contra *Neospora caninum*.

Edad	N° de caninos	
< 1 Año	8	0
1 – 7 Años	28	11
Sexo		
Hembra	11	2
Macho	25	9
Total	36	11

De acuerdo a la evaluación realizada se observaron que de los caninos seropositivos a *Neospora caninum*, la gran mayoría se representa en el distrito de Virú y sus centros poblados, con un 64% y el 36% pertenece a los caninos seropositivos del distrito de Chao y sus centros poblados, tal como se muestra en la figura 06. Siendo el distrito de Virú y sus centros poblados los que más caninos seropositivos a *Neospora caninum* tiene en sus zonas de producción de panca de maíz.

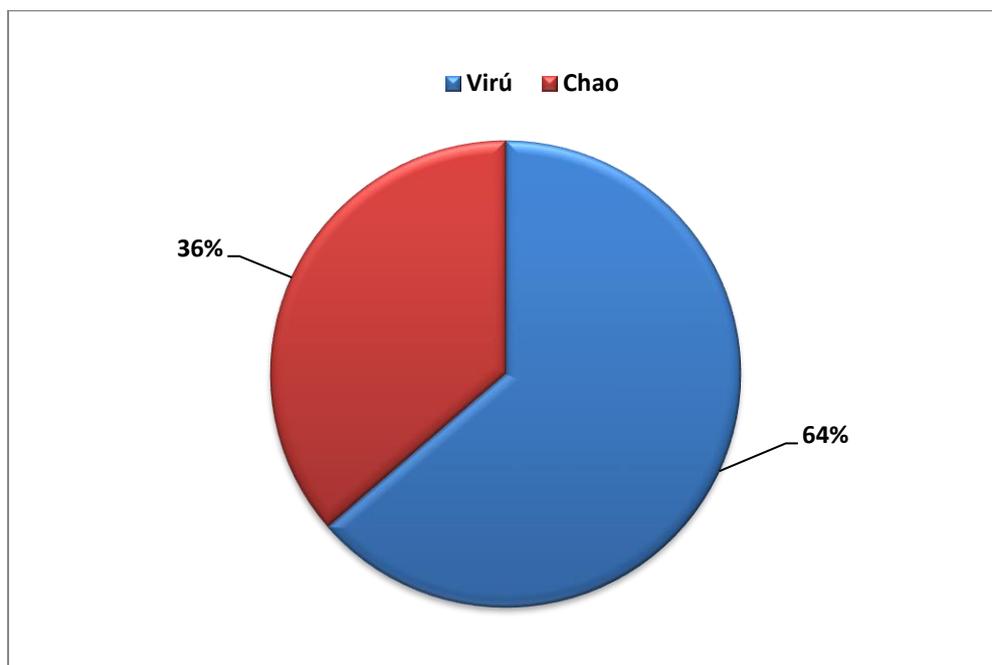


Figura 6. Resultado total de seropositivos de *Neospora caninum*

En el distrito de Virú, se evaluaron 18 caninos, donde, el resultado del centro poblado de “California”, fue el único que no tuvo caninos positivos a la inmunocromatografía de *Neospora caninum*, como se detalla en la Cuadro 5. Sin embargo, “Santa Elena”, el principal productor de panca del distrito de Virú, tiene una cantidad considerable de positivos a la inmunocromatografía de *Neospora caninum* en proporción a los canes pertenecientes a dicho centro poblado. Nuestro resultado en porcentajes de seropositivos y seronegativos contra *Neospora caninum* en el distrito de Virú fueron de 39% y 61% respectivamente.

Cuadro 5. Caninos analizados por inmunocromatografía de *Neospora caninum* pertenecientes al distrito de Virú.

	California	Chanquín	Santa Elena	Huancacquito Alto	Total	Porcentajes
Positivos	0	1	4	2	7	39%
Negativos	2	1	5	3	11	61%
Total	2	2	9	5	18	100%

Por lo tanto, en el distrito de Virú, que fue uno de los principales productores de panca de maíz, para el consumo de vacas lecheras se ha visto disminuida por el cultivo de alcachofa optada por los propietarios de las áreas agrícolas, ante la demanda de la panca de maíz en los establos, otros distritos se convirtieron ahora los mayores productores de panca de maíz como lo es el distrito de Chao.

En el distrito de Chao se evaluaron a dos centros poblados de mayor producción de panca de maíz, “Buena Vista” y “El Inca”, donde se encontraron caninos positivos a inmunocromatografía de *Neospora caninum*, solo en el centro poblado de “El Inca” como se puede ver en la Cuadro 6. La evaluación realizada a los caninos pertenecientes al distrito de Chao arrojó porcentajes de 22% en caninos seropositivos a anticuerpos contra *Neospora caninum*, y el 78% fueron seronegativos, a diferencia del distrito de Chao, la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* es mayor en el distrito de Virú, siendo mayor la contaminación en el distrito anteriormente mencionado.

