



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE *Neospora caninum* EN
HEMBRAS BOVINAS DE TRASPATIO EN LOS CANTONES DE
PANGUA, PUJILÍ Y SAQUISILI DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del
Título de Médicos Veterinarios y Zootecnistas

Autor:

Tashiguano Alvarado Anthony Miguel
Veloz Guacapiña Deryan Eduardo

Tutor:

Herrera Yunga Vanessa Del Rosario. MVZ. Mtr

LATACUNGA – ECUADOR

Agosto 2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Anthony Miguel Tashiguano Alvarado, con cédula de ciudadanía No. 1754414843 y Deryan Eduardo Veloz Guacapiña, con cédula de ciudadanía No. 1752954725, declaramos ser autores del presente proyecto de investigación: **“ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE *Neospora Caninum* EN HEMBRAS BOVINAS DE TRASPATIO EN LOS CANTONES DE PANGUA, PUJILÍ Y SAQUISILÍ, DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”**, siendo la MVZ. Vanessa Del Rosario Herrera Yunga Mtr. Tutora del presente trabajo; y, eximimos expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certificamos que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 26 de agosto del 2022



Anthony Miguel Tashiguano Alvarado
Estudiante
CC: 1754414843



Deryan Eduardo Veloz Guacapiña
Estudiante
CC: 1752954725



MVZ. Vanessa Del Rosario Herrera Yunga. Mtr.
Docente Tutora
CC: 1103758999

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **ANTHONY MIGUEL TASHIGUANO ALVARADO**, identificado con cédula de ciudadanía **1754414843** de estado civil **Soltero**, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Medicina Veterinaria**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE *Neospora Caninum* EN HEMBRAS BOVINAS DE TRASPATIO EN LOS CANTONES DE PANGUA, PUJILÍ Y SAQUISILÍ, DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Octubre 2016 - Marzo 2017

Finalización de la carrera: Abril 2022 – Agosto 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 3 de junio del 2022

Tutora: MVZ. Vanessa Del Rosario Herrera Yunga. Mtr

Tema: “**ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE *Neospora Caninum* EN HEMBRAS BOVINAS DE TRASPATIO EN LOS CANTONES DE PANGUA, PUJILÍ Y SAQUISILÍ, DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI**”

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de

investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 26 días del mes de agosto del 2022.



Anthony Miguel Tashiguano Alvarado

Ing. Cristian Tinajero Jiménez, Ph.D.

EL CEDENTE

LA CESIONARIA

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **DERYAN EDUARDO VELOZ GUACAPIÑA**, identificado con cédula de ciudadanía **1752954725** de estado civil **Soltero**, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de **GRADO “ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE *Neospora Caninum* EN HEMBRAS BOVINAS DE TRASPATIO EN LOS CANTONES DE PANGUA, PUJILÍ Y SAQUISILÍ, DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”**, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Octubre 2016 - Marzo 2017

Finalización de la carrera: Abril 2022 – Agosto 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 3 de junio del 2022

Tutora: MVZ. Vanessa Del Rosario Herrera Yunga. Mtr.

Tema: **“ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE *Neospora Caninum* EN HEMBRAS BOVINAS DE TRASPATIO EN LOS CANTONES DE PANGUA, PUJILÍ Y SAQUISILÍ, DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”**

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de

investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- f) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- g) La publicación del trabajo de grado.
- h) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- i) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- j) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 26 días del mes de agosto del 2022.



Deryan Eduardo Veloz Guacapiña

Ing. Cristian Tinajero Jiménez, Ph.D.

EL CEDENTE

LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

“ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE *Neospora Caninum* EN HEMBRAS BOVINAS DE TRASPATIO EN LOS CANTONES DE PANGUA, PUJILÍ Y SAQUISILÍ, DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”, de Anthony Miguel Tashiguano Alvarado y Deryan Eduardo Veloz Guacapiña, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 26 de agosto del 2022



MVZ. Vanessa Del Rosario Herrera Yunga. Mtr.

