

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Fundada en 1551

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Seroprevalencia de *N. caninum* en perros
de establos lecheros de la cuenca
izquierda del valle del mantaro.**

Tesis para optar el Título Profesional de: MÉDICO VETERINARIO

AUTOR:

NATHANN JESÚS CORNEJO PRADO

LIMA – PERÚ 2004

*El presente trabajo es el fruto
del apoyo a mi familia:
padres, hermanos, primos, tía y sobrina,
para ellos pido que Dios les de todas sus bendiciones.*

*Agradezco a los doctores
que me apoyaron para la culminación de la tesis:
Dra. Amanda Chavez,
Dra. Eva Casas,
Dr. Carlos Arana,
Dr. Víctor Leyva,
Dr. Cesar Gavidia.*

*A mis amigos:
Andrea, Fernando, Ana,
Cesar, Gisel, Nelson, Carmen, Renato,
Flor, Erich, Dante, Sandra V., Hernán, Víctor,
Carlos, Sandra. M., Daniel T., Daniel F., Cristian
y demás compañeros de la casa blanca
y la promoción Pedro Acha Jamet LXV 2003,
les agradezco por los momentos de franca diversión
y apoyo a lo largo de toda mi vida universitaria.*

ÍNDICE

	Pág.
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE APÉNDICES	viii
RESUMEN	ix
SUMMARY	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
1. Etiología	3
2. Características antigénicas	3
3. Epidemiología	4
3.1. El parásito	4
3.2. Hospederos	5
3.2.1. Neosporosis canina	5
3.2.2. Neosporosis en bovinos adultos	6
3.3.3. Neosporosis en fetos bovinos abortados	7
3.3.4. Neosporosis en otras especies	8
3.3.5. Neosporosis en el Perú	8
3.3. Medio ambiente	9
4. Ciclo biológico	10
5. Patogenia	11
6. Signos clínicos	14
6.1. Signos clínicos en los perros	14
6.2. Signos clínicos en los bovinos	15
7. Lesiones	17
7.1 Lesiones de la enfermedad neuromuscular del perro	17
7.2 Lesiones de los fetos y los terneros infectados	18
8. Impacto económico de la enfermedad	19
9. Diagnóstico de laboratorio	20
9.1. Diagnóstico de la neosporosis canina	19
9.2. Diagnóstico del aborto bovino	21
9.3. Diagnóstico en bovinos adultos	23

10.Tratamiento	23
11. Control	24
11.1. Control de la transmisión vertical	24
11.2. Control de la transmisión horizontal	25
11.3. Vacunación	26
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
1. Lugar de estudio	27
2. Animales	27
3. Materiales	28
4. Diseño estadístico	29
5. Determinación de anticuerpos	29
6. Análisis de los datos	30
6.1. Prevalencia	30
6.2. Intervalo de confianza	30
6.3. Análisis de variables	31
IV. RESULTADOS	32
V. DISCUSIÓN	35
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	40
VIII. LITERATURA CITADA	41
IX. APÉNDICE	49

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en caninos de 3 provincias departamento de Junín, 2002	33
Cuadro 2. Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en caninos del departamento de Junín según grupo etáreo, 2002	33
Cuadro 3. Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en caninos del departamento de Junín según género, 2002	33
Cuadro 4. Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en caninos del departamento de Junín según procedencia, 2002	34
Cuadro 5. Análisis de asociación de la tasa de infección con las variables. provincia, edad, género y procedencia de los caninos, 2002	34

LISTA DE APÉNDICES

	Pág.
Apéndice 1. Mapa del Valle del Mantaro, ubicando los establos muestreados positivos (punto rojo) y negativos (punto celeste).	50

RESUMEN

La neosporosis es una enfermedad emergente, considerada causa importante de aborto en el ganado bovino y enfermedad neuromuscular grave en perros. El objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro. Se evaluaron 124 sueros de perros, provenientes de 24 establos lecheros de las provincias de Huancayo, Jauja y Concepción. Se halló una prevalencia de anticuerpos contra *N. caninum* de 19.35 ± 6.95 % (24/124), en una dilución de 1:50, mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta. El porcentaje de establos que poseían al menos un perro infectado fue de 62.5 % (15/24). No se hallaron asociación entre la tasa de infección y las variables ubicación geográfica, edad, género y procedencia (del establo o de alrededor). Estos resultados demuestran que los caninos del Valle del Mantaro, presentan una prevalencia moderada de *N. caninum*, por lo que se recomienda el control del acceso de los canes a los establecimientos lecheros, además que esta infección esta presente en la mayoría de los establos del Valle del Mantaro.

Palabras Claves: Neosporosis, perros, IFI, seroprevalencia, establos lecheros

SUMMARY

The neosporosis is an emergent disease, considered important cause of abortion in the cattle and serious neuromuscular disease in dogs. The aim of the present study was to determine the seroprevalencia of *Neospora caninum* in dogs of dairy farms of the left basin of the Valley of Mantaro. 124 serum of dogs were evaluated of 24 dairy farms of the provinces: Huancayo, Jauja and Concepcion. A prevalencia of antibodies against *N. caninum* dectect was 19.35 ± 6.95 % (24/124), in a dilution of 1:50, by means of the indirect inmunofluorescence test. The percentage of stables that possessed at least an infected dog was 62.5 % (15/24). Association were not situated between the rate of infection and the variables geographical location, age, gender, and origin (of the stable or of around). This result shows, at dogs in the Valley of the Mantaro, a seroprevalence of *N. caninum* moderate, by what there is recommended the control of the approach of the dogs for the dairy establishments, moreover that infection is present in the majority of stables in the Valley of the Mantaro.

Key words: Neosporosis, dogs, IFAT, seroprevalence, dairy farms.

I. INTRODUCCIÓN

Desde el descubrimiento del *Neospora caninum* a fines de la década del ochenta del siglo pasado, su importancia se ha ido incrementando a través de los años, debido a los problemas reproductivos que causa en los bovinos, así mismo por la enfermedad neuromuscular grave que puede producir en los perros y además por ser una parasitosis reportada en un gran número de especies domésticas y silvestres

Actualmente la neosporosis afecta principalmente a los bovinos y los perros. Sin embargo se ha demostrado que *N. caninum* era ya causante de enfermedad en estas especies desde hace mucho tiempo. En el ganado lechero, la neosporosis actualmente es considerada como una de las principales causas de aborto y por lo tanto considerada una enfermedad de gran importancia económica. La infección en los bovinos se ha reportado en varios países, incluyendo al Perú (Rivera *et al.*, 2000).

Hasta 1998, se conocía poco o nada de la transmisión de la enfermedad, sólo cuando McAllister y *col.* completa el ciclo biológico al descubrir que el hospedero definitivo del *N. caninum* es el perro, el único conocido hasta el momento. Así, la cercanía del perro con animales de rebaño o de granjas, como los bovinos lecheros, lo evidencian como fuente potencial de transmisión.

Por otro lado, más recientemente se ha considerado al *N. caninum* como agente primario causante de enfermedad neuromuscular en perros jóvenes, por este motivo se han incentivado las investigaciones en los caninos. Al igual que en los bovinos, la infección ha sido reportada en perros de varios países, sin embargo los casos de enfermedad clínica aun son escasos. Los estudios

epidemiológicos realizados hasta el momento, demuestran que los perros presentan prevalencias variadas dado que los perros caseros o los de zonas urbanas presentan una tasa de infección menor que los animales que viven en establos lecheros y que además dicha tasa aumenta cuando estos proceden de establos con problemas de abortos (Basso *et al.*, 1999).

En el Perú, se encontró infección con *N. caninum* en el 40 % de fetos abortados (Rivera 2001) y en el 62.1 % en vacas con antecedentes de aborto (Rivera *et al.*, 2000) por lo que este parásito es considerado un agente importante causal de abortos en bovinos. La infección además ha sido demostrada en vacas y perros de establos lecheros de las provincias de Lima y Chachapoyas (Silva, 2002; Del Campo, 2003; Horna, 2003, Quevedo, 2003). El Valle del Mantaro es una cuenca lechera importante del Perú, caracterizada principalmente por una explotación lechera de tipo extensiva y que no es ajena a los problemas reproductivos. La presencia de *N. caninum* ha sido demostrada en vacas de establos del valle (Casas, comunicación personal) y la fuente infección no ha sido identificada. El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de la infección en perros del Valle del Mantaro.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. Etiología

La neosporosis es una enfermedad parasitaria causada por el protozoo *Neospora caninum*, que produce alteraciones neuromusculares en los perros y abortos o mortalidad neonatal en los bovinos (Dubey, 1999, Peters *et al.*, 2000).

El primer indicio de la existencia del *N. caninum* se da en el año de 1984, cuando se describe una enfermedad neurológica en perros, que presentaba procesos de miositis y encefalitis (Björkas *et al.*, 1984). Las lesiones observadas, indicaban y mostraban un agente similar al *Toxoplasma gondii*, sin embargo los animales afectados no presentaban anticuerpos contra este parásito (Björkas *et al.*, 1984). Recién en 1988, Dubey y *col.* logran aislar al *N. caninum* de 10 perros con alteraciones neurológicas y lo describen como un nuevo género y lo ubican dentro de la Familia Sarcocystidae. A este género también va a pertenecer la especie *Neospora hughesi*, encontrada en caballos y que presenta diferencias moleculares que lo distinguen del *N. caninum* (Marsh *et al.*, 1998).

2. Características antigénicas

Neospora caninum es morfológicamente muy similar a *Toxoplasma gondii*; sin embargo estas dos especies tienen características estructurales diferentes y distinguibles mediante pruebas serológicas, métodos inmunohistoquímicos y la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Las proteínas estructurales también son reconocidas por anticuerpos en los animales infectados (Pérez *et al.*, 1999). Se han identificado proteínas en la

fase de taquizoíto con diferentes pesos moleculares: 17, 29, 37 kDa (Dubey y Lindsay, 1996), 18, 30, 32, 41, 61 kDa (Björkman y Hempill, 1998), 25, 34, 45 kDa (Pérez *et al.*, 1999). Además, se ha descubierto que algunas, actúan como antígenos de superficie en el taquizoíto, como las proteínas de 61 kDa (Björkman y Hempill, 1998), 19, 38 y 40 kDa (Schaes *et al.*, 1999). Las proteínas de 19 y 40 kDa también han sido encontradas en los bradizoítos.

3. Epidemiología

3.1. El parásito

Se han descrito tres fases biológicas del *Neospora caninum*: los ooquistes, los taquizoítos y los quistes tisulares que contienen los bradizoítos. Los ooquistes son de forma esférica o subesférica y miden de 10 - 11 μm de diámetro (Dubey, 1999), son eliminados con las heces del perro, luego esporulan en el medio ambiente. Los ooquistes esporulados contienen 2 esporoquistes, cada uno 4 esporozítos y presentan las paredes más gruesas en comparación con los ooquistes de *T. gondii* (Lindsay *et al.*, 1999).

Los quistes tisulares se encuentran afectando el tejido nervioso de los perros y fetos abortados principalmente. Son de forma redondeada u oval, pueden llegar a medir hasta 110 μm de longitud y poseen una pared cuyo grosor varía entre 1 - 4 μm (Speer *et al.*, 1999). Se han encontrado quistes tisulares en fetos de bovino más pequeños que probablemente representen etapas tempranas de desarrollo (Barr *et al.*, 1997).