Cuadro 6. Resultados de caninos positivos a inmunocromatografía de *Neospora caninum*, de los centros poblados de “Buena Vista” y “El Inca” del distrito de Chao.

	Buena Vista	El Inca	Total	Porcentajes
Positivos	0	4	4	22%
Negativos	6	8	14	78%
Total	6	12	18	100%

Teniendo en consideración a todos los caninos evaluados sin diferenciar la procedencia; de acuerdo a los resultados se podría decir que los centros poblados donde no se encontró presencia de *Neospora caninum* es el centro poblado de “California” en el distrito de Virú y en el centro poblado “Buena Vista” del distrito de Chao.

A diferencia del centro poblado de “Santa Elena” perteneciente al distrito de Virú y el centro poblado de “El Inca” perteneciente al distrito Chao, se indica que la presencia de *Neospora caninum* es más alta, siendo su porcentaje 37% y 36% respectivamente, en cambio; el pueblo de “Chanquin” y el centro poblado de “Huancaquito Alto” pertenecientes al distrito de Virú, los porcentajes son menores siendo estos 9% y 18 % respectivamente (Ver Figura 7).

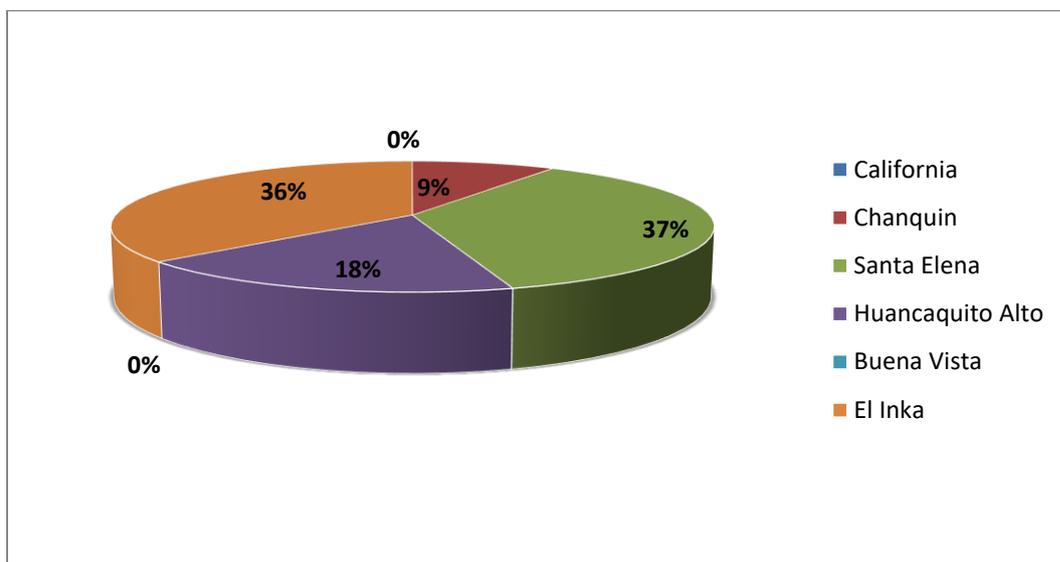


Figura 7. Porcentaje de Seropositivos de acuerdo a los centros poblados y pueblos evaluados del distrito de Virú y el distrito de Chao.

V. DISCUSIÓN

La presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en canes procedentes de la provincia de Virú; en sus distritos de Virú y el distrito de Chao fue de 64% y 36% respectivamente, este es el primer dato que se ha recolectado demostrando así la presencia de *Neospora caninum*, en canes residentes en las zonas de producción de panca, se reporta que en el departamento de la Libertad hay incidencia de la presencia de anticuerpos de *Neospora caninum* no solo en el ganado vacuno, sino también en los caninos. Estudios similares en caninos se han realizado en otras zonas geográficas, como en los alrededores de Lima y Chachapoyas, donde se demostró la prevalencia de *Neospora caninum* en un 33% y 29% respectivamente. (Del Campo y otros, 2003; Horna y otros, 2003).

En otros países, diversos estudios de este tipo, tuvieron prevalencias variables; así, en caninos de pertenecientes a establos ganaderos de Uruguay (Barber y otros, 1998) se obtuvieron prevalencias bajas (20%) a diferencia de este estudio; mientras en otros países los resultados fueron similares e incluso más altos de este presente estudio: 31%, 36% y 73% en perros que viven en establos lecheros de Japón (Sawada y otros, 1998), Brasil (Belo y otros, 1990) y Argentina (Basso y otros, 1990), respectivamente.

El centro poblado con mayor porcentaje de presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* es "Santa Elena" con el 37% perteneciente al distrito de Virú seguido del centro poblado de "El Inca" con el 36% de seropositivos del distrito de Chao. Siendo ambas los principales distribuidores de panca de maíz, el alimento principal en los establos lechero y la *Neospora caninum* el principal factor de abortos dentro de un

establo lechero. Los caninos residentes en las zonas de producción de panca pueden implicar un factor importante de contagio de *Neospora caninum*, desde el inicio de la producción de panca de maíz siendo este proceso la siembra, la cosecha y el secado de la panca.