DOCENTE TUTORA

CC: 1103758999

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la **Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**; por cuanto, los postulantes: **Anthony Miguel Tashiguano Alvarado** y **Deryan Eduardo Veloz Guacapiña**, con el título del Proyecto de Investigación: **“ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE *Neospora Caninum* EN HEMBRAS BOVINAS DE TRASPATIO EN LOS CANTONES DE PANGUA, PUJILÍ Y SAQUISILÍ, DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”**, han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 26 de agosto del 2022



Lector 1 (Presidenta)
Dra. Blanca Mercedes Toro Molina Mg.
CC: 0501720999



Lector 2
Dra. Nancy Margoth Cueva Salazar, Mg
CC: 0501616353



Lector 3
Dra. Elsa Janeth Molina Molina, Mg.
CC: 0502409634

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

TÍTULO: “ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE *Neospora Caninum* EN BOVINOS DE TRASPATIO EN LOS CANTONES DE PANGUA, PUJILÍ Y SAQUISILÍ, DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”.

AUTORES: Tashiguano Alvarado Anthony Miguel
Veloz Guacapiña Deryan Eduardo

RESUMEN

La presente investigación de tipo transversal no probabilístico se realizó para determinar la prevalencia de *Neospora caninum*, en hembras bovinas de los cantones de Pangua, Pujilí y Saquisilí, y los factores de riesgo asociados. El estudio se realizó mediante el método de ELISA-c, para el efecto se recolectaron 270 muestras de suero sanguíneo, obteniendo los siguientes resultados: Se determinó que en los tres cantones Pangua, Pujilí y Saquisilí existe presencia de *Neospora caninum* con una prevalencia total del 23.33 %. La mayor cantidad de casos positivos se presenta en el cantón Pangua con un 44.4 %, el segundo lugar es el cantón Saquisilí con un 30.2% de casos positivos y el cantón con menos casos positivo es Pujilí con un 25.4%. Se identificó que la mayor parte de infestación de hembras bovinas se encuentra en la edad de 5 años con un 30% seropositivos para Neosporosis. La raza con mayor prevalencia es la Holstein con un 61.9 % de seropositividad en relación con la raza Jersey con un 12.7% y F1 con un porcentaje del 25.4%, así mismo los porcentajes de altitud es relativo ya que la neosporosis es predisponente a cualquier altura. Por el método reproductivo observamos una prevalencia de 35 % casos positivos por Inseminación Artificial (I.A) y 65% de casos positivos por Monta Natural (M.N), con respecto a los abortos se identificó una vaca la cual dio como resultado negativa a neosporosis. Con nuestro estudio se concluye que la prevalencia de este parasito está vigente en estos cantones, el cual al realizar las comparaciones con otras literaturas observamos que nuestros rangos son similares a los resultados obtenidos por otros autores.

Palabras Claves: *Neospora caninum*, prevalencia, aborto, ELISA-c

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES FACULTY

TITLE: “SEROEPIDEMIOLOGICAL STUDY OF *Neospora Caninum* TRASPATIO CATTLE IN PANGUA, PUJILÍ AND SAQUISILÍ, CANTONS; COTOPAXI PROVINCE”.