Los taquizoítos son de forma ovoide o de luna. Pueden llegar a medir entre 3-7x1-5 μm dependiendo de la etapa de división (Miró *et al.*, 1999), puesto que se dividen por endodidogenia en dos zoítos, pueden ser encontrados aislados, en pares o grupos de cuatro a más (Dubey y Lappin, 2000). Los taquizoítos también se caracterizan por que tienen 1 núcleo (en ocasiones 2), un nucleolo, una membrana externa o plasmalema que tiene 3 capas (una externa y una interna que es doble), aparato de Golgi, una mitocondria, un retículo endoplasmático rugoso y liso (Miró *et al.*, 1999). Además, posee un complejo apical que parece funcionar como un medio de adherencia o penetración hacia las células hospedadoras (Barr *et al.*, 1997). Este complejo apical consiste en un anillo polar cónico, un pellicle, microtúbulos subpelliculares (hasta 22), micronemas (hasta

150), roptrias (de 8 - 18) y un anillo apical (Miró *et al.*, 1999; Dubey y Lappin, 2000).

Los taquizoítos se localizan dentro de células hospederas en carnívoros infectados, principalmente se encuentran en células del tejido muscular esquelético, de la capa muscular del esófago y del corazón (Barber, *et al.*, 1996), en macrófagos, células polimorfonucleares del líquido raquídeo y en células neuronales (Dubey y Lappin, 2000). Dichas células pueden contener pocos o muchos taquizoítos y estos pueden estar o no dentro de vacuolas parasitófagas (Barr *et al.*, 1997).

La diferencia más notable entre los taquizoítos de *T. gondii* y de *N. caninum* es la apariencia de las roptrias, que son organelas para la interacción metabólica y forma parte del complejo apical (Dubey y Lindsay, 1996). En el caso de *T. gondii* asemejan a un panal o a laberintos mientras que en *N. caninum* parecen ser más electrodensos y usualmente son más numerosas (Dubey y Lappin, 2000).

Los bradizoítos son de 6–8x1-1.8 μm y son morfológicamente similares a los taquizoítos pero contiene menor número de roptrias (Dubey y Lindsay, 1996).

3.2. Hospederos

La neosporosis se ha diagnosticado en perros y ganado vacuno principalmente, pero también en otras especies domésticas y silvestres.

3.2.1. Neosporosis canina

Los estudios de seroprevalencia en perros han determinado que existe una mayor cantidad de animales con infección subclínica que animales desarrollando la enfermedad (Dubey, 2003). Los monitoreos epidemiológicos han mostrado, seroprevalencias en perros por ejemplo de 9% en Australia, 20% en Uruguay y 22% en Tanzania (Barber *et al.*, 1997b), 11% en Bélgica (Barber *et al.*, 1997a) y 8.3% en Brasil (Canon-Franco *et al.*, 2003).

La seroprevalencia reportada en perros criados en explotaciones de ganado vacuno es mayor que la mostrada en perros que son ajenos a estos lugares. Los animales criados dentro de los establos lecheros han reportado una prevalencia de 21.6 % en Brasil (de Souza *et al.*, 2002), 73.3% (Basso *et al.*,

1999) y 34.7% (Basso *et al.*, 2001) en Argentina y 23% en Taiwan (Ooi *et al.*, 2000); en contraste con las tasas de prevalencia en perros de áreas urbanas donde presentaron 26.2% en Argentina (Basso *et al.*, 2001) y 12% en Inglaterra (Trees *et al.*, 1993). Los perros de centros de engorde de bovinos también presentaron tasas de prevalencia altas, así en Argentina se reportó 54.2% de infección (Basso *et al.*, 1999).

De igual manera, la seroprevalencia de *N. caninum* en perros que provienen de establos con historial de abortos o que tienen vacas positivas a *N. caninum* es alto, así lo demuestra una infección de 31.3% contra 7.1% en animales que provienen de zonas urbanas en Japón (Sawada *et al.*, 1998).

Otro estudio que comparó perros caseros con perros callejeros determinó una prevalencia de 10% y 25% respectivamente (Gennari *et al.*, 2002), mostrando mayor grado de exposición en perros callejeros. De forma similar, se reportó en Brasil, que el porcentaje de perros positivos que vivían en condiciones sanitarias de nivel I (perros de la calle, 35.6%) presentaron diferencias significativas en la tasa de infección cuando son comparados con perros en mejores condiciones de sanidad: nivel sanitario II (perros mascotas, 14.8%) y nivel sanitario tipo III (perros de criaderos profesionales, 18.6%); lo que demuestra que existe correlación entre el nivel del control sanitario y la infección por *N. caninum* (Belo *et al.*, 1999).

3.2.2. Neosporosis en bovinos adultos

Se ha detectado infección con *N. caninum* en el ganado bovino alrededor de todo el mundo, tanto en animales de explotación lechera y de carne. Las tasas de seroprevalencia reportadas son muy variadas y estas dependen del tipo de ganado que se examine, los antecedentes de abortos y las pruebas que se utilicen para el diagnóstico de la infección.

Las tasas de infección son mayores en vacunos lecheros que de carne, en ese sentido, en España se detectó un seroprevalencia de 35.9% en bovinos lecheros y de 17.9 % en bovinos de carne (Pereira-Bueno *et al.*, 1999).

En vacas lecheras, Canadá presentó una seroprevalencia de 21.9 % (Bergeron *et al.*, 2000) y Taiwan de 44.9 % (Ooi *et al.*, 2000); en Estados Unidos se reportó una seroprevalencia de 16% (Rodríguez *et al.*, 2002). En Irlanda del Norte se halló una prevalencia de 9.6% (Pereira-Bueno *et al.*, 1999). En ese

estudio también determinó que los animales con antecedentes de abortos tienen mayor prevalencia de infección que los animales con partos normales, 12.6% y 3% respectivamente (Pereira-Bueno *et al.*, 1999), similar a lo encontrado en Escocia, donde se presentó, una seroprevalencia de 9.2% en vacas con antecedentes de aborto y de 1% en vacas con partos normales (Pereira-Bueno *et al.*, 1999).

3.2.3. Neosporosis en fetos bovinos abortados

Neospora caninum se ha convertido en un agente parasitario importante productor de abortos en el ganado bovino. La infección en fetos abortados ha sido demostrada a través de histología convencional, serología por inmunofluorescencia indirecta, métodos inmunohistoquímicos y la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

El porcentaje de infección con *N. caninum* encontrado en fetos abortados que fueron enviados para el diagnóstico en laboratorio es variado, pero los rangos están comprendidos entre el 1.9 al 42.5% (Pereira-Bueno *et al.*, 1999). La prevalencia de infección en fetos abortados en el Reino Unido es de 38 % (Veterinary Investigación Data Análisis-VIDA, 2001). En Estados Unidos se indica una prevalencia de infección de 16 % en fetos abortados (Barr *et al.*, 1991), además una tasa de abortos en un rango de 219 % (Rodríguez *et al.*, 2002), y sólo en California una seroprevalencia de 42.5 % en fetos de bovino abortados (Anderson *et al.*, 1995).

Luego de la ocurrencia de abortos en hatos bovinos, el *N. caninum* es comúnmente diagnosticado a través de serología. En los Estados Unidos, del 87.2 % de los abortos que se presentaron en instalaciones con antecedentes de abortos, la infección por *N. caninum* fue demostrada en el 73% de los casos (Anderson *et al.*, 1995). En Dinamarca, los fetos abortados por vacas con historial de aborto en un periodo de seis meses mostraron que el 10% se encontraban infectados con *N. caninum* (McNamee *et al.*, 1996).

3.2.4. Neosporosis en otras especies

Se ha demostrado infección por *N. caninum* en diversas especies domésticas y silvestres. En ovejas que abortaron se encontró una seroprevalencia

de 0.5 % (Helmick *et al.*, 2002). En cabras se determinó una infección de 6.49 % en Costa Rica (Dubey *et al.*, 1996) y de 0% en Taiwan (Ooi *et al.*, 2000). En caballos se determinó una infección por *N. caninum* de 23% en Francia (Pitel *et al.*, 2001), 2 % en Korea del Sur (Gupta *et al.*, 2002) y un rango de infección de 10- 21.3 % en Estados Unidos (Dubey, 2003).

En rumiantes silvestres, se ha encontrado en ciervos (*Odocoileus virginianus*) una infección de 40.5 % (Dubey *et al.*, 1999) y en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) prevalencias que varían entre el rangos de 1.5 a 53 % (Dubey, 2003).

En carnívoros silvestres, en Estados Unidos se detectó una seroprevalencia en zorros grises (*Urocyon cinereoargenteus*) de 15.4 % (Lindsay *et al.*, 2001), en coyotes (*Canis latrans*) de 10 % (Lindsay *et al.*, 1996) y en mapaches (*Procyon lotor*) de 10% (Lindsay *et al.*, 2001). En zorros de rojos (*Vulpes vulpes*) se determinó una prevalencia de 78 % en Bélgica (Buxton *et al.*, 1997), 1.4 % en Irlanda (Wolfe *et al.*, 2001), 10.7 % en España (Almeira *et al.*, 2002), 2 % (Barber *et al.*, 1997) y 6 % (Simpson *et al.*, 1997) en el Reino Unido y 0 % en Suecia (Jakubek *et al.*, 2001). En Australia se encontró una seroprevalencia de 15.9 % en los dingos (*Canis familiares dingo*) (Barber *et al.*, 1997). En felinos de Sudáfrica se encontró una infección de 16.6 % en leones (*Panthera leo*) (Cheadle *et al.*, 1999) y 6.3 % en chitas (*Acinonynx jubatus*) (Cheadle *et al.*, 1999).

En aves, se reporta que las palomas (*Columbia livia*) pueden ser infectadas experimentalmente (McGuirey *et al.*, 1999).

3.2.5. Neosporosis en el Perú

N. caninum ha sido demostrado en bovinos de las principales cuencas lecheras y en perros de establos lecheros del Perú. En vacas lecheras se encontró una seroprevalencia de 57 % en Arequipa (Andresen, 1999), 42.9 % en Cajamarca (Cabrera *et al.*, 2000), 29.6 % en Lima (Silva, 2002) y 40.38 % en la provincia de Chachapoyas (Quevedo, 2003). En vacas con antecedentes de aborto se encontró una tasa de infección de 62.1% en Lima (Rivera *et al.*, 2000), y

el porcentaje de fetos abortados por causa de *N. caninum* fue de 40 % (Rivera, 2001). En la Cuenca Lechera de Lima, se determinó una frecuencia de perros positivos a *N. caninum* de 32.7 % (Del Campo, 2003) asimismo en dos distritos de Chachapoyas se encontró una prevalencia de 28.87 % (Horna, 2003).

3.3. Medio ambiente

Los ooquistes es la fase biológica del *N. caninum* directamente influenciada por medio ambiente. Estos salen con las heces de los perros y esporulan en el medio ambiente 24 horas después de haber sido eliminados (Lindsay *et al.*, 1999), en este momento presentan dos esporoquistes cada uno con cuatro esporozoítos (Dubey, 1999). Los ooquistes en las heces del perro contaminan los campos de pastoreo, la comida almacenada y el agua que consumen los bovinos, en este momento la transmisión de la infección vía oral dependerá de la viabilidad de los ooquistes en el medio ambiente. En este caso, la infección de los animales en zonas templadas y los abortos por esta causa serían más frecuentes durante los meses de otoño-invierno ya que, probablemente, la viabilidad de los ooquistes en el medio disminuiría notablemente durante la estación seca y cálida (Pereira-Bueno *et al.*, 1999).

En las otras etapas del parásito la influencia del medio ambiente es indirecta, a través del efecto que produce en los hospederos, ya sea intermediario o definitivo, es decir que en épocas de sequía, excesivo frío, falta de alimento u otros factores estresantes incrementarían la presentación de infecciones y casos clínicos.