En el centro poblado de “Santa Elena” en el distrito de Virú, se encontró a dos caninos identificados como Lazy y Bobby, procedentes de la misma área de producción de panca de maíz, el cual tuvieron una camada de 5 cachorros; 2 cachorros murieron sin causas aparentes, y solo 3 están vivos con la edad de 1 mes; considerando el tiempo en que los signos clínicos se manifiestan también en cachorros jóvenes de 2 días de nacidos como también entre las 2 y 20 semanas de edad según Barber (1996), se puede inferir de que se infectaron de *Neospora caninum* congénitamente como lo asegura Gasser y otros (1993), La literatura confirma que no hay influencia de la edad en la infección por *N. caninum* (Pereira-Bueno y otros, 1999; Del Campo y otros, 2003; Horna y otros, 2003).

Sin embargo, se encontró un canino identificado como Bronco; positivo a *Neospora caninum*, procedente del centro poblado de El Inka, el canino no presenta ningún síntoma neurológico o musculoesquelético que indiquen un cuadro clínico de *Neospora caninum*, solo una severa desnutrición, síntoma que no describe Buxon y otros (2002) y Dubey (2003).

Se encontró caninos conviviendo con otras especies de animales domésticos como: Vacas, Cerdos, Ovejas; siendo su presencia riesgosa completando así el ciclo biológico de la *Neospora caninum*. Ya que se ha demostrado experimentalmente el contagio de *Neospora caninum* en cerdos y felinos como lo ha descrito Fredes (2000). Aparentemente, existe una correlación entre la seroprevalencia de la infección con *N. caninum*

de los bovinos con la de caninos. Así lo indican los resultados encontrados por Silva y otros. 2002; (Latorre Tampier, 2013).

VI. CONCLUSIONES

Se demostró que el 22% de caninos pertenecientes al distrito de Chao fueron reactores positivos a anticuerpos contra *Neospora caninum*, al igual que en el distrito de Virú con un 39% de caninos seropositivos a anticuerpos contra *Neospora caninum*, donde su porcentaje es mayor que el distrito de Chao. Estos valores muestran que los caninos pertenecientes a estas zonas de producción de panca de maíz, pueden liberar una cantidad considerable de ooquistes de *Neospora caninum* en la panca de maíz que es destinada a los establos lecheros, así concluimos que esta panca y los caninos seropositivos a anticuerpos contra *Neospora caninum*, son un riesgo de contaminación y de diseminación del parásito.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda a los propietarios de los caninos seropositivos a anticuerpos contra *Neospora caninum*, aplicar un tratamiento con Sulfadiazina + Trimetoprim en dosis de 15 mg/kg cada 12 horas por 6 semanas.

Se recomienda evitar el contacto de los caninos seropositivos con *Neospora caninum* con otros animales domésticos y de producción.

Se recomienda a los ganaderos evitar el consumo de panca de maíz y sustituirlo por otro tipo de forraje durante el proceso de crianza de ganado lechero, hasta que se demuestre que en el lugar de la producción de la panca no hay presencia de caninos seropositivos contra *Neospora caninum*.

Recomendamos la realización de otros trabajos de investigación en otras zonas de producción panca de maíz para tener un mapeo exacto de las áreas afectadas a fin de recomendar a los ganaderos procurar la compra de panca que proceda de zonas libres.

La panca procedente de zonas positivas puede usarse para la elaboración de pancamel, orientado a la preparación de alimento balanceado de engorde de toros, a los cuales no les afecta *Neospora caninum*

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Almeria, S., Vidal, D. y Ferrer, D. 2007. Seroprevalence of *Neospora caninum* in non-carnivorous wildlife from Spain. *Veterinary Parasitology*, 143(1):8 - 21.

Almería, S., Ferrer, D., Pabon, M., Castella, J. y Manas, S. 2002. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, 107:287-294.

Anderson, M. L., Reynolds, J. P., Rowe, J. D., Sverlow, K. W., Packham, A. E., Barr, B. C. y Conrad, P. A. 1997. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp infection in dairy cattle. *Journal American Veterinary Medicine Association*, 210:1169- 1172.

Anderson, M. L., Blanchard, P. C., Barr, B. C., Dubey, J. P., Hoffman, R. L. y Conrad, P. A. 1991. *Neospora* protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *Journal American Veterinary Medicine Association*, 198:241- 244.

Basso, W., Venturini, M. C., Venturini, L., Kienast, M., Unzaga, J.M., Bacigalupe, D, y Perfumo, C. 2001. Estudio Molecular Y Aislamiento De *Neospora Caninum* En Un Caso Clínico De Neosporosis Canina.

Basso, W., Venturini, M.C. Bacigalupe. 2005. Confirmed clinical *Neospora caninum* infection in a boxer puppy from Argentina. *Veterinary Parasitology*, 131(3-4):299-303

Barber, J. 1998. Neosporosis Canina. *Waltham Focus*, 8(1):25 – 29.