Authors: Tashiguano Alvarado Anthony Miguel
Veloz Guacapiña Deryan Eduardo

ABSTRACT

This non-probabilistic cross-sectional research was carried out to determine prevalence of *Neospora caninum* in female cattle in Pangua, Pujilí and Saquisilí cantons, and the associated risk factors. The study was carried out using the ELISA-c method, 270 blood serum samples were collected, obtaining the following results: It was determined that in the three cantons of Pangua, Pujilí and Saquisilí there is presence of *Neospora caninum* with a total prevalence of 23.33%. The highest number of positive cases was found in Pangua with 44.4%, the second highest was in Saquisilí canton with 30.2% of positive cases and the canton with the lowest number of positive cases was Pujilí with 25.4%. Similarly, it was identified that the most infestation of female cattle is at 5 years with 30% seropositive for Neosporosis. The breed with the highest prevalence is the Holstein with 61.9% seropositivity in relation to Jersey breed with 12.7% and F1 with a percentage of 25.4%, likewise the percentages of altitude is relative since neosporosis is predisposing at any altitude. By the reproductive method, it is observed a prevalence of 35% of positive cases by Artificial Insemination (AI) and 65% of positive cases by Natural Mounting (NM), with respect to abortions, there was only one cow which was negative for neosporosis. With obtained results it is concluded that the prevalence of this parasite is in force in these cantons, when comparisons with other literatures can present on justifiable amounts ranges.

Keywords: *Neospora caninum*, prevalence, abortion, ELISA-c.

AGRADECIMIENTO

Primero agradecer a mis padres por todo el esfuerzo, sacrificios y largos desvelos que han hecho para que yo pueda cumplir con este sueño, a su vez a mis hermanas las cuales son una motivación para seguir adelante y ser un motivo para ser superado por ellas, a mis abuelitos los cuales a lo largo del tiempo me enseñaron la vida del campo, siendo una parte fundamental que marcaría mi destino y vida profesional. También al resto de mi familia que siempre estuvieron pendientes de mis logros y llenándome de ánimos para que pueda sacarlos adelante. Hacer mención también a todos los doctores y profesionales que me brindaron de su sabiduría y paciencia, formando así al profesional que me enfoque a ser y finalmente agradecerle a mi persona por perseverar a pesar de las circunstancias puestas en el camino por luchar para poder cumplir con un sueño de infancia que se está volviendo realidad. Gracias a la vida que me ha dado tanto.

Anthony Miguel Tashiguano Alvarado

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradecer a Dios por ser el guía en mi camino por darme la salud y fuerzas para lograr este objetivo tan anhelado, a mis padres que con su esfuerzo y sacrificio de cada día permitieron que hoy pueda llegar a la meta que me propuse a ti Madre Monica Guacapiña que siempre supiste darme ánimos y tu apoyo para no rendirme en esta travesía de igual manera a ti Padre Juan veloz que gracias a tus consejos y sustento me enseñaste que todo lo que uno se propone en esta vida se llega a conseguir con esfuerzo y dedicación, a mi amada novia Sarita Jácome que fue mi motivación en cada momento gracias a tu amor y apoyo incondicional me ayudaste a cumplir mi sueño, a mis queridos hermanos (Dayanna, Camila, Juan y Samira) por brindarme su cariño y soporte cuando lo necesitaba, al resto de mi familia que supo brindarme su granito de arena en algún momento y estar pendiente de mí. Además quiero también agradecer a todos los doctores que fueron parte de mi formación profesional por la paciencia que tuvieron a lo largo de este tiempo y compartir sus conocimientos.

Mi eterna gratitud a todos y hacer posible este sueño.

Deryan Eduardo Veloz Guacapiña

DEDICATORIA

Dedico esta tesis de grado a mi madre Mónica Alvarado por darme ánimos todos los días junto con su bendición la cual es el principal motivo de seguir cada día y llenarla de orgullo, a mi padre Miguel Tashiguano ya que gracias al he aprendido muchas de las cosas que me forjaron como ser humano y ser motivo de inspiración para algún día ser como él. A mi hermana Angie Tashiguano, mi compañera que a pesar de los buenos y malos momentos me llena de alegría mis días y mi hermana Milena Tashiguano, mi pequeña la cual es mi inspiración para ser un buen profesional ya que le gusta lo que hago, son mi motivo para superarme y marcar un camino el cual deseo ser superado por ellas y que logren más cosas que las que yo llegue a cumplir. A mis abuelitos maternos y paternos los cuales me brindan de su cariño y enseñanzas que cada día me permiten ser una mejor versión de mí.