4. Ciclo biológico

En la actualidad, no se conoce completamente las fases del ciclo biológico de *Neospora caninum*. Recientemente, McAllister y *col.* en 1998 demuestran experimentalmente que el perro es el hospedero definitivo del *N. caninum*, al comprobar la eliminación de ooquistes no-esporulados en las heces de perros que fueron alimentados con quistes tisulares de *N. caninum* que se encontraban en tejidos de ratón.

Este tipo de transmisión horizontal, ocurriría naturalmente, de manera que los perros se infectarían vía oral con quistes tisulares de *N. caninum*, que se encuentran en placentas y en fetos abortados de bovinos (Miró *et al.*, 1999, Dubey, 2003) o de otras especies que funcionan como hospederos intermediarios. Sin embargo, esta teoría solamente se ha comprobado experimentalmente (Gondim *et al.*, 2002). En este sentido, la infección es posible en perros cuando son alimentados con placentas seropositivas a *N. caninum*, sin presentarse eliminación de ooquistes en las heces (Bergeron *et al.*, 2001); pero cuando son alimentados con fetos infectados naturalmente no presentaban infección (Bergeron *et al.*, 2001b). El descubrimiento que una gran cantidad de especies puede ser afectado por el *N. caninum*, evidencia que el rango de hospederos intermediarios es amplio, pero su rol en epidemiología del parásito es aun desconocida.

En los perros, luego de la transmisión horizontal, se produce la fase de reproducción sexual, con la eliminación de ooquistes no esporulados en las heces, 8-14 días post-infección (McAllister *et al.*, 1998) y por un período patente variable. Experimentalmente, el número promedio de ooquistes eliminados en las heces, cuando los perros son alimentados con tejidos de becerro o de ratón contaminados con quistes tisulares de *N. caninum* fue de 160 700 ó de 5 400 respectivamente (Gondim *et al.*, 2002).

La reproducción asexual se produce en el hospedero intermediario, los bovinos principalmente, luego de ingerir los ooquistes esporulados en el medio ambiente, este tipo transmisión post-natal en el ganado se calcula entre el 2-5% (Ortega *et al.*, 2001). Sólo son necesarios 300 ooquistes esporulados para infectar a una ternera y que esta sea capaz de inducir eliminación de ooquistes en otros perros, cuando son alimentados con sus tejidos (Gondim *et al.*, 2002).

Los ooquistes en el tracto intestinal liberan los esporozoítos, que penetran las células entéricas para transformarse en taquizoítos (Lindsay *et al.*, 1999). Estos taquizoítos dentro de la célula hospedadora se dividen por endodiogenia, multiplicándose y rompiéndola, para luego diseminarse hacia otras células del cuerpo y volver a repetir el mismo mecanismo (Lindsay *et al.*, 1999). Los taquizoítos pueden seguir su etapa de división o diferenciarse en bradizoítos que formarán los quistes tisulares (Tunev *et al.*, 2002). Tanto los taquizoítos y como

los bradizoítos principalmente se van localizar en el feto, la placenta y el tejido nervioso de la madre; sin embargo los taquizoítos muestran mayor tropismo hacia las células del sistema nerviosos central (SNC), células musculares de tipo esquelético y cardíaco, células endoteliales y a la placenta (Barber *et al.*, 1996; Dubey y Lindsay, 1996). En bovinos adultos, las infecciones van ha ser inaparentes hasta el momento del aborto. En los fetos abortados, los órganos más afectados son SNC, corazón, músculo esquelético y el hígado (Pérez *et al.*, 1999).

La transmisión del bovino al perro cierra el ciclo biológico, y se realiza a través de la ingestión de placentas contaminadas de partos normales, fetos abortados y carne cruda de bovinos que contienen taquizoítos y bradizoítos de *N. caninum*.

Existe además la transmisión vertical, se produce en el hospedero intermediario sea herbívoro o carnívoro y se presenta frecuentemente en forma natural en los bovinos y los perros. En las vacas, es la ruta principal de la infección y la forma en que permanece dentro de los rebaños lecheros. Se calcula que el 80% de vacas seropositivas pueden infectar a sus crías (Ortega *et al.*, 2001) y por ejemplo, en Canadá, se estima que la transmisión sucede en el 44.4 % de los casos de neosporosis bovina y que aumenta en los rebaños con mayor cantidad de animales seropositivos pudiendo llegar hasta 85.7 % de infección (Bergeron *et al.*, 2000).

5. Patogenia

El cuadro clínico de la neosporosis en los bovinos y caninos se presenta debido a la transmisión transplacentaria. Sin embargo, se ha conseguido la infección experimentalmente sin presentarse signos a través de las vías intramuscular, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, calostrual y oral (Uggla *et al.*, 1998; Pérez *et al.*, 1999). En perros la transmisión congénita ha sido demostrada experimentalmente pero sin desarrollo de la enfermedad (Cole *et al.*, 1995).

La infección transplacentaria conlleva a la infección del feto con taquizoítos, que se encontraban en período de latencia en la madre gestante en forma de bradizoítos (Pérez *et al.*, 1999; Dubey y Lappin, 2000). Esta teoría aun no está comprobada y sólo un estudio ha encontrado la presencia de quistes tisulares

viales de *N. caninum*, en el cerebro de una vaca que abortó (Sawada *et al.*, 2000) y además tampoco se sabe cuanto tiempo estos quistes pueden permanecer viables, aunque se cree que es por muchos años (Pérez *et al.*, 1999).

Los taquizoítos pueden invadir células de muchos tejidos, en forma experimental, penetran la célula hospedadora a través de proteoglicanos de superficie (Naguleswaran *et al.*, 2002), en menos de 5 minutos y se sitúan en el citoplasma dentro de una vacuola parasitófaga (Pérez *et al.*, 1999; Miró *et al.*, 1999). Luego, comienza la multiplicación por endodiogenia, pudiendo albergar una célula hasta 100 parásitos (Miró *et al.*, 1999). Esta invasión no es homogénea y algunas células presentan un índice elevado de parasitación mientras que otras un índice bajo, aun siendo sometidas a las mismas condiciones (Pérez *et al.*, 1999).

La multiplicación activa provoca la ruptura de la célula hospedadora y necrosis del tejido invadido. La respuesta del organismo se presenta como una infiltración no purulenta aguda, que rodea el área de necrosis; si el proceso perdura en el tiempo, puede haber proliferación de tejido conectivo en la zona, pero en ocasiones la lesión en el tejido nervioso puede verse rodeada de una pared gruesa, sin que exista ningún otro tipo de reacción del hospedero frente a los parásitos (Pérez *et al.*, 1999). Dependiendo del tejido dañado (principalmente nervioso, muscular, del feto o de la placenta) se presentarán los signos clínicos.

La enfermedad neuromuscular observada en cachorros y terneros se debe a las lesiones en el tejido nervioso y muscular. En el SNC, el parásito invade neuronas y astrocitos, además afecta los nervios craneales y espinales provocando trastornos neuromusculares e interrupción de la transmisión del impulso nervioso (Pérez *et al.*, 1999). En perros con signos clínicos, los parásitos están distribuidos en el SNC en su mayoría afectando el cerebro. Específicamente los taquizoítos son muy frecuentes en musculatura estriada esquelética, corazón y esófago, (Barber *et al.*, 1996; Miró *et al.*, 1999). Los focos de necrosis en otros órganos, se deben a la diseminación y multiplicación activa de los taquizoítos en una parasitemia aguda (Barber *et al.*, 1996).

En el aborto bovino, la elevación de anticuerpos contra *Neospora caninum* a los 4-5 meses antes del parto y la inmunosupresión que se produce durante la

gestación sugieren la idea de la infección transplacentaria debido a la reactivación del parásito (Dubey, 2003); pero se conoce poco sobre este mecanismo.

Los quistes pueden aparecer en el feto a los 32 días de la infección de la madre (Pérez *et al.*, 1999). El aborto se puede presentar entre 3-9 meses de gestación y si la muerte del feto se produce antes de esta fecha se puede producir una reabsorción fetal (Pereira-Bueno *et al.*, 1999). En ganado lechero, los brotes de abortos por *N. caninum* pueden ser inducidos por factores que estimulan las infecciones crónicas más que debido a reinfecciones, como son los relacionados con la alimentación pobre, micotoxinas y el estrés (Wouda, 1998).

En perros, el aborto ha ocurrido en forma experimental, pero no ha sido reportado naturalmente (Barr *et al.*, 1997). En esta especie, también se piensa en la reactivación del *N. caninum* por factores inmunosupresores (Dubey y Lappin, 2000). En ese sentido, se sabe que la administración prolongada de corticosteroides en animales infectados con *N. caninum* exacerba la enfermedad (Pérez *et al.*, 1999), en perros esto ha sido más evidente con el tratamientos prolongado con glucocorticoides. Además, la administración de vacunas de virus vivo modificado, enfermedades inmunosupresoras o concomitantes pueden hacer que brote le enfermedad (Dubey y Lappin, 2000; La Perle *et al.*, 2001; Tarantino *et al.*; 2001).

En cuanto a la respuesta del organismo, la infección estimula la respuesta humoral y celular. En el caso de las vacas, estas dos líneas son detectables durante la infección, tanto en hembras preñadas como vacías (Innes *et al.*, 2001). Niveles de anticuerpos elevados al momento del parto o entre el tercero y octavo mes de gestación están asociados con la probabilidad de infección congénita (Schaes *et al.*, 1999). La infección a la mitad de la gestación trae consigo nacimiento de terneros con títulos de anticuerpos altos (Innes *et al.*, 2001). En forma experimental, la infección en vacas aproximadamente 6 semanas antes de la gestación protege al feto contra una posible reinfección en la mitad de la gestación, los terneros nacerán negativos a *N. caninum* tanto serológicamente como antigénicamente (Innes *et al.*, 2001). La respuesta celular comprende células T, que producen citoquinas y junto al gamma interferón han demostrado que inhiben la multiplicación de *N. caninum* en cultivos celulares (Inés *et al.*, 2000).

6. Signos clínicos

6.1. Signos clínicos en los perros

Los perros de cualquier edad pueden ser afectados, se ha reportado neosporosis clínica en perros desde los 2 primeros días de vida (Barber *et al.*, 1996) hasta los 15 años de edad (Dubey *et al.*, 1988). La raza y el sexo no parecen influenciar en la presentación de neosporosis canina, sin embargo se menciona una frecuencia notable de perros de raza pura, en especial pointers alemanes de pelo corto, labradores, boxer, labradores dorados, basset hounds y greyhounds (Dubey y Lappin, 2000).

En estos animales predominan las manifestaciones clínicas de déficit neurológico y las alteraciones musculares. Los signos neurológicos dependen de la parte del sistema nervioso parasitado (Jackson *et al.*, 1995; Baber *et al.*, 1996). Otros signos inespecíficos hacen comprender afección hepática, pulmonar o miocárdica (Baber *et al.*, 1996), sin embargo cualquier tejido puede ser afectado.

Las infecciones más graves se observan frecuentemente en cachorros infectados congénitamente y generalmente son menores de 6 meses. Los miembros pélvicos se afectan con mayor gravedad que los torácicos. Los animales presentan parálisis ascendente de los miembros con atrofia y rigidez muscular gradual, que progresa hasta la contractura rígida de los músculos del miembro afectado e incluso no pueden ser flexionados con los pacientes anestesiados (Barr *et al.*, 1997; Peters *et al.*, 2000; Dubey y Lappin, 2000).

Debido a la formación de cicatrices en los músculos por daño de neurona motora baja y miositis resulta una artrogriposis. En ciertos cachorros puede desarrollarse deformaciones articulares, rodilla curvada, nistagmo, debilidad cervical, disfagia, falla cardíaca y terminar en la muerte (Barber, 1998; Dubey y Lappin, 2000). Los perros no presentan manifestaciones de afección intracraneal y conservan actitud de alerta (Barr *et al.*, 1997; Dubey y Lappin, 2000). Es posible, que la enfermedad en algunos pacientes detenga su evolución y pueden sobrevivir durante meses con alimentación manual y cuidados, pero permanecen paralíticos con las complicaciones concurrentes (Dubey y Lappin, 2000).