Barber, J.S., Thompson, H., Milligan, P., Davidson, B., Trees, A.J. 1997. Seroepidemiological evidence for postnatal transmission of *Neospora caninum* in dogs. *International Journal of Parasitology* (Submitted).

Barber, J., Payne -Johnson, C., Trees, A. 1996. Distribution of *Neospora caninum* within the central nervous system and other tissues of six dogs with clinical neosporosis. *Journal of Small Animal Practice*, 37: 568-574.

Barr, B. C., Anderson, M. L., Dubey, J. P. y Conrad, P. A. 1991. Neospora-like protozoal infections associated with bovine abortions. *Veterinary Pathology*, 28:110-116.

Barr, B. C., Conrad, P. A., Breitmeyer, R., Sverlow, K., Anderson, M. L., Reynolds, J., Chauvet, A. E., Dubey, J. P. y Ardans, A. A. 1993. Congenital Neospora infection in calves born from cows that had previously aborted Neospora-infected fetuses: four cases (1990-1992). *Journal American Veterinary Medicine Association*, 202:113-117.

Bartels, C. J., Wouda, W. y Schukken, Y. H. 1999. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology*, 52:247-257.

Bergeron, N., Fecteau, G., Villeneuve, A., Girard, C. y Pare, J. 2001. Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, 97:145-152.

Bjerkas, I. y Dubey, J. P. 1991. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the Toxoplasma-like parasite of Norwegian dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 32:407-410.

Björkman, C., Garcia G. A., Conraths, J. 2006. *Neospora caninum* IgG avidity tests: An interlaboratory comparison. *Veterinary Parasitology*, 140(3-4):273-80.

Björkman, C., Naslund, K., Stenlund, S., Maley, S. W., Buxton, D. y Uggla, A. 1999. An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, 11:41-44.

Björkman, C., Lundén, A., Holmdahl, J., Barber, J., Trees, A. J. y A. Uggla, A. 1994. *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. *Parasite Immunology*, 16:643-648.

Bowman, W., Lynn, R. 2004. *Georgi's Parasitology for veterinarians*. Octava Edición. España. Editorial Elsevier.

Buxton, D., Mcallister, M. M. y J. P. Dubey, J. P. 2002. The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitol*, 18:546-552.

Cañón-Franco, W.A., Bergamaschi, D.P., Labruna, M.P., Camargo, L.M.A., Souza, S.L.P., Silva, J.C.R., Pinter, A.P., Dubey, J.P. y Gennari,

S.M. 2003. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 115: 71-74.

Collantes-Fernández, E., Zaballos, A., Álvarez-García, G. L., M. Ortega-Mora, M. 2002. Quantitative detection of *Neospora caninum* in bovine aborted fetuses and experimentally infected mice by real-time PCR. *Journal Clinical Microbiology*, 40: 1194-1198.

Conrad, P. A., Barr, B. C., Sverlow, K. W., Anderson, M., Daft, B., Kinde, H., Dubey, J. P., Munson, L. y Ardans, A. 1993. In vitro isolation and characterization of a *Neospora caninum* from aborted bovine fetuses. *Parasitology*, 106 (3):239-249.

Cordero, C. 1999. *Parasitología Veterinaria*. Edit. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid. Pág. 330-332, 668-669.

Cordero Del Campillo, M., Rojo, F., Martínez, A., Sánchez, C., Hernández, S., Navarrete, I. 1999. *Parasitología Veterinaria: Parte III: Cap. 21: Parasitosis del sistema reproductor*. 1ª Edición. Madrid: McGrawHill – Interoamericana.

Cuddon, P., Lin, D. S., Bowman, D. D., Lindsay, D. S., Miller, T. K., Duncan, I. D., Delahunta, A., Cummings, J., Suter, M. y B. Cooper, B. 1992. *Neospora caninum* infection in English Springer Spaniel littermates. Diagnostic evaluation and organism isolation. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 6:325-332.

Davison, H. C., Guy, C. S., MCGarry, J. W., Guy, F., Williams, D. J., Kelly, D. F. y Trees, A. J. 2001. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. *Veterinary Scientific*, 70:163-168.

Davison, H. C., Otter, A. y Trees, A. J. 1999. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *International Journal Parasitology*, 29:1683-1689.

De Marez, T., Liddell, S., Dubey, J. P., Jenkins, M. C. y Gasbarre, L. 1999. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *International Journal Parasitology*, 29:1647-1657.

Del Campo, S., Chávez, V., Delgado C., Falcón P., Ornelas A., Casas A. Y Serrano, M. 2002. Frecuencia de *Neospora caninum* en perros de

establos lecheros del Valle de Lima, Perú. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Dijkstra, T., Eysker, M., Shares, G., Conraths, F. G., Wouda, W., Barkeman, H. W. 2001. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but no after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *International Journal Parasitology*, 31:747-752.