Anthony Miguel Tashiguano Alvarado

DEDICATORIA

Quiero dedicar esta tesis a Dios porque sin sus fuerzas esto no sería posible, a mi madre Monica Guacapiña que día a día supo darme sus ánimos y llegar a cumplir mi sueño, a mi padre Juan veloz por su apoyo y cada consejo que me supo impartir, valoro el esfuerzo y sacrificio que tuvieron que hacer para verme hoy en día culminando una linda etapa solo quiero llenarlos de orgullo. A mi amada novia Sarita Jácome que me supiste dar esa motivación para yo llegar a ser una mejor persona para ti y mi familia. A mi hermana Dayanna Veloz te debo mucho a ti por supiste cuidarme en mi peor momento y esto no sería posible sin ti. A mi Camila Veloz por ser tan buena conmigo y recibir ese apoyo cuando lo necesitaba. A mi hermano Juanito Veloz porque tú siempre me ayudaste en momentos importantes. A mi querida hermana Samira Quisaguano porque tú me has dado muchas alegrías y eres la fuente de mi inspiración solo quiero llegar a ser un ejemplo para ti. A mi abuelita materna Marcia Méndez porque con su alegría me inspira a ser un excelente profesional. A mis abuelitos Paternos Bertha Changoluisa y Juan A. Veloz por darme una niñez tan hermosa e inculcarme ese amor por los animales.

Deryan Eduardo Veloz Guacapiña

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADA.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	iii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	vi
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	ix
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT.....	xii
AGRADECIMIENTO	xiii
AGRADECIMIENTO	xiv
DEDICATORIA	xv
DEDICATORIA	xvi
ÍNDICE DE CONTENIDO	xvii
ÍNDICE DE TABLAS	xx
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xx
ÍNDICE DE ANEXOS	xxi
1.- INFORMACIÓN GENERAL	1
2.- JUSTIFICACION.....	2
3.-BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	3
a. Beneficiarios directos	3
b. Beneficiarios indirectos.....	3
4.-PROBLEMATICA DE LA INVESTIGACION	3
5.-OBJETIVOS.....	4
a. Objetivo General	4
b. Objetivos Específicos	4
6.-ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACION A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	5
7.-FUNDACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA	6
7.1 Neospora Bovina.....	6
7.1.1 Agente etiológico	6
7.1.2 Taxonomía	6
7.1.3 Ciclo biológico	6

7.1.4 Estadios parasitarios	8
7.1.5 Transmisión.....	8
7.2 Epidemiología.....	10
7.3 Signos clínicos.....	11
7.3.1 Signos en Caninos.....	11
7.3.2 Signos en Bovinos.....	12
7.3.3 Síntomas reproductivos (41)	12
7.4 Alteraciones en los nacidos infectados	13
7.5 Diagnóstico	13
7.5.1 Técnicas Directas	14
7.5.2 Técnicas indirectas	15
7.5.3 Muestras enviadas al Laboratorio (62)	18
7.6 Diagnóstico Diferencial (63).....	18
7.7 Tratamiento	18
7.8 Prevención	19
7.8.1 Prevención de transmisión transplacentario o endógena (67).....	19
7.8.2 Prevención de transmisión exógena (68).....	19
7.9 Control.....	20
7.9.1 Vacunación	20
7.10 Estudios relacionados	20
8.-VALIDACIÓN DE LAS HIPÓTESIS.....	22
8.1 Hipótesis Nula	22
8.2 Hipótesis Alternativa	22
9.-METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL	22
9.1 Método científico	22
9.1.1 Ubicación.....	22
9.1.2 Unidades de estudio.....	23
9.1.3 Tipo de estudio	24
9.1.4 Fase de Campo	24
9.1.4.5 Procedimiento de la prueba.....	26
10.-ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	27
10.1 Seroprevalencia de neosporosis bovina en los cantones Pangua, Pujilí y Saquisilí.....	27
10.2 Seroprevalencia en las parroquias de los tres cantones.....	28
10.3 Seroprevalencia según las razas	29