Los caninos adultos se afectan con menor frecuencia. Ellos suelen tener signos de afección multifocal del SNC o polimiositis, como tremor de la cabeza,

ataxia de los miembros y depresión; las manifestaciones menos comunes que resultan de la diseminación son: miocarditis, dermatitis piogranulomatosa y neumonía (Dubey y Lappin, 2000; Cantile y Arispici, 2002; Lorenzo *et al.*, 2002). Por otro lado, la dermatitis ha sido reportada asociada a tratamiento prolongado con glucocorticoides (La Perle *et al.*, 2001)

Estudios experimentales sugieren que *N. caninum* puede ocasionar muerte fetal temprana, momificación, resorción y nacimiento de cachorros débiles. La infección fetal puede producirse en cualquier momento de la gestación, pero las consecuencias para el feto son más graves al inicio (Dubey y Lappin, 2000). Aunque una característica principal de la enfermedad en el ganado es el aborto, en perros no hay informaciones de esta manifestación en forma natural. La muerte se puede presentar en perros de cualquier edad.

6.2. Signos clínicos en los bovinos

La enfermedad en los bovinos adultos manifiesta con el aborto o en su defecto con el nacimiento de terneros que padecen de alteraciones neuromusculares. Después de producido el aborto no hay retención de placenta, las vacas entran en celo en forma normal y la fertilidad no se ve afectada (Anderson *et al.*, 1994; Pérez *et al.*, 1999).

Los abortos debido a *N. caninum* pueden producirse en cualquier época del año y presentarse de manera esporádica, endémica o en forma de brotes epidémicos (Pérez *et al.*, 1999), puede afectar tanto a vaquillas como a vacas. Aun se desconoce la relación entre la edad de los animales y la receptividad a la infección, pero se reporta que no existe diferencia entre el número de partos y el riesgo de sufrir abortos (Obendorf *et al.*, 1994).

Generalmente, el aborto se produce entre el 3° y el 9° mes de la gestación, pero es más frecuente entre los 4-6 meses (Lindsay *et al.*, 1996). No se detectan signos clínicos previos al aborto. Los fetos generalmente se presentan autolíticos y en ocasiones con grados variables de momificación (Bidfel *et al.*, 1994). No se presentan lesiones características a simple vista, pero algunas veces se pueden apreciar zonas blanquecinas correspondientes a zonas de necrosis e inflamación; en los fetos autolíticos las lesiones son inaparentes. En la placenta también se pueden apreciar zonas blanquecinas de lesiones. De producirse la momificación

del feto, puede ser abortado o bien retenido hasta el final de la gestación (Pérez *et al.*, 1999). Solo entre el 5-6% de las vacas de un rebaño afectado con abortos debido *N. caninum* probablemente aborte nuevamente (Stenlund *et al.*, 1999), también se reporta que el 43.8% de las vacas que abortaron por primera vez, lo volvieron hacer, pero no se definió si se debió a una reactivación de los quistes o si se debió a una reinfección (Obendorf *et al.*, 1995).

Los terneros que nacen infectados y vivos pueden presentar la enfermedad nerviosa entre los 4-5 días o hasta 2 semanas luego del parto. Estos animales han presentado signos clínicos variables, que van desde incoordinación ligera hasta parálisis completa, debilidad y dificultad para levantarse. Los miembros anteriores y/o posteriores pueden estar flexionados o hiperextendidos. El examen neurológico revela ataxia, disminución del reflejo patelar y pérdida de la coordinación. En ocasiones hay exoftalmia, posición asimétrica de los ojos y otras deformaciones asociadas con la lesión en las células nerviosas embrionarias. La gran variabilidad del cuadro clínico observada en los animales con neosporosis congénita está relacionada probablemente con la edad y el desarrollo del sistema inmune del feto en el momento de la infección y con la distribución de las lesiones en el SNC (Pérez *et al.*, 1999).

La presencia de signos clínicos de la neosporosis bovina, se hace aun más inespecífica debido las distintas resoluciones que puede tener la infección. En casos en que la muerte fetal se produce antes de los 3 meses probablemente se acompañe de reabsorción (Pérez *et al.*, 1999). La infección congénita con la producción de terneros infectados pero clínicamente sanos parece ser bastante frecuente. Estos animales son los encargados de mantener la infección dentro de los rebaños (Anderson *et al.*, 1994; Pérez *et al.*, 1999).

7. Lesiones

7.1. Lesiones de la enfermedad neuromuscular del perro

Las lesiones en un animal se presentan frecuentemente a nivel de tejido muscular estriado y nervioso y en ocasiones en la piel. En tejido muscular, especialmente del diafragma, se aprecian estrías transversales de necrosis, fibrosis y mineralización de músculos. También puede haber hepatomegalia,

neumonía o malacia del tejido cerebral o de la médula espinal (Barber *et al.*, 1996).

Microscópicamente, en el cerebro se aprecia encefalomiелitis no supurativa, poliradiculitis, gangliositis. La encefalomiелitis va acompañada de degeneración axonal y formación de nódulos gliales en el cerebro. En los perros jóvenes es frecuente la radiculoneuritis. El tejido muscular puede presentar necrosis focal con miositis y/o miofibrosis o con inflamación generalizada de todos los músculos esqueléticos, corazón y esófago. En piel se reporta piodermatitis grave. Es común encontrar taquizoítos en tejido pulmonar, hígado, glándulas suprarrenales, tiroides y útero pero sin que tengan importancia clínica. Los quistes se pueden encontrar en tejido nervioso central o periférico mientras que los taquizoítos en todos los órganos (Barber *et al.*, 1996).

La piodermatitis vista en perros adultos se caracteriza por nodulaciones y ulceraciones en la piel de la cara y parte interna de los miembros posteriores. La impronta de estas lesiones evidencia eosinofilia, neutrofilia y es común observar taquizoítos (Barber, 1998; Fritz, 1997).

7.2. Lesiones en los fetos abortados y en terneros infectados

Los fetos abortados aparecen frecuentemente momificados y en ocasiones autolíticos. Macroscópicamente se aprecian lesiones a nivel de los cotiledones de la placenta, que presentan edema y focos blanquecinos correspondientes a zonas de necrosis a veces calcificadas, acompañado microscópicamente de placentitis no supurativa, donde en algunas ocasiones es posible observar taquizoítos dentro de los trofoblastos (Pérez *et al.*, 1999).

Las lesiones macroscópicas en los fetos abortados son raras, pero lo más frecuente es observar áreas blanquecinas en la musculatura estriada, que al corte se profundizan, congestión hepática, corazón aumentado de tamaño y zonas de malacia a nivel del encéfalo (Pérez *et al.*, 1999).

Las alteraciones microscópicas se pueden apreciar en varios tejidos, pero principalmente en SNC, músculo estriado incluyendo el corazón y en el hígado. Otros órganos menos afectados son los riñones, pulmón, páncreas y glándulas adrenales. A nivel del SNC, se aprecia una encefalomiелitis multifocal no supurativa con zonas de malacia, proliferación de microglia y astrositos, a veces

acompañados con hemorragias, mineralización y menos frecuente manguitos perivasculares y focos de meningitis (Schaes *et al.*, 1997; Pérez *et al.*, 1999). En el corazón, se aprecia miocarditis focal o difusa no supurativa, acompañado de fibras musculares degeneradas o con necrosis e incluso calcificación. El músculo estriado se afecta con una polimiositis multifocal no supurativa. En el hígado, puede presentarse una hepatitis no supurativa difusa, a veces con zonas de necrosis focales o difusas, puede existir congestión pasiva crónica, con venas centrolobulillares dilatadas y sinusoides degenerados (Agerholm y Barr, 1994; Anderson *et al.*, 1995). En los nódulos linfáticos es evidente la hiperplasia con folículos linfoides activos. En otros órganos afectados, el cuadro que se aprecia es similar, una inflamación con infiltrado celular que en su mayoría es mononuclear (Pérez *et al.*, 1999).

En ocasiones, puede observarse reacciones inflamatorias de tipo granulomatoso alrededor de algunos quistes degenerados y bradizoítos, lo que sugiere que se produjo la rotura de dichos quistes que inducen este tipo reacción inflamatoria. La observación de los parásitos en los fetos abortados es difícil, por diversos factores, y solo es posible con técnicas de inmunohistoquímica (Dubey, 2003)

Los terneros infectados que logran nacer, presentan focos de malacia en SNC que pueden ser observados macroscópicamente. Las lesiones en tejido nervioso son similares a las observadas en los fetos abortados, con la excepción de que son más frecuentes en la médula espinal. También es apreciable la encefalomiелitis no purulenta, acompañada de zonas de necrosis, manguitos perivasculares, vacuolización de las neuronas, degeneración de los axones neuronales y focos de gliosis, estas lesiones son también vistas en nervios espinales. La observación de taquizoítos y quistes en las lesiones de estos animales es más frecuente (Pérez *et al.*, 1999).

8. Impacto económico de la enfermedad

Las consecuencias económicas debido a la neosporosis se han calculado en el ganado bovino. En California, se considera que el 43% de los casos de aborto son causados por *N. caninum* (Pereira *et al.*, 1999) y el costo generado se estima en 35 millones de dólares anuales (Barr *et al.*, 1997). En Australia se

calcula una pérdida entre 25–85 millones de dólares australianos por año debido a la neosporosis (Ortega *et al.*, 2001). Si bien es cierto el aborto es la consecuencia más dramática en el caso de la neosporosis bovina, se debe considerar otras secuelas como eliminación de animales del hato (Thurmond y Hietala, 1996), menor producción lechera y por consecuencia menor vida productiva (Thurmond y Hietala, 1997), menor valor en la venta de ganado (Tres *et al.*, 1999) y pérdida de terneras. En el Perú, *N. caninum* es considerado un agente importante causante de aborto bovino (Rivera *et al.*, 2000), la infección ha sido reportada en vacas de las principales cuencas lecheras del país, como en Arequipa, Cajamarca, Lima y Huancayo. Además también se ha demostrado infección en camélidos sudamericanos y perros.

9. Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de la neosporosis canina y bovina requiere de un procedimiento de recolección de información, que empieza con los datos de la anamnesis, epidemiología y la observación de signos clínicos y lesiones, los cuales sugieren un diagnóstico presuntivo, que debe ser confirmado por exámenes especializados. Los procedimientos rutinarios de laboratorio generalmente sólo demuestran anticuerpos séricos a *N. caninum*, este resultado confirma de infección y se hace necesario para el diagnóstico definitivo demostrar la presencia del parásito en las lesiones (Dubey, 2003).

9.1. Diagnóstico de la neosporosis canina

En los caninos, el diagnóstico de la enfermedad requiere la observación de signos clínicos característicos, descarte serológico y determinación del parásito en las lesiones. A pesar de demostrar que el perro es capaz de eliminar ooquistes de *N. caninum* en las heces, el análisis coprológico no se utiliza como diagnóstico, por que los ooquistes son indistinguibles por microscopia óptica con los de *T. gondii* y *Haemonidia* (Dubey, 1999).