Dubey, J.P. 2007. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Neosporosis in Beagle dogs: Clinical signs, diagnosis, treatment, isolation and genetic characterization of *Neospora caninum*. USA.

Dubey, J. P. y Schares, G. 2006. Diagnosis of bovine neosporosis. Germany. *Veterinary Parasitology*, 140: 1 – 34.

Dubey, J. 2003. Neosporosis in cattle. *Journal Parasitology* 89: 42- 56.

Dubey, J. 1999. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *Journal American Veterinary Medicine Association*, 214:1160-1163.

Dubey, J. 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, 84:349-367.

Dubey, J., Chapman J.L. y Rosenthal B.M., Clinical Sarcocystis neurona, *Sarcocystis canis*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* infections in dogs. *Veterinary Parasitology*, 137(1-2):36-49.

Dubey, J., Hattel Al. y Lindsay D. 1988. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. *Journal American Veterinary Medicine Association* 1988; 193: 1259-1263.

Dubey, J. y Lindsay, D. 1996. A Review of *Neospora caninum*. *Journal of Protozoological. Journal of Small Animal Practice*, 38: 15 – 16.

Echaide I, 2000. La Neosporosis Bovina. Jornada sobre enfermedades Emergentes Del Bovino. Santa Fe –Argentina. FAV UNRC, Río Cuarto.

Fernandez, B., Gennari, S., Souza, S., Carvalho, J., Oliveira, W. y 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: 33-40.

Fredes, F. 2002. Algunos antecedentes sobre *Neospora caninum* y Neosporosis. *Monografías Medicina Veterinaria*, 22 (1-2): 3 – 9.

Gamón, J. 2003. Detección de anticuerpos de *Neospora caninum* en la zona norte de la cuenca lechera del departamento de Santa Cruz, Bolivia. Tesis para obtener el título profesional de médico veterinario zootecnista. Universidad Autónoma Gabriel René Moreno.

Gennari, S., Yai L., Áuria S., Cardoso D., Kwok O., Jenkins M. y Dubey J. 2002. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil, *Veterinary Parasitology*, 106: 177–179.

Gondim, L., Pinheiro, A. M., Santos, P. O., Jesus, E. E., Ribeiro, M. B., Fernandes, H. S., Almeida, M. A., Freire, S. M., Meyer, R., y Mcallister, M. M. 2001. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. *Veterinary Parasitology*, 101:1-7.

Gondim, L. F., Gao, L. y Mcallister, M. M. 2002. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *Journal Parasitology*, 88:1159-1163.

Hemphill, A., Gottstein, B. y Kaufmann, H. 1996. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. *Parasitology*, 112 (2):183-197.

Hietala, S. K. y M. C. Thurmond, M. C. 1999. Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. *International Journal Parasitology*, 29:1669-1676.

Lally, N. C., M. C. Jenkins, M. C. y Dubey, J. P. 1996. Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, 3:275-279.

Landmann, J. K., Jillella, D., O'donoghue, P. J. y MCGowan, M. R. 2002. Confirmation of the prevention of vertical transmission of *Neospora*

caninum in cattle by the use of embryo transfer. Australian Veterinary Journal, 80:502-503.

La Torre Tampier, R. 2013. Determinación de *Neospora caninum* mediante inmunocromatografía, en perros de dos predios lecheros de la provincia de Llanquihue, Chile. Tesis para obtener el título profesional de médico veterinario. Universidad de Chile.

Lindsay, D. S. y Dubey, J. P. 1990. Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). Journal Parasitology, 76:410-413.

Lindsay, D. S., Blagburn, B. L. y Dubey, J. P. 1992. Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues. Journal Parasitology, 78:70-72.

Lindsay, D. S., Ritter, D. M. y Brake, D. 2001. Oocyst excretion in dogs fed mouse brains containing tissue cysts of a cloned line of *Neospora caninum*. Journal Parasitology, 87:909-911.

Lindsay, D. S., Steinberg, H., Dubielzig, R. R., Semrad, S. D., Konkle, D. M., Miller, P. E. y Blagburn, B. L. 1996. Central nervous system neosporosis in a foal. Journal Veterinary Diagnostic Investigation, 8:507-510.

Lindsay, D. S., Dubey, J. P. y R. B. Duncan, R. B. 1999. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. Veterinary Parasitology, 82:327-333.

Mcallister, M. M., Dubey, J. P., Lindsay, D. S., Jolley, W. R., Wills, R. A. y Mcguire, A. M. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. International Journal for Parasitology, 28:1473-1478.

Mcallister, M. M., Björkman, C., Anderson-Sprecher, R. y Rogers, D. G. 2000. Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. Journal American Veterinary Medicine Association, 217:881-887.

Mcgarra, J. W., Stockton, C. M., Williams, D. J., y Trees, A. J. 2003. Protracted shedding of oocysts of *Neospora caninum* by a naturally infected foxhound. Journal Parasitology, 89:628-630.