10.3.1 Seroprevalencia en la raza Holstein	29
10.3.2 Seroprevalencia en la raza Jersey.....	30
10.3.3 Seroprevalencia en la raza F1	31
10.4 Seroprevalencia según los métodos de reproducción	32
10.4.1 Seroprevalencia en vacas por monta natural.....	32
10.4.2 Seroprevalencia en vacas por Inseminación Artificial.....	33
10.4.3 Seroprevalencia en I. Artificial vs M. natural	34
10.5 Seroprevalencia en vacas según la edad.....	35
10.6 Seroprevalencia en vacas según el número de partos	36
10.7 Método estadístico para determinar la correlación	36
11.-IMPACTOS (SOCIALES, ECONÓMICOS):.....	37
11.1 El Impacto Social.....	37
11.2 El Impacto Económico.....	37
12.-CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	38
12.1 CONCLUSIONES	38
12.2 RECOMENDACIONES	38
13. BIBLIOGRAFÍA	39
14. ANEXOS.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Neospora Caninum</i>	6
Tabla 2: Datos Geográficos.....	23
Tabla 3: Prueba Chi-Cuadrado en relación a los factores de riesgo	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo Biológico de la neospora.....	7
Figura 2: A: Transmisión Vertical, B: Transmisión Horizontal	9
Figura 3. Ubicación Geográfica	23
Figura 4: Seroprevalencia de neosporosis bovina en los cantones Pangua, Pujilí y Saquisilí.....	27
Figura 5: Seroprevalencia en las parroquias de los diferentes cantones.....	28
Figura 6: Seroprevalencia en raza Holstein	29
Figura 7 : Seroprevalencia en raza Jersey	30
Figura 8 : Seroprevalencia en vacas F1	31
Figura 9: Seroprevalencia por monta natural	32
Figura 10 : Seroprevalencia en vacas inseminadas artificialmente	33
Figura 11: Seroprevalencia entre M. natural e I. artificial.....	34
Figura 12: Seroprevalencia según la edad	35
Figura 13: Seroprevalencia según el número de partos	36

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°1 Hoja de Vida Tutor	50
Anexos N°2 Hoja de Vida Autor	52
Anexos N°3 Hoja de Vida Autor.....	53
Anexo N°4 Materiales para la colecta de muestras	54
Anexos N° 5 Colecta de muestras.....	54
Anexo N°6 Proceso de extraer el suero de la sangre	55
Anexo N°7 Proceso de congelación a -20° C	56
AnexoN°8 Preparación para realizar el test ELISA-c	56
Anexo N°9 Uso de pipeta multicanal	57
Anexo N°10 Placas con pocillos ya tinsionados.....	57
Anexo N°11 Lectura de la placa	58
Anexo N°12 Materiales	58
Anexo N° 13 Manual del Kit de <i>Neospora</i>	59
Anexo N° 14 Encuesta empleada a los propietarios.....	60
Anexo N° 15 Resultados Cantón Pangua.	61
Anexo N° 16 Resultados Cantón Pujilì.....	62
Anexo N° 17 Resultados Cantón Saquisilì	63
Anexo N° 18 Aval de Traducción.....	64

1.- INFORMACIÓN GENERAL

a. Título del Proyecto:

"Estudio seroepidemiológico de *Neospora caninum* en hembras bovinas de traspatio en los cantones de Pangua, Pujilí y Saquisilí, de la provincia de Cotopaxi"

b. Fecha de inicio:

Abril 2022

c. Fecha de finalización:

Agosto 2022

d. Lugar de ejecución:

Cantón Pangua, Pujilí y Saquisilí, Provincia Cotopaxi.

e. Facultad que auspicia:

Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

f. Carrera que auspicia:

Carrera de Medicina Veterinaria

g. Proyecto de investigación vinculado:

Conservación de Recursos Zoogenéticos de la Zona 3 de Ecuador, incrementando un valor de uso y aporte a la soberanía alimentaria.

h. Equipo de Trabajo:

MVZ. Vanessa Del Rosario Herrera Yunga. Mtr. (Ver Anexo 1)

Anthony Miguel Tashiguano Alvarado (Ver Anexo 2)

Deryan Eduardo Veloz Guacapiña (Ver Anexo 3)

i. Área de Conocimiento:

Veterinaria

j. Línea de investigación:

Salud Animal.

k. Sub líneas de investigación de la Carrera:

Microbiología, Parasitología, Inmunología y Sanidad animal.

2.- JUSTIFICACION

La presente investigación se realizó para conocer la exposición de las hembras bovinas ante el protozooario *Neospora caninum* y los factores de riesgo asociados en tres diferentes cantones de la provincia de Cotopaxi los cuales son: Pangua, Pujilí y Saquisilí. La distribución de esta enfermedad en dichos cantones y parroquias se desconoce en la actualidad y la importancia de este estudio radica, debido a que existen antecedentes de abortos y no se ha logrado determinar si uno de los patógenos como *N. caninum* está involucrado en dichos abortos.

La neosporosis bovina llega a afectar a animales de cualquier edad la cual de no ser detectada a tiempo afecta a la reproducción de los animales convirtiéndose en una de las principales causas de aborto detonando así una baja en la producción de leche, mayor intervalo de partos, becerros que aparentemente nacen sanos y están infectados, becerros débiles que presentan signos nerviosos. (1)

La presencia de caninos en las ganaderías es habitual debido a que estos participan en el cuidado del ganado y otras actividades de la hacienda, este es uno de los factores principales para que la neosporosis esté presente en los bovinos, es por ello que es de suma importancia estudiar su relación. (2)

Se empleó la técnica de ELISA-c, método ampliamente utilizado a nivel de diagnóstico veterinario por su alta sensibilidad y especificidad ya que permite simultáneamente analizar un gran número de muestras. Una vez obtenido los resultados se tomarán decisiones adecuadas para evitar que este agente patógeno se siga propagando por todo el país ya que puede causar grandes pérdidas económicas a nivel de la producción ganadera. (3)

3.-BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

a. Beneficiarios directos

- Propietario del ganado de traspaso de las diferentes parroquias

b. Beneficiarios indirectos

- Productores de ganado bovino de las zonas aledañas.

4.-PROBLEMATICA DE LA INVESTIGACION

Las enfermedades de ámbito reproductivo presentan una gran causa de pérdida en los hatos de ganado bovino debido a que presentan: abortos, momificaciones, reabsorciones, infertilidad, muertes fetales y bajas de leche, siendo esta última la mayor pérdida ya que representa al ámbito económico además de los costos que se derivan de los servicios veterinarios y los tratamientos. (4)

Entre una de las enfermedades principales que ocasionan alta tasa de abortos bovinos a nivel mundial es la Neosporosis, una enfermedad parasitaria causada por el protozoo *Neospora caninum*, asintomática sin signos visibles en el bovino a excepción del aborto ocasionada por una parasitemia materna como resultado de una infección primaria o como consecuencia de la reactivación de una infección persistente durante la gestación provocando problemas reproductivos. (5)

En Inglaterra se considera que se producen 6000 abortos anuales debido a *Neospora caninum* y, asignándole una pérdida de 800 dólares americanos por cada aborto, se pierden aproximadamente 4,8 millones de dólares. En California, EE.UU., las pérdidas anuales serían de 35 millones de dólares y en Australia 85 millones de dólares en la industria lechera y 25 millones de dólares para la producción de carne. (6)