Las pruebas serológicas utilizadas para el diagnóstico en perros son la prueba de aglutinación de anticuerpos para *N. caninum*, inmunofluorescencia

indirecta (IFI) y ELISA. Los protocolos de las pruebas serológicas propuestos por diferentes laboratorios, consideran positivas las muestras de suero con valores de dilución de 1:200 a mayores y de 1:50 a más para muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR). Los perros con infección subclínica también pueden presentar estos valores, pero en el caso de caninos con enfermedad los valores serán más altos (Dubey *et al.*, 2000). La prueba de ELISA genera valores similares a la prueba de IFI, pero el ELISA es más sensible. Los anticuerpos contra *T. gondii* no reaccionan en forma cruzada con *N. caninum* en diluciones de 1:50 o menores, de tal modo que los perros positivos a *N. caninum* los anticuerpos séricos o de LCR son negativos a *T. gondii* (Dubey, 2003).

La detección de microorganismos en los tejidos afectados es el diagnóstico definitivo. Se pueden hallar en LCR o en aspirados de tejidos, en algunos casos, pero los taquizoítos de *N. caninum* resultan similares en microscopía de luz con los de *T. gondii*, en cambio los quistes tisulares de *N. caninum* tienen paredes más gruesas (Dubey y Lappin, 2000), sin embargo se requiere de la microscopía electrónica que puede hallar diferencias estructurales que puedan diferenciar estas especies. También es posible utilizar PCR.

9.2. Diagnóstico del aborto bovino

Los datos epidemiológicos indican que la neosporosis bovina puede presentarse como brotes de abortos en forma esporádica, endémica o epidémica, comprometiendo a novillas o vacas y presentarse en cualquier época del año (Pereira-Bueno *et al.*, 1999).

Las pruebas de laboratorio proporcionan el diagnóstico definitivo en los casos de aborto por neosporosis. Aun así, por la diversidad de agentes que inducen al aborto, se calcula que no más del 50% de los casos son diagnosticados. Por eso es importante tener en cuenta los datos de anamnesis, epidemiológicos y de signos clínicos que acompañen a las pruebas de laboratorio.

Es importante enviar el feto completo y el suero de la madre para el diagnóstico. La detección de la infección en la vaca abortada no confirma que el aborto haya sido causado por *N. caninum*, sin embargo este resultado sugiere bastante el diagnóstico (Dubey, 2003). Las pruebas de mayor valor confirmativo para el diagnóstico de neosporosis fetal son los exámenes de histopatología,

inmunohistoquímica y detección de ácidos nucleico por PCR; pero también se pueden realizar pruebas serológicas de los fluidos fetales.

El diagnóstico histopatológico convencional es difícil por la similitud del *N. caninum* con el *T. gondii* y el *Sarcocystis sp*, la reducida cantidad de parásitos (taquizoítos o quistes) que pueden encontrarse en los fetos abortados y gran dificultad de poder observarlos en un corte histológico teñido con hematoxilina y eosina (Pereira-Bueno *et al*, 1999). Además, las lesiones vistas en los casos de neosporosis son similares a la infección por otros parásitos protozoarios.

La demostración de *N. caninum* en los tejidos fetales lesionados con pruebas de inmunohistoquímica es la mejor evidencia de la etiología de aborto en la actualidad, sin embargo esta prueba no es muy sensible (Dubey, 2003). La inmunohistoquímica permite localizar e identificar al parásito en los cortes de tejidos usando suero policlonal o anticuerpo monoclonal anti-neospora. Los resultados variables, se deben a la fuente del antisuero y el estado de las muestras que obligan a realizar la prueba más de una vez, incluso en una misma muestra (Pereira-Bueno *et al*, 1999).

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es de alta sensibilidad y especificidad. Es de gran ayuda para el diagnóstico de fetos autolizados y muestras con fijación química (como muestras formolizadas y/o fijados en parafina) (Dubey, 2003). Las zonas más destacadas para ser amplificadas son la región ITS1 del ADN ribosomal, Nc5 del ADN genómico y el gen 14-3-3 del parásito (Pereira-Bueno *et al*, 1999). La eficacia del diagnóstico por PCR es dependiente de la fase del autólisis del feto, del laboratorio que la realiza la prueba y los procedimientos que tomen (Dubey, 2003).

Las pruebas serológicas también son útiles para el diagnóstico del aborto debido a *N. caninum*, incluso si se encuentran autolizados. Se puede realizar pruebas de IFI y ELISA. Se puede usar el suero de sangre o cualquier fluido del cuerpo del feto, pero es el más indicado para el diagnóstico serológico es el fluido peritoneal (Dubey, 2003). La presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en el feto va depender de la edad del feto en el momento de la infección, el nivel de parasitemia y el periodo que transcurre desde la infección hasta la muerte fetal. Los resultados positivos establecen la infección con *N. caninum* y los resultados negativos no la descartan (Pereira-Bueno *et al*, 1999; Dubey, 2003). La

inmunoglobulina detectada es la IgM específica y en ese sentido la prueba de IFI no ha presentado reacción cruzada con otros protozoos (Pereira-Bueno *et al.*, 1999). Incluso títulos por debajo de 1:25 en la prueba de IFI, deben considerarse específicos para el *N. caninum* sobre todo en los fetos (Dubey, 2003).

En los terneros con o sin signos clínicos se recoge el suero con la finalidad de realizar el diagnóstico con pruebas serológicas y tal muestra debe ser tomada antes de que se ingiera el calostro (Dubey, 2003).

9.3. Diagnóstico en bovinos adultos

La infección en un bovino adulto no genera signos clínicos hasta el momento en que la vaca aborta. La comprobación de la presencia del parásito en vacas que abortaron es muy difícil, y sólo se ha podido realizar una vez (Sawada *et al.*, 2000). Por este motivo, las pruebas serológicas son la mejor herramienta para el diagnóstico en bovinos adultos, estas incluyen la prueba de aglutinación de anticuerpos, la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), el ELISA indirecto y la prueba de Immunoblots que es útil para detectar anticuerpos específicos a *N. caninum* (Dubey, 2003).

La recolección del suero inmediatamente producido el aborto es importante, por que los títulos disminuyen después de 2 meses, incluso hasta valores considerados negativos (Pereira-Bueno *et al.*, 1999).

Los niveles de anticuerpos deben ser considerados para emitir el diagnóstico definitivo. Para las pruebas de IFI y ELISA se considera positivos títulos superiores o iguales a 1/512 o 1/1024 respectivamente (Pereira-Bueno *et al.*, 1999). La prueba de IFI tiene una sensibilidad de 98% y una especificidad de 99 % (Packham, *et al.*, 1998). Se ha diseñado una prueba de ELISA recientemente para distinguir las infecciones crónicas en el ganado y que podría ser usada para distinguir el aborto endémico y epidémico (Dubey, 2003).

Aunque *N. caninum* está estrechamente relacionado al *T. gondii*, a las especies de Sarcocystis y otros protozoos del phylum aplicomplexa, la reacción cruzada en la serología no es un problema (Dubey, 2003).

10. Tratamiento

Han sido probados *in vitro* fármacos contra taquizoítos en cultivo celular, donde se demuestra actividad de los inhibidores de la reductasa de dihidrofolato y las sulfonamidas, por separado o combinadas (Lindsay, *et al.*, 1996), además también tienen actividad los antibióticos ionóforos, tetraciclinas, macrólidos y las lincomicinas (Lindsay, *et al.*, 1994).

La experiencia en el tratamiento de perros con signos nerviosos por neosporosis muestra resultados variables. El uso de trimetopin y sulfadiazina combinados con pirimetamina no ha tenido buenos resultados (Hay *et al.*, 1990) o sólo se presentó una recuperación temporal (McGlennon *et al.*, 1990). Sin embargo, estos fármacos utilizados en forma temprana en cachorros infectados con *N. caninum* sin signos clínicos, posiblemente evita la presentación neosporosis clínica (Mayhew *et al.*, 1991).

11. Control

Aunque el ciclo biológico y la transmisión del *Neospora caninum* está completamente conocido, las medidas preventivas y de control están orientadas reducir la exposición de los hospederos naturales (bovinos y perros) y son semejantes las que se toman para la toxoplasmosis, sin embargo deben estar adecuadas a las características de cada explotación. Por lo tanto lo más recomendable sería, evitar el contacto de los perros con el ganado sobre todo en época de parición.

11.1. Control de la transmisión vertical

La transmisión congénita es la forma más común de infección de *N. caninum* en los bovinos (Dubey, 2003), sin embargo no es la única ruta vertical, se ha demostrado experimentalmente que es posible la infección vía calostrual (Davison *et al.*, 2001) pero aun no se ha determinado su importancia en la transmisión. El nacimiento de terneros clínicamente sanos, pero infectados transplacentariamente es otro problema en el control de la enfermedad, por que estos animales pueden ser utilizados para la reposición de animales y de esta manera la parasitosis permanece en el rebaño. Por lo tanto la primera medida de prevención y control es el monitoreo serológico de todos los animales del hato,

con la intención de reducir los animales seropositivos dentro del hato. Álvarez y col (1999) mencionan las siguientes medidas para este fin:

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

En los perros la transmisión transplacentaria también ocurre en forma natural (Dubey *et al.*, 1990, Trees *et al.*, 1998), es por eso que se debe considerar el descarte de la neosporosis en las madres antes del apareamiento. Además se debe tratar a toda la camada una vez presentada la enfermedad, así sólo se afecte un cachorro. Los estudios experimentales no han demostrado infección vía calostrual (Dijkstra *et al.*, 2001), sin embargo no se debe menospreciar su intervención y al igual que los vacunos se debe evitar alimentar los cachorros con calostro de madres seropositivas. También se ha comprobado que la técnica de transplante de embriones en vacunos previene la transmisión vertical de *N. caninum* (Landmann *et al.*, 2002).

11.2. Control de la transmisión horizontal

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

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

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

11.3. Vacunación

Los estudios experimentales han comprobado la prevención de la transmisión transplacentaria con la vacunación antes de la gestación en ratones (Innes *et al.*, 2002) y en ganado bovino (Innes *et al.*, 2001). Se ha demostrado seroconversión en vacas vacunadas con cepas inactivadas, y la elevación de anticuerpos puede ser mantenida durante meses con la utilización de dosis booster (Choromanski y Block, 2000). Estas vacunas en ganado vacuno de carne no afecta los índices de peso vivo y tampoco el porcentaje de carcasa (Barling *et al.*, 2003.), en ganado lechero aun no existe información sobre los efectos colaterales de la vacunación, pero en pequeños grupos las reacciones adversas se reducen a hinchazón en el sitio de aplicación y se presentan en pocos animales desapareciendo al cabo de dos semanas (Choromanski y Block, 2000). Aun no existen experiencias con respecto a la vacunación en perros.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar del estudio

El presente estudio se realizó en la cuenca izquierda del Valle del Mantaro, en las provincias de Jauja, Concepción y Huancayo del departamento de Junín, durante los meses de agosto, setiembre y octubre del 2002.

El Valle del Mantaro se encuentra en una altitud de 3 150 a 3 500 msnm, tiene una longitud de 70 km y un ancho de 2-8 km, (Senamhi y Corde, 1989). Posee un clima templado que es afectado por la altura y que varía durante el año. La temperatura máxima es de 19.9°C, la mínima de -0.18°C y la precipitación anual es de 750 mm. En el mes de agosto termina el invierno y asimismo comienza el verano (setiembre a diciembre), en esta época se presentan las mayores temperaturas y que varían entre 4.9 °C como mínimo y 20.4 °C como máximo; además la precipitación aumenta y se reporta un promedio de 90 a 124 mm/mes de agosto a diciembre (Senamhi y Corde, 1989).

La explotación lechera del valle es mayoritariamente de tipo extensivo, el ganado bovino en su mayoría Holstein y Brown swiss, la alimentación es al pastoreo y las instalaciones son abiertas.

2. Animales

Se tomaron muestras de sangre entera de perros, a través de la punción de la vena cefálica, colectándolas en tubos de ensayo. Para obtener suero, se centrifugó la sangre a 3 000 rpm por 5 minutos.