- Mineo, T.W., Silva, D.A., Costa, G.H., Von Ancken, A.C., Kasper, L.H., Souza, M.A., Cabral, D.D., Costa, A.J. y Mineo, J.R. 2001. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil, *Veterinary Parasitology*, 98: 239-245.
- Modry, D., Vaclavek, P., Koudela, B. y Slapeta, J. R. 2001. Placentophagian alternative way for horizontal transmission of *Neospora caninum* in cattle?. *Trends in Parasitology*, 17:573-575.
- Müller, N., Vonlaufen, N., Gianinazzi, C., Leib, S. L. y Hemphill, A. 2002. Application of real-time fluorescent PCR for quantitative assessment of *Neospora caninum* infections in organotypic slice cultures of rat central nervous system tissue. *Journal Clinic Microbiology*, 40:252-255.
- Cornejo, P., Chávez, V., Casas, A. y Arana, D. 2003. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro. Perú. Tesis para obtener el título profesional de Medico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Ortega, L. M y Álvarez G. G. 2003. Identificación y caracterización de antígenos de "*Neospora caninum*" con interés inmunodiagnóstico en bovinos. España. Madrid. 2003. Tesis Presentada para optar el título de Doctor. Universidad Complutense de Madrid.
- Ortega – Mora, Lm., Ferre I., Del-Pozo, I., Caetano-Da-Silva, A., Collantes-Fernandez, E., Regidor-Cerrillo, J. 2003. Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. *Veterinary Parasitology*, 117: 301-308.
- Paré, J., Thurmond, M. C., y Hietala, S. K. 1996. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 60:133-139.
- Patitucci, A.N. Pérez, M.J. Rozas, Israel, K.F. 2001. Neosporosis canina: presencia de anticuerpos sericos en poblaciones caninas rurales y urbanas de Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 33:2.
- Peters, M., Lutkefels, E., Heckerroth, A. R., Schares, G. 2001. Immunohistochemical and ultraestructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. *International Journal Parasitology*, 31:1144-1148.

Radostitis, O., Gay, C., Bood, D. y Hinchcliff, K. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Novena ed. Madrid; McGRAW Hill – Interamericana: 2002. Vol. II. Págs. 1035, 1553,- 1555.

Rojas, C. M. 2003. Neosporosis canina. Revista virtual de parasitología veterinaria. Perú. 2003

Schares, G., Wenzel, U., Müller T., y Conraths, F. 2001. Serological evidence for naturally occurring transmission of *Neospora caninum* among foxes (*Vulpes vulpes*). International Journal Parasitology, 31 :418-423.

Schares, G., M. Peters, R., Wurm, A., Barwald, A. y Conraths, F. 1998. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. Veterinary Parasitology, 80:87-98

Shelton, D.J. 2002. The Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice, Neuromuscular Diseases, 1: 225-229.

Shivaprasad, H. L., Ely, R, y Dubey J. P. 1989. A Neospora-like protozoon found in an aborted bovine placenta. Veterinary Parasitology, 34:145-148.

Speer, C. A., Dubey, J. P., Mcallister, M. M., y Blixt J. A. 1999. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. International Journal Parasitology, 29:1509-1519.

Thilsted, J. P. y Dubey, J. P. 1989. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. Journal Veterinary Diagnostic Investigation, 1:205-209.

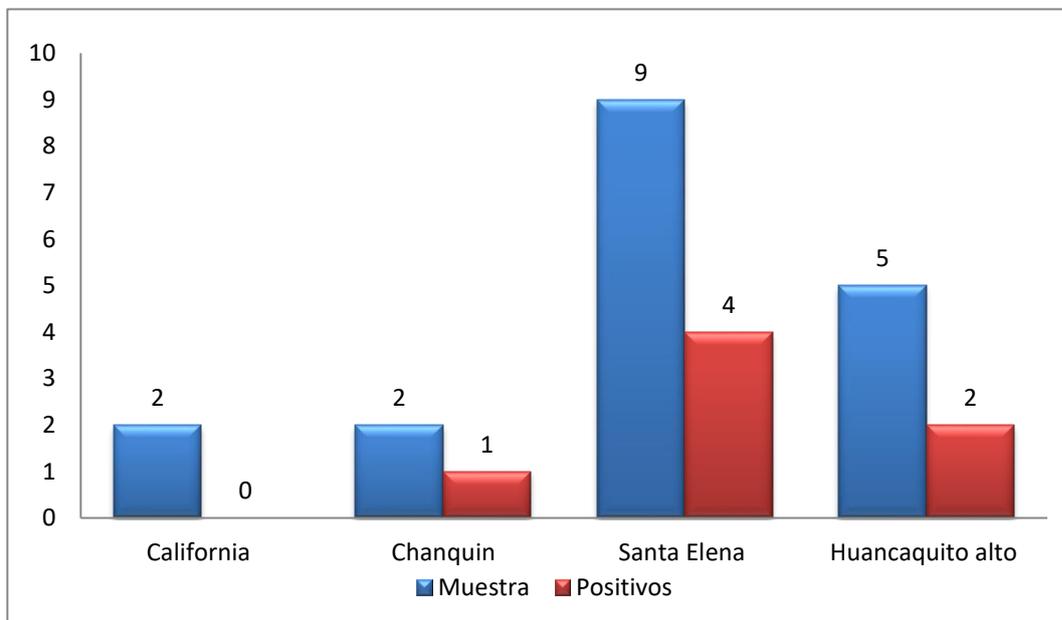
Trees, A. J., Mcallister, M. M., Guy, C. S., MCGarry, J. W., Smith, R. F. y Williams, D. J. 2002. *Neospora caninum*: oocyst challenge of pregnant cows. Veterinary Parasitology, 109:147-154.