En Argentina se realizó un estudio en el cual se concluyó que *Neospora caninum* es 88,8 % la causa de abortos en rebaños lecheros. En Ecuador sobre todo en las provincias de la Región Sierra, centro - norte del país se han encontrado resultados de seropositividad del 42 % y en 22.31 % según estudios realizados de la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos. (7)

5.-OBJETIVOS

a. Objetivo General

Estudiar la seroepidemiología de *Neospora caninum* en bovinos de traspatio en los cantones de Pangua, Pujilí y Saquisilí, de la provincia de Cotopaxi

b. Objetivos Específicos

- Establecer la prevalencia de *Neospora caninum* mediante la técnica de ELISA-c.
- Correlacionar los casos seropositivos con los factores de riesgo.

6.-ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACION A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Las actividades a cumplirse en relación a los objetivos planteados, se establecen las siguientes:

Objetivos Específicos	Actividades	Resultados de las actividades	Medios de verificación
<p>Establecer la prevalencia de <i>Neospora caninum</i> mediante la técnica de ELISA-c.</p>	<p>Recolección de muestras de suero sanguíneo.</p>	<p>De las 270 muestras obtenidas, se obtuvieron los siguientes resultado de casos positivos: Pangua: 44.4%, Saquisilí: 30.2%, Pujilí: 25.4%. En vacas de 5 años se presenta el 30%. En cuanto a las razas se presenta a la raza Holstein con un porcentaje de 61.9%, en vacas F1 un 25% y en vacas Jersey se presenta el 12.7%. Finalmente en el método de reproducción se presenta que por Inseminacion artificial existe el 35% y por monta natural el 65% de casos positivos a <i>Neospora caninum</i></p>	<p>Kit para identificación de <i>Neospora caninum</i>: “NEOSPORA CANINUM ANTIBODY TEST KIT c ELISA VMRD”</p>
<p>Correlacionar los casos seropositivos con los factores de riesgo.</p>	<p>Obtener los porcentajes de cada uno de los factores de riesgo como son: edad, lugar, métodos de reproducción, partos y raza.</p>	<p>No existe correlación de <i>Neospora caninum</i> ya que en base a nuestros resultados no encontramos un factor que determine la presencia del mismo.</p>	<p>Cálculos en hoja de Excel, Software (R estudio) con el cálculo variables dicotómicas para obtener los P valores.</p>

7.-FUNDACIÓN CIENTÍFICA TÉCNICA

7.1 Neospora Bovina

La Neosporosis Bovina es una enfermedad parasitaria, causada por la *Neospora caninum*, que se caracteriza por ser abortiva afectando principalmente a hembras gestantes y a terneras recién nacidas. (8)

7.1.1 Agente etiológico

Neospora caninum es un parásito protozoo del Phylum *Apicomplexa*. (9)

7.1.2 Taxonomía

Tabla 1. Taxonomía de *Neospora Caninum*

REINO	Protista
SUBREINO	Protozoo
PHYLUM	Apicomplexa
CLASE	Sporozoasida
SUBCLASE	Coccidiasina
ORDEN	Eucoccidia
SUBORDEN	Eimeriorina
FAMILIA	Sarcocystidae
GÉNERO	Neospora

Fuente: Diana Álvarez (10)