Se tomaron referencias individuales a todos los animales muestreados, que comprendía información de la ubicación geográfica (provincia en donde se encontraban), así como edad, género y procedencia. Este último término se refería a que si los perros vivían dentro del establo o si lo hacían en las casas ubicadas alrededor de los establos.

3. Materiales

Los materiales utilizados para la detección de anticuerpos contra *Neospora caninum* fueron:

- Tubos al vacío de 10 ml
- Agujas de doble salida Nº 21G x 1½
- Viales de 3 ml
- Pipetas de transferencia descartables de 2ml
- Micropipetas de 1-10 µL
- Puntas descartables
- Centrífuga de 5 000 rpm
- Agitador
- Estufa de 37°C
- Microscopio de fluorescencia
- Solución salina tamponada
- Fluido de montaje (glicerina tamponada)

Reactivos:

- Antígeno de *Neospora caninum* (taquizoíto fijado)
- Anti-Ig G1 canino marcado con isotiocianato de fluoresceína (conjugado)
- Suero canino hiperinmune anti-*Neospora caninum* (control positivo)
- Suero canino negativo a anticuerpos contra *Neospora caninum* (control negativo)

4. Diseño estadístico

4.1 Tamaño muestral

Se calculó usando la fórmula para estimar tamaño muestral de una proporción (Daniel,1996):

$$n = Z^2 \frac{(pq)}{E^2}$$

Donde:

p = Prevalencia referencial

q = 1-p

Z = Nivel de confianza

n = Tamaño muestral

Se utilizó como referencia la prevalencia de 28.87 % de anticuerpos contra *N. caninum* en perros del distrito de Chachapoyas (Horna, 2003), con un nivel de confianza de 90% y un error máximo admisible de 0.07 %. El tamaño muestral resultante (n= 109) representa el número mínimo de animales a muestrearse.

5. Determinación de anticuerpos

Los anticuerpos contra *Neospora caninum* fueron determinados mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), siguiendo el protocolo siguiente:

- Dilución del suero problema en 1:50 con buffer dilutor.
- Adición de 10 µL de dilución en cada pocillo de la lámina de inmunofluorescencia que portan los taquizoítos de *N. caninum* fijados.
- En los dos primeros pocillos de cada lámina, se colocan los sueros control positivo y negativo anti-*Neospora caninum*.
- Incubación en la estufa a 37°C por 30 minutos y en cámara húmeda.
- Lavado de la lámina en solución salina tamponada, con agitación leve, dos veces y 10 minutos cada una. Secado de la lámina.
- Adición de 10 µL de conjugado anti-Ig G1 canino en cada pozo y protegiéndolo de la luz.
- Incubación en la estufa a 37°C por 30 minutos y en cámara húmeda.

- Lavado de la lámina en solución salina tamponada, con agitación leve, dos veces y 10 minutos cada una. Secado de la lámina.
- Adición de fluido de montaje (glicerina tamponada) en cada pozo y cubriéndola luego con una laminilla cubreobjetos.
- Lectura con microscopio de inmunofluorescencia.

Las muestras serán positivas si se observa la fluorescencia en todo el contorno del taquizoíto y serán negativas si no hay fluorescencia o esta es parcial.

6. Análisis de los datos

6.1 Prevalencia

La prevalencia (p) de *N. caninum* en perros del Valle del Mantaro se estimó mediante la fórmula (Daniel,1996):

$$p = \frac{\text{n}^\circ \text{ de muestras positivas}}{\text{n}^\circ \text{ total de muestras}} \times 100$$

Los resultados son expresados en porcentaje, con sus respectivos intervalos de confianza.

6.2 Intervalo de confianza

Se estimó mediante la siguiente fórmula (Daniel,1996):

$$IC = P \pm Z \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}}$$

Donde:

p = Prevalencia

q = $1-p$

Z = Nivel de confianza (95%)

n = Tamaño muestral

6.3 Análisis de variables

Se evaluó la asociación de las variables provincia, edad, género y procedencia con la tasa de infección mediante prueba de chi-cuadrado, según la fórmula (González y Falcón, 1999):

$$\chi^2_c = \sum_{i=1}^K \left[\frac{(O_i - E_i)^2}{E_i} \right]$$

Grados de libertad: $gl = (F-1)(C-1)$

Decisión:

Si: $\chi^2_c > \chi^2_t$, entonces existe asociación estadística significativa.

$\chi^2_c > \chi^2_t$, entonces existe asociación estadística significativa.

IV. RESULTADOS

La prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en 124 muestras de sueros de caninos provenientes de 24 establos lecheros del Valle del Mantaro fue de 19.35 ± 6.953 %. El 62.5 % (15/24) de los establos tenían por lo menos un animal infectado. La provincia de Concepción mostró una prevalencia relativa de 30.0 ± 16.39 % mayor que la encontrada en las provincias de Jauja y Huancayo con 14.63 ± 10.82 % y 16.98 ± 10.11 % respectivamente (Cuadro 1). Con respecto a la edad, los animales menores de un año presentaron la prevalencia más baja (5.88 ± 23.40 %); pero conforme se incrementaba la edad de los animales, la prevalencia fue mayor, hasta llegar a los animales con siete años o más, que presentaron la prevalencia más alta (37.5 ± 33.55 %) (Cuadro 2). El cuadro 3 muestra que los perros machos presentaron una tasa de infección de 25.71 ± 10.24 %, mayor a la encontrada en las hembras con 11.11 ± 8.38 %. Así mismo según la procedencia, los animales que pertenecían a los establos presentaron una tasa de infección de 21.4 ± 8.77 %, que es ligeramente más alta si se compara con el 15.0 ± 11.07 % encontrada en los perros de los alrededores (Cuadro 4). El análisis de variables mostró que la ubicación geográfica (provincia), edad, género y procedencia de los animales no presentaban asociación con la tasa de infección (Cuadro 5).

Cuadro 1. Seroprevalencia de *N. caninum* en caninos de 3 provincias del departamento de Junín, 2002

Provincias	N° de establos	N° animales muestreados	Positivos	% ± IC
Huancayo	10	53	9	16.98 ± 10.11
Jauja	9	41	6	14.63 ± 10.82
Concepción	5	30	9	30.00 ± 16.39
TOTAL	24	124	24	19.35 ± 6.953

Cuadro 2. Seroprevalencia de *N. caninum* en caninos del departamento de Junín según grupo etáreo, 2002

Grupo etáreo	N° de animales muestreados	N° de animales positivos	% ± IC
< 1 año	17	1	5.88 ± 23.40
1 - 2 años	61	11	18.03 ± 9.65
3 - 4 años	26	6	23.08 ± 16.19
5 - 6 años	12	3	25.00 ± 24.5
7 años a más	8	3	37.5 ± 33.55

Cuadro 3. Seroprevalencia de *N. caninum* en caninos del departamento de Junín según género, 2002

Género	N° de animales muestreados	N° de animales positivos	% ± IC
Macho	70	18	25.71 ± 10.24
Hembra	54	6	11.11 ± 8.38

Cuadro 4. Seroprevalencia de *N. caninum* en caninos del departamento de Junín según procedencia, 2002

Procedencia	N° de animales muestreados	N° de animales positivos	% ± IC
Dentro del establo	84	18	21.4 ± 8.77
De alrededor	40	6	15.0 ± 11.07

Cuadro 5. Análisis de asociación de la tasa de infección con las variables provincia, edad, género y procedencia de los caninos, 2002

Variables	χ^2_c	χ^2_t	Significancia
Provincia	0.319	5.99	0.8530
Grupo etéreo	2.851	7.81	0.0523
Género	2.869	3.84	0.0900
Procedencia	0.4945	3.84	0.4820

V. DISCUSIÓN

Neospora caninum es un protozoo parásito cuya infección ha sido reportada en varios países del mundo y demostrada en diferentes especies domésticas y silvestres (Dubey, 2003). La especie más afectada son los bovinos, el aborto y la permanencia del parásito dentro de los rebaños una vez introducida la infección, son los principales problemas que produce en estos animales. Sin embargo, el descubrimiento que el perro, es el hospedero definitivo del *N. caninum* (McAllister *et al.*, 1998) y más recientemente, su reconocida capacidad como agente etiológico primario de problemas neuromusculares en perros jóvenes (Dubey y Lappin, 2000), estos aspectos han incentivado los estudios de este parásito en los caninos, y además la relación que existe entre los perros y los animales de rebaño, especialmente los bovinos lecheros, fueron las razones para la realización del presente estudio en una de las principales zonas ganaderas de nuestro país.

Se analizaron 124 sueros de perros de los establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro que comprende las provincias de Huancayo, Jauja y Concepción. La prevalencia de anticuerpos contra *N. caninum* fue de 19.35 ± 6.953 % (24/124). El porcentaje de establos que poseían al menos un perro infectado fue del 62.5 % (15/24), lo que demuestra que la infección se encuentra en la mayoría de establos y extendida a lo largo de todo el valle (Apéndice 1).

Estudios similares realizados en perros de otras zonas ganaderas del Perú, así en el Valle de Lima y en dos distritos de la provincia de Chachapoyas

encontraron una seroprevalencia del 32.7 % y 28.87 % respectivamente (Del Campo, 2003; Horna, 2003), ambos resultados fueron superiores al hallado en el Valle del Mantaro.

Aparentemente parece existir una correlación entre la seroprevalencia de la infección con *N. caninum* en los bovinos de una cuenca lechera con la seroprevalencia encontrada en los caninos que pertenecen a dicha cuenca. Así lo reflejan, los resultados encontrados en bovinos de la cuenca de Lima (29.61 %) (Silva, 2002), así como en dos distritos de Chachapoyas (40.38 %) (Quevedo, 2003) que muestran una seroprevalencia moderadamente alta, que coincide con las seroprevalencias presentadas en los caninos de 32.7 % (Del Campo, 2003) y de 28.87 % (Horna, 2003) para el valle de Lima y Chachapoyas respectivamente.

Los resultados encontrados en este estudio muestran una seroprevalencia moderada (19.35 %) cuyo valor es similar con la seroprevalencia hallada en vacunos de la cuenca del Valle del Mantaro (18.23 %) (Casas, comunicación personal). Estos resultados demuestran que existe facilidad para la transmisión horizontal entre bovinos y caninos en el Valle del Mantaro, que se deberían principalmente a las características de la explotación lechera de la zona, donde las instalaciones son de tipo extensivas y la alimentación es el pastoreo en campos de fácil acceso para los perros.

En otros países, la prevalencia obtenida en este estudio, es similar al 20 % encontrado en perros de centros ganaderos de Uruguay (Barber *et al.*, 1997) y es inferior al 31.3 %, 35.57 % y 73.3 % hallado en perros de establos lecheros de Japón (Sawada *et al.*, 1998), Brasil (Belo *et al.*, 1999) y Argentina (Basso *et al.*, 1999) respectivamente. Sin embargo en estos estudios no se observa que correlacionen sus resultados con los obtenidos en sus bovinos, por lo que las prevalencias variadas, se deberían principalmente a las características de la zona donde proceden las muestras analizadas. Se sabe que los perros que proceden de explotaciones de ganado vacuno, principalmente establos lecheros, muestran tasas de infección superiores (Del Campo, 2003; Basso *et al.*, 1999), al ser comparadas con tasas encontradas en estudios que abarcaron además perros que viven en los alrededores de dichos establos o perros de zonas urbanas, además la tasa de infección también aumenta si dichos perros provienen de

establos con problemas reproductivos o antecedentes de abortos (Sawada *et al.*, 1998; Basso *et al.*, 1999).