Trees, A. J., y Williams, D. J. 2000. Neosporosis in the United Kingdom. in: Hemphill, A., Gottstein, B. A European perspective on *Neospora caninum*. International Journal Parasitology, 30: 891-893.

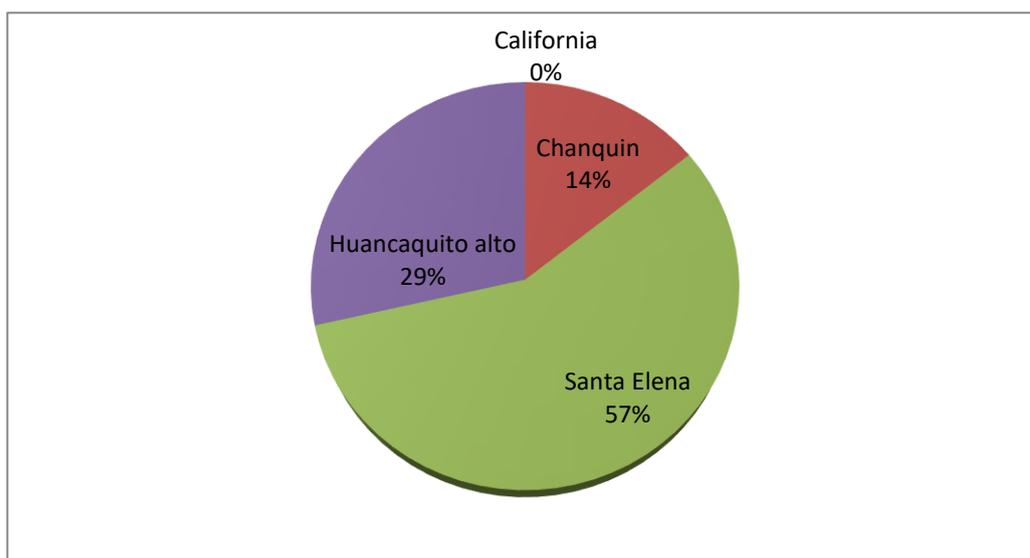
Ugglå, A., Stenlund, S., Holmdahl, O. J., Jakubek, E. B., Thebo, P., Kindahl, H. y Björkman, C. 1998. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. International Journal Parasitology, 28:1467-1472.

Vignau, M., Venturini, L., Romero, J., Fernando, D. y Basso, W. Parasitología práctica y Modelos de Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 1ª ed. Universidad Nacional de La Plata.2005. Pag.23.

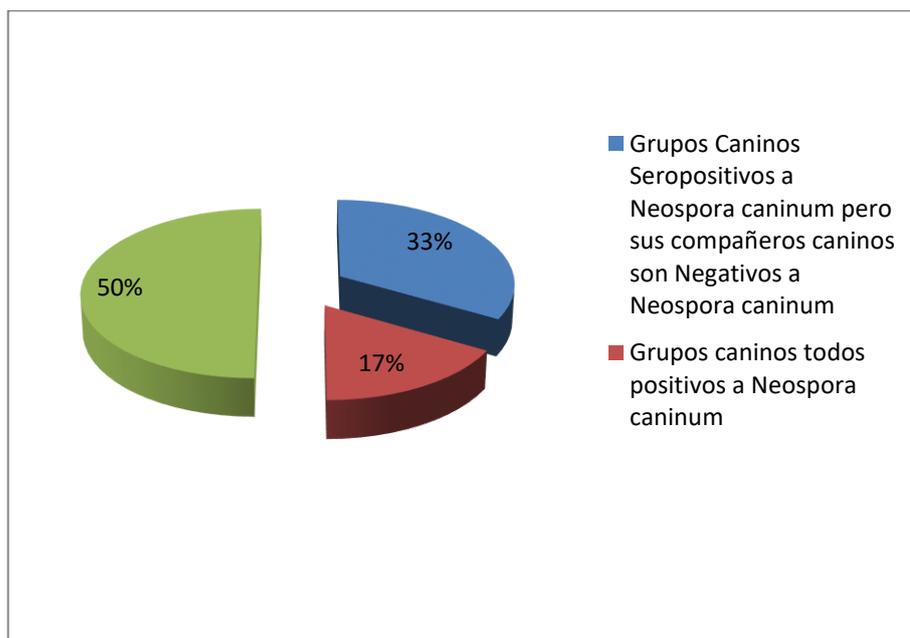
Anexo 1.1 Resultados de los Caninos evaluados en el distrito de Virú y sus centros poblados y pueblo.