Con relación a la ubicación geográfica, la provincia de Concepción presentó una mayor tasa de infección (30.00 ± 16.39 %) que las provincias de Jauja (14.63 ± 10.82 %) y Huancayo (16.98 ± 10.11 %) (Cuadro 1) y el análisis de asociación demostró que no existe asociación estadística significativa entre la ubicación geográfica (provincias) y la tasa de infección en los perros (Cuadro 5). Sin embargo, Cheadle y col. (1999) y Wouda y col. (1999) si hallaron diferencias significativas en la tasa de infección en diferentes zonas geográficas y concluyeron que era determinado por la variación de la temperatura en dichas zonas; lo que no ocurre en el Valle del Mantaro, puesto que las provincias no presentan diferencias mayores en la temperatura, lo que hace pensar que la causa de la diferencia se deba al azar.

La prevalencia según grupo etéreo reflejó incremento conforme aumenta la edad (Cuadro 2), de esta manera los perros menores de 1 año presentaron una prevalencia más baja (5.88 ± 23.40 %), mientras los animales con 7 años o más la prevalencia más alta (37.5 ± 33.55 %). Estas divergencias se deberían sólo a la mayor posibilidad que los perros de más edad se infecten al estar mayor tiempo con los vacunos y sugieren una exposición post-parto, sin embargo al analizar esta variable no se halló asociación estadística significativa entre los grupos etéreos con la tasa de infección (Cuadro 5). La literatura confirma que no hay diferencia entre la edad y la infección por *N. caninum* (Pereira-Bueno, *et al.*, 1999; Del campo, 2003; Horna, 2003).

Los machos presentaron una prevalencia (25.71 ± 10.24 %) mayor que las hembras (11.11 ± 8.38 %) (Cuadro 3), sin embargo no se halló asociación de esta variable con la infección (Cuadro, 5). Estudios anteriores muestran similares resultados y señalan que el sexo no es un factor de riesgo para la infección (Del Campo, 2003; Horna, 2003).

Los perros que vivían dentro los establos presentaron una mayor seroprevalencia (21.4 %) que los perros que vivían en los alrededores (15%) (Cuadro 4). De igual manera, Sawada y col. (1998) mostraron en Japón que los perros de establos con problemas de aborto tenían una prevalencia de 31.3 %, superior al 7.1 % encontrada en perros de zonas urbanas, en Chile se encontró

esta misma situación en la infección en perros de zonas rurales (26 %), comparada con perros de áreas urbanas (12,5 %) (Patitucci *et al.*, 2001). En el Perú, Horna (2003) de forma similar halló una mayor prevalencia en perros de los hatos con 32 % comparado con el 25.4 % encontrado en perros de los caseríos. Debido posiblemente a que los perros de los establos están en contacto permanente con el ganado, tienen una mayor posibilidad de infección que los perros de los alrededores. Dichos perros son utilizados como pastores y para el cuidado del ganado por las noches, por lo tanto están estrechamente relacionados con los bovinos. Abarcar en el muestreo perros de los alrededores podría ser una de las causas de la prevalencia moderada encontrada en el Valle del Mantaro. Sin embargo, no se demostró asociación entre estas características y el porcentaje de infección (Cuadro 5) y las diferencias se deberían solo a la mayor posibilidad de los perros a infectarse con *N. caninum* al estar más cerca de los vacunos.

Ningún animal muestreado presentó signos clínicos de neosporosis o de alguna otra enfermedad. La determinación de anticuerpos contra *N. caninum* en el suero es de ayuda en el diagnóstico, a pesar de que la dilución de corte no ha sido establecida aún en el caso de caninos. La presencia de anticuerpos demuestra infección y no así enfermedad (Dubey, 2003). Así, los estudios de seroprevalencia en perros han determinado que existe una mayor cantidad de animales con infección subclínica que animales con enfermedad (Dubey y Lappin, 2000), a pesar de esto la neosporosis debe ser considerada como diagnóstico diferencial en perros con sintomatología nerviosa.

La forma de infección en los perros aun no está clara. De manera eficaz, se ha reproducido la infección experimentalmente con tejidos de ratones y de terneros; pero el rango de hospederos intermediarios puede ser muy amplio (Ortega-Mora, 2001) y en la mayoría de estos animales se desconoce el rol en la transmisión.

En general, los perros del Valle de Mantaro, tanto de los establos como de los alrededores tienen acceso libre a los potreros y corrales de los bovinos, de esta manera las posibilidades de transmisión horizontal del perro al ganado o viceversa alta. Aunque se calcula que la infección post-natal en los bovinos está dentro del rango de 2 – 5 % (Ortega y Mora, 2001) y que además algunos autores

sugieren que el riesgo de infección no aumenta con la presencia de perros (Rodríguez *et al.*, 2002), sin embargo, debido a que la infección en los vacunos lecheros es muy difícil de erradicar luego de que ingresa en los hatos, se deberían tomar medidas de control adecuadas que eviten su incremento y difusión.

Una de las principales sería realizar pruebas serológicas de todo bovino que ingrese al fundo, para de esta manera eliminar la posibilidad de futuras infecciones por este parásito, además de aislar a las vacas durante el parto para evitar que los perros se alimenten de la placenta y loquios y disminuir al mínimo las posibilidades de infección horizontal controlando el acceso de perros en las instalaciones de los bovinos, constituirían también medidas importantes y fáciles de aplicar para controlar la neosporosis.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. La seroprevalencia de anticuerpos en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro fue moderada ($19.35 \pm 6.953\%$).
2. No se encontró asociación de la tasa de infección con las variables provincia, edad, género y procedencia.
3. Se recomienda, realizar estudios sobre los factores de riesgo para la infección de *N. caninum* en el ganado bovino y los perros de la zona.
4. Impedir el consumo de las secreciones, placenta o fetos abortados de bovinos por los perros y además de evitar alimentarlos con carne cruda.
5. Impedir el ingreso de los perros a las fuentes de alimento de los bovinos para evitar la transmisión horizontal, así como de otros animales hospederos potenciales del *N. caninum*.

VIII. LITERATURA CITADA

- Agerholm, J.; B. Barr. 1994.** Bovine abortions associated with neospora in Denmark Acta Vet. Scand. 35: 461-464.
- Alméira, S.; D. Ferrer; M. Pabon; J. Castell; S. Maas. 2002.** Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. Vet. Parasitol. 107: 287-294.
- Álvarez G.; E. Collantes y M. Gómez-Bautista. 1999.** Control. En: Patología de la reproducción de etiología parasitaria (II) Neosporosis. Tratado de práctica veterinaria: Bovis. España. Jun (8): 69-72.
- Anderson, M.; C. Palmer; M. Thurmond; J. Picanso; P. Blanchard; R. Breitmeyer; A. Layton; N. Mcalliters; B. Daft; H. Kinde; D. Read; J. Dubey; P. Conrad; B. Barr. 1995.** Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. J. A. Vet. Med. Assoc. 207: 1206-1210.
- Andresen, H. 1999.** Neosporosis en el Perú y el Mundo. Rev. Cien. Vet. Perú. 15 (4):11-14; 30-31.
- Barber J.; C. Payne-Johnson; A. Trees. 1996.** Distribution of *Neospora caninum* within the central nervous system and other tissues of six dogs with clinical neosporosis. J. Small. Anim. Pract. 37(12): 568-574.
- Barber S.; L. van Ham; I. Polis; J. Trees. 1997.** Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Belgian dogs. J. Small. Anim. Pract. 38 (1): 15-16.
- Barber S.; B. Gasser; J. Ellis; P. Reichel; D. McMillan; J. Trees. 1997.** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. J. Parasitol. 83 (6): 1056-1058.
- Barber, J. 1998.** Canine neosporosis. Waltham Focus. 8:(1): 25-29.
- Barling K.; D. Lunt; S. Graham; L. Choromanski. 2003.** Evaluation of an inactivated *Neospora caninum* vaccine in beef feedlot steers. J. Am. Vet. Med. Assoc. 222(5): 624-627.
- Barr, B.; M. Anderson; J. Dubey; P. Conrad. 1991.** Neospora-like protozoal infections associated whit bovine abortions. Vet .Pathol. 28: 110-116.

- Barr, B.; I. Bjerkäs; D. Buxton; P. Conrad; J. Dubey; J. Ellis; S. Johnston; D. Lindsay; A. Trees; W. Wouda. 1997.** Neosporosis. Report of the international Neospora Workshop. The compendium. 19(4): 120-127.
- Basso, W.; L. Venturi, M. Rambeaud; J. Uazaga; D. Bacigalupe. 1999.** Prevalencia de infección por *Neospora caninum* en perros de ciudad y del tambo. XIV Congreso Latinoamericano de Parasitología. Acapulco – México. 90 p.
- Basso, W.; L. Venturini; C. Venturini; E. Hill; C. Kwok; K. Shen; J. Dubey. 2001.** First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. J. Parasitol. 7(3): 612-618.
- Belo, M.; P. Rezende; K. Castagnolli; K. Bresciani; A. Costa. 1999.** Pesquisa de anticorpos ant-*Neospora caninum* em cães criados sob diferentes condições sanitárias. XI Seminario Brasileiro de Parasitología Veterinária. 228 p.
- Bergeron, N.; G. Fecteau; J. Paré; R. Martineau; A. Villeneuve. 2000.** Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Quebec. Can Vet. J. 41 (6): 464-467
- Bergeron, N.; C. Girard; J. Pare; G. Fecteau; J. Robinson; P. Baillargeon. 2001.** Rare detection of *Neospora caninum* in placentas from seropositive dams giving birth to full-term calves. Vet. Diagn. Invest. 13(2): 173-175.
- Bergeron N.; G. Fecteau; A. Villeneuve; C. Girard; J. Pare. 2001.** Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *Neospora caninum*. Vet. Parasitol. 97(2): 145-152.
- Bildfell, B.; J. Davidson; J. Dubey. 1994.** Neospora induced protozoal bovine abortion in Prince Edward Island. Can Vet. 35 : 122-123.
- Bjerkas I.; S. Mohn; J. Prestus. 1984.** Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Z. Parasitenkd. 70: 271-274.
- Cabrera, M.; P. Ortiz; J. Claxton; D. Williams; A. Trees. 2000.** Evidencia serológica de infección por *Neospora caninum* en ganada vacuno en Perú. IV Congreso Peruano de Parasitología. 212 p.
- Canon-Franco A.; P. Bergamaschi; B. Labruna; M. Camargo; L. Souza; C. Silva; A. Pinter; J. Dubey. 2003.** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. Vet. Parasitol. 115 (1): 71-74
- Cantile C.; M. Arispici. 2002.** Necrotizing cerebellitis due to *Neospora caninum* in an old. J. Vet. Med. a Physiol. Clin. Med. 49(1):47-50.

- Choromanski L.; W. Block. 2000.** Humoral immune responses and safety of experimental formulations of inactivated *Neospora* vaccines. Parasitol. Res. 86(10):851-853.
- Cheadle, M.; J. Spencer; B. Blackburn. 1999.** Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in nondomestic felids from southern Africa. J. Zoo. Wildlife Med. 30:248-251.
- Cole, R.; D. Lindsay; B. Blaghum y D. Sorjonen; J. Dubey. 1995.** Vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. J. Parasitol. 81(2): 208-211.
- Servicio Nacional de meteorología y hidrografía (Senamhi); Corporación departamental de desarrollo de Junín (Corde), 1989.** Estudio Agrometeorológico del Valle del Mantaro. Perú. 134 p.
- Daniel, W. 1996.** Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial Limusa. México. pp. 202-209.
- Davison H.; C. Guy; J. McGarry; F. Guy; D. Williams; A. Trees. 2001.** Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. Res. Vet. Sci. 70: 163-168.
- de Souza, L.; S. Guimaraes; F. Ferreira; J. Dubey; M. Gennari. 2002.** Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Paraná, Brazil. J. Parasitol. 88(2): 408-109
- Del Campo, J. 2003.** Frecuencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros del Valle de Lima. Tesis Médico Veterinario, FMV-UNMSM. 52 p.
- Dijkstra T.; M. Eysker; G. Schares; F. Conraths; W. Wouda; H. Barkema. 2001.** Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. Int. J. Parasitol. 31: 747-752.
- Dubey, J.; J. Carpenter; C. Speer; M. Topper. 1988.** Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 192: 1269-1285.
- Dubey J.; A. Koestner; R. Piper. 1990.** Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 197: 857-860.
- Dubey, J.; Lindsay, D. 1996.** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Vet. Parasitol. 67: 1-59
- Dubey, J. 1999.** Recent advances in *Neospora* and neosporosis. Vet. Parasitol. 84: 349-367.

- Dubey, J. y M. Lappin. 2000.** Neosporosis. En: Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2da. Edición. Ed. Greene C. Editorial. Mac Graw Hill-Interamericana, México. p. 554-560.
- Dubey, J. 2003.** Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J Parasitol. 41(1): 1-16.
- Fritz, D. 1997.** *Neospora caninum*: nodular dermatitis. Canine Pract. 22:4.
- Gondim L.; L. Gao; M. McAllister. 2002.** Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. J. Parasitol. 88(6):1159-63
- González, A.; N. Falcón. 1999.** Análisis de datos en medicina veterinaria. Pub. Tec. Fac. Med.Vet. UNMSM. Lima-Perú. 4159.
- Gupta, G.; J. Lakritz; J. Kim; D. Kim; A. Marsh. 2002.** Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from jeju island, South Korea. Vet. Parasitol. 106: 193-201.
- Hay H.; G. Shell; D. Lindsay; J. Dubey. 1990.** Diagnosis and treatment of *Neospora caninum* infection in a dog. J. Am. Vet. Med. Assoc. 197: 87-89.
- Helmick, B.; A. Otter; J. McGarry; D. Buxton. 2002.** Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*: Rev. Vet. Sci. 73:187.
- Heydorn, A.; H. Mehlhorn. 2002.** *Neospora caninum* is an invalid species name: an evaluation of facts and statements. Parasitol. Res. 88(2): 175-184.
- Horna, S. 2003.** Seroprevalencia de *Neospora caninum* en caninos dos distritos de la provincia de Chachapoyas. Tesis Médico Veterinario. FMV-UNMSM. 60 p.
- Innes E.; A. Andrianarivo; C. Bjorkman; D. Williams; P. Conrad. 2002.** Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. Trends Parasitol. 18(11): 497-504
- Innes E.; S. Wright; S. Maley; A. Rae; A. Schock; E. Kirvar; P. Bartley; C. Hamilton; I. Carey; D. Buxton. 2001.** Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. Int. J. Parasitol. 31(13): 1523-1534.
- Jackson, W.; A. de Lahunta; J. Adaska; B. Cooper; J. Dubey. 1995.** *Neospora caninum* adult dog with progressive cerebellar signs. Progr. Vet. Neurol. 6: 124-127.
- Jakubek, E.; C. Bröjer; C. Regnersen, A. Ugglå; G. Schares; C. Bjorkman. 2001.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Swedish red foxes (*Vulpes vulpes*). Vet. Parasitol. 102: 167-172.

- La Perle, K.; F. Del Piero; R. Carr; C. Harris; P. Stromberg. 2001.** Cutaneous neosporosis in two adult dogs on chronic immunosuppressive therapy. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13 (3): 254-255.
- Landmann, J.; D. Jillella; P. O'Donoghue; M. McGowan. 2002.** Confirmation of the prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle by the use of embryo transfer. *Aust. Vet. J.* 80: 502-503.
- Lindsay, D.; J. Butler; N. Rippey; B. Blagburn. 1996.** Demonstration of synergistic effects of sulfonamides and dihydrofolate reductase/thymidylate synthase inhibitors against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells, and characterization of mutants resistant to pyrimethamine. *Am. J. Vet. Res.* 57: 68-72.
- Lindsay D.; N. Rippey; A. Cole; C. Parsons; P. Dubey; R. Tidwell; L. Blagburn. 1994.** Examination of the activities of chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultures cells. *Am. J. Vet. Res.* 55: 976-981.
- Lindsay, D.; J. Dubey; M. McAllister. 1999.** *Neospora caninum* and the potential for parasite transmission. *Compendium. Ed. Pract. Vet.* 21(4): 317-321.
- Lorenzo V.; M. Fumarola; S. Siso. 2002.** Neosporosis with cerebellar involvement in an adult dog. *J. Small. Anim. Pract.* 43(2): 76-79.
- Marsh, E.; C. Barr; E. Packham; A. Conrad. 1998.** Description of a new *Neospora* species (Protozoa: apicomplexa: Sarcocystidae). *J. Parasitol.* 84 (5): 983-991.
- Mayhew G.; C. Smith; J. Dubey. 1991.** Treatment of encephalomyelitis due to *Neospora caninum* in a litter of puppies. *J. Small Anim. Pract.* 32: 609-612
- McAllister, M.; J. Dubey; D. Lindsay; W. Jolley; R. Wills; A. McGuire. 1998.** Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 28(9): 1473-1478.
- McNamee P.; M. Feffrey. 1996.** *Neospora*-associated bovine abortion in Northern Ireland. *Vet. Rec.* 134: 48.
- Miró, G.; A. Alonso; C. Frisuelos; L. Martín. 1999.** Etiología y biología. En: *Patología de la reproducción de etiología parasitaria (II) Neosporosis. Tratado de práctica veterinaria Bovis. España.* Jun(8): 11-17.
- Naguleswaran, A.; A. Cannas; N. Keller; N. Vonlaufen; C. Björkman; A. Hemphill. 2002.** Vero cell surface proteoglycan interaction with the microneme protein NcMIC(3) mediates adhesion of *Neospora caninum* tachyzoites to host unlike then in *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.* 32(6): 695-704.

- Obendorf, D.; N. Murray; G. Veldhuis; B. Munday; J. Dubey. 1995.** Abortion caused by neosporosis in cattle. *J. Aust. Vet.* 72: 117-118.
- Ooi, H.; C. Huang; C. Yang; S. Lee. 2000.** Serological survey and first finding of *Neospora caninum* in Taiwan, and the detection of its antibodies in various body fluids of cattle. *Vet. Parasitol.* 90: 47-55.
- Packham, E.; W. Sverlow; A. Conrad; F. Loomis; D. Rowe; L. Anderson; E. Marsh, E.; C. Cray; C. Barr. 1998.** A modified Agglutination Test for *Neospora caninum*: Development, Optimization, and Comparison to the Indirect Fluorescent-Antibody Test and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 5(4):467-473.
- Patitucci, A.; M. Pérez; M. Rozas; K. Israel. 2001.** Neosporosis canina: presencia de anticuerpos séricos en poblaciones caninas rurales y urbanas de Chile. *Arch. Med. Vet.* 33(2). p. 227-232.
- Pereira-Bueno, J., A. Quintanilla-Gozalo; L. Del Río-Gonzales; L. Ortega-Mora. 1999.** Epidemiología (II): Transmisión y factores de riesgo. En: Patología de la reproducción y factores de riesgo. En: patología de la reproducción de etiologías parasitaria (II): Neosporosis. *Rev. Bovis. España.* pp. 35-42.
- Pérez, V.; J. Corpa; L. Ortega-Mora; J. Pereira-Bueno. 1999.** Patología e inmunidad. En: Patología de la reproducción de etiología parasitaria (II) Neosporosis. *Tratado de práctica veterinaria Bovis. España.* Jun(8):45-53.
- Peters, M.; F. Wagner; G. Schares. 2000.** Canine neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany. *Parasitol. Res.* 86:1-7.
- Pitel, P.; S. Pronost; S. Romand; P. Thulliez; G. Fortier; J. Ballet. 2001.** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in France. *Equine Vet. J.* 33: 2055-207.
- Quevedo, J. 2003.** Neosporosis en bovinos lecheros en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. Tesis Médico Veterinario. FMV-UNMSM. p 63.
- Rivera, H.; D. Nelson; L. Tabacchi. 2000.** *Neospora caninum* y otros agentes en fetos abortados de bovinos lecheros del Valle de Lima. *Rev. Inv. Vet.* 11(1): 1-7
- Rivera, H. 2001.** Etiología infecciosa del aborto bovino. *Rev. Inv. Vet. Suplemento 1. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor San Marcos. Perú.* 95-99.
- Rodríguez, I.; L. Choromanski; S. Rodgers; D. Weinstock. 2002.** Survey of *Neospora caninum* antibodies in dairy and beef cattle from five regions of the United States. *Vet. Ther.. Winter.* 3(4): 396-401.

- Sawada, M.; H. Kondo; Y. Tomioka; C. Park; T. Morita; A. Shimada; T. Umemura. 2000.** Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected adult dairy cow. *Vet. Parasitol.* 90(3): 247-252.
- Sawada M.; C. Park; H. Kondo; T. Morita; A. Shimada; I. Yamane; T. Umemura. 1998.** Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 60 (7): 853-854.
- Schares, G.; M. Peters; R. Wurm; K. Tackmann; K. Henning; F. Conraths. 1997.** *Neospora caninum* verursacht aborte in einem Rinderbestand in Nordrhein-Westfalen. *Dtsch tierärztl Wschr.* 104:208-212.
- Schares, G.; J. Dubremetz; J. Dubey; A. Bärwald; A. Loyens; E. Conraths. 1999.** *Neospora caninum*: Identificación of 19-, 38-, and 40-kDa Surface Antigens and 33-kDa Dense Granule Antigen Using Monoclonal Antibodies. *Exp Parasitol.* 92: 109-119
- Silva, P. 2002.** Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del Valle de Lima. Tesis Médico Veterinario. UNMSM-FMV. 44 p.
- Simpson, V.; R. Monies; P. Riley; D. Croney. 1997.** Foxes and neosporosis. *Vet. Rec.* 141: 503-503.
- Speer, C.; J. Dubey; M. McAllister; J. Blixt. 1999.** Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.* 29 (10): 1509-1519.
- Stenlund, S.; H. Kindahl; U. Magnusson; A. Uggla; C. Björkman. 1999.** Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. *Vet. Parasitolog.* 85: 227-234.
- Thurmond, M.; S. Hietala. 1996.** Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 57:1559-1569.
- Thurmond, M.; S. Hietala. 1997.** Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 210: 672-674.
- Trees, A.; J. Barber. 1998.** Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Int. J. Parasitol.* 28: 57-64.
- Trees, A.; H. Davison; A. Innes; J. Wastling. 1999.** Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.* 29: 1195-1200.
- Tunev S.; M. McAllister; R. Anderson-Sprecher; L. Weiss. 2002.** *Neospora caninum* in vitro: evidence that the destiny of a parasitophorous vacuole depends on the phenotype of the progenitor zoite. *J. Parasitol.* 88(6):. 1095-1099.

Veterinary Investigation Diagnosis Analysis database (VIDA). 2001.

Veterinary laboratories agency (VLA); Regional laboratories (RLS), Scottish agricultural college (SAC). England. pp. 33. Disponible en: www.defra.gov.uk/corporate/vla/science/documents/science-vida-intro01.pdf

Wolfe, A.; S. Hogan; D. Maguire. 2001. Red foxes (*Vulpes vulpes*) in Ireland as hosts for parasites of potential zoonotic and veterinary significance. *Vet. Rec.* 149: 759-763.

Wouda, W.; A. Moen; H. Schukken. 1998. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology.* 49: 1311-1316.

IX. APÉNDICE

Apéndice 1. Mapa del Valle del Mantaro ubicando los establos muestreados, positivos (punto verde) y negativos (punto celeste).