Anexo 1.2 Porcentajes representativos de los caninos seropositivos a *Neospora caninum* en los centros poblados y pueblo del distrito de Virú.



Anexo 2.1. El 50% de los Grupos caninos (Caninos que viven en la misma familia) evaluados no contienen anticuerpos contra *Neospora caninum*, el 33% de los Grupos caninos evaluados seropositivos a *Neospora caninum* tienen compañeros los cuales no presentaron anticuerpos contra *Neospora caninum*, el 17% de los Grupos caninos, todos los integrantes presentaron anticuerpos contra *Neospora caninum*.



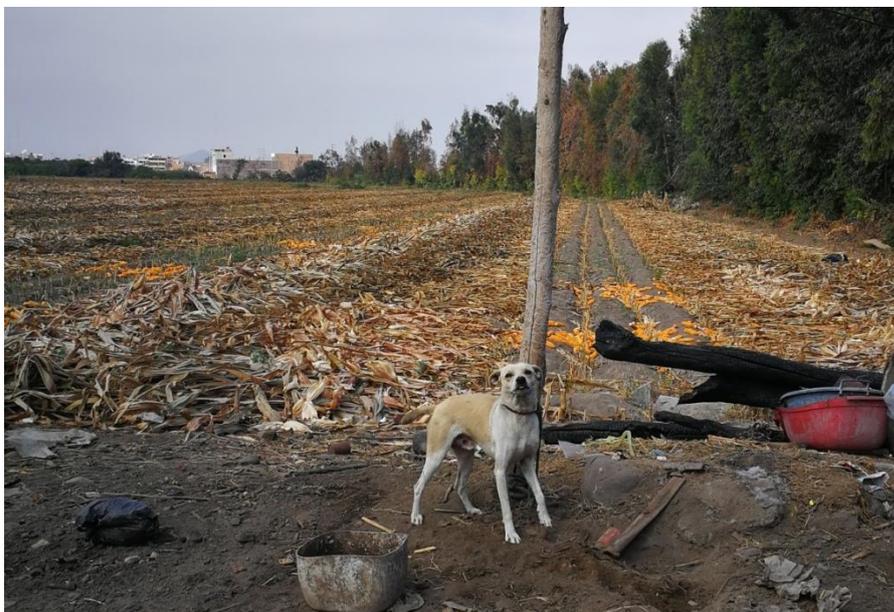
- Anexo 3. Canino perteneciente al distrito de Virú en el centro poblado de “Santa Elena”, se encontró teniendo contacto con el área de producción de panca de maíz.



- Anexo 4. Canino perteneciente al distrito de Virú en el centro poblado de “Huancaquito alto”, se encontró conviviendo con ganado vacuno en área de secado de panca de maíz.



Anexo 5. Canino residente del distrito de Chao, convive directamente en el área de secado de panca seca de maíz.



Anexo 6. Canino residente del distrito de Chao, convive directamente con otras especies de animales domésticos.



Anexo 7. Canino deambulando en el canal de agua que riega la panca seca de maíz del centro poblado de “El Inca” en el Distrito de Chao.



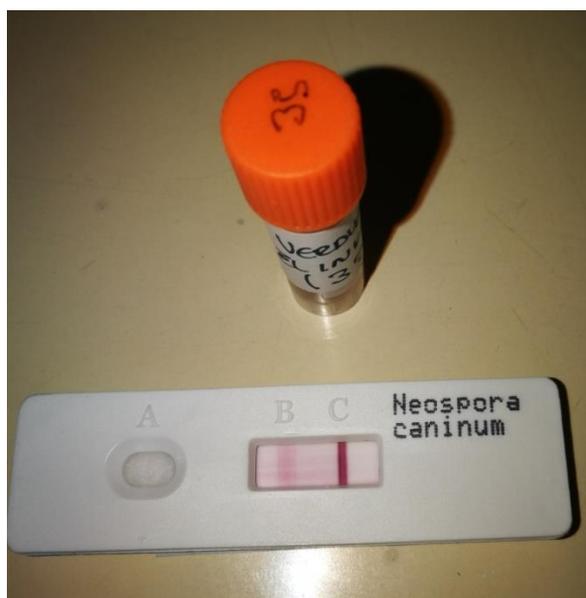
Anexo 8. Muestras de sangre recolectadas de los caninos que viven en la provincia de Virú.



Anexo 9. FASTest *Neospora caninum*, pipetas descartables y gotero con antígeno de *Neospora caninum*, utilizados para el diagnóstico de *Neospora caninum*.



Anexo 10. Resultado positivo a *Neospora caninum* luego de 15 minutos post aplicación de suero canino y antígeno.



Anexo 11. Resultado negativo a *Neospora caninum* luego de 15 minutos post aplicación de suero canino y antígeno.