7.1.3 Ciclo biológico

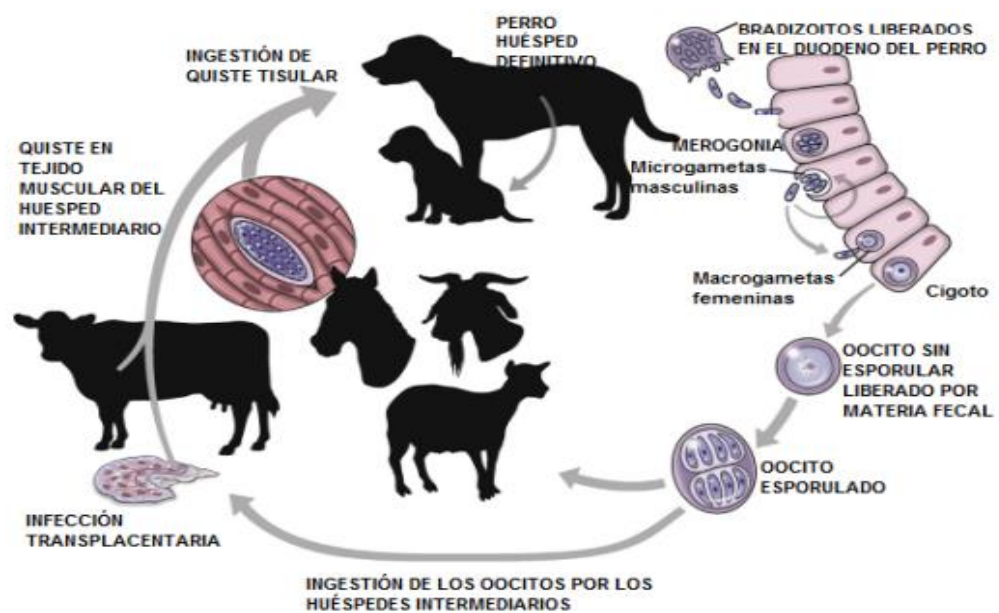
El ciclo biológico inicia desde que el perro infectado eliminaría en sus materias fecales a los ooquistes, los cuales en las condiciones ambientales adecuadas llegan a ser infecciosos alrededor de 1 a 5 días, los cuales pueden permanecer en los alimentos, suelo, agua y fómites por alrededor de 1 año. (11)

Estas formas infectantes son ingeridas por los bovinos y del intestino pasan a la sangre por medio de la cual llegan a replicarse en diferentes órganos. De esta manera se llega a infectar al feto el cual dependiendo de su respuesta inmunitaria puede morir y producirse el aborto o llegar a nacer como un ternero normal pero portador de la enfermedad manteniendo así la enfermedad en el establecimiento. (12)

La reproducción asexual se da en los hospedadores intermediarios bajo la forma de taquizoítos, estos se encuentran dentro de múltiples células y los bradizoítos, se encuentran en los quistes intracelulares en el tejido nervioso. La reproducción sexual se da en el hospedador definitivo (el perro), después de la ingestión de carne bovina cruda se produce la reproducción en su tracto digestivo, excretando los ooquistes no esporulados al medio ambiente junto con las heces. (13)

Una tercera fase se llega a producir en el medio exterior. Una vez ya excretados los quistes, llegan a esporular dentro de las 24 horas siguientes. Los esporozoítos liberados en el aparato gastrointestinal son capaces de alcanzar las vías sanguíneas y linfáticas, accediendo de esta forma a todos los tejidos y el sistema nervioso central. (14)

Figura 1. Ciclo Biológico de la *Neospora caninum*



Fuente: Julieta Giangreco, Sergio Guerrero (15)

7.1.4 Estadios parasitarios

Taquizoíto (forma rápida de multiplicación): Su forma es globular con una medida de 3 a 7 μ m de largo por 1 a 5 μ m de ancho pero eso dependerá de la etapa de división en la que esté el taquizoíto y serán detectados en varios tejidos tales como: el cerebro, médula espinal, corazón, pulmón, músculo, hígado, membranas fetales, placenta e incluso en la piel. (16)

Bradizoitos: Son de forma esférica, con una longitud de 7-8 μ m, su morfología es similar a los taquizoítos pero estos se dividen por endodiegnesis en forma lenta localizando dentro de los quiste tisulares. (17)

Quistes: Su forma es redonda y ovals, con una medida aproximada de hasta 107 μ m, la estructura está constituida por una pared quística primaria y una capa granular gruesa albergando estadios parasitarios de lenta replicación denominados bradizoitos los cuales son delgados que miden 6-8 μ m de longitud por 1-1,8 μ m de anchura. (18)

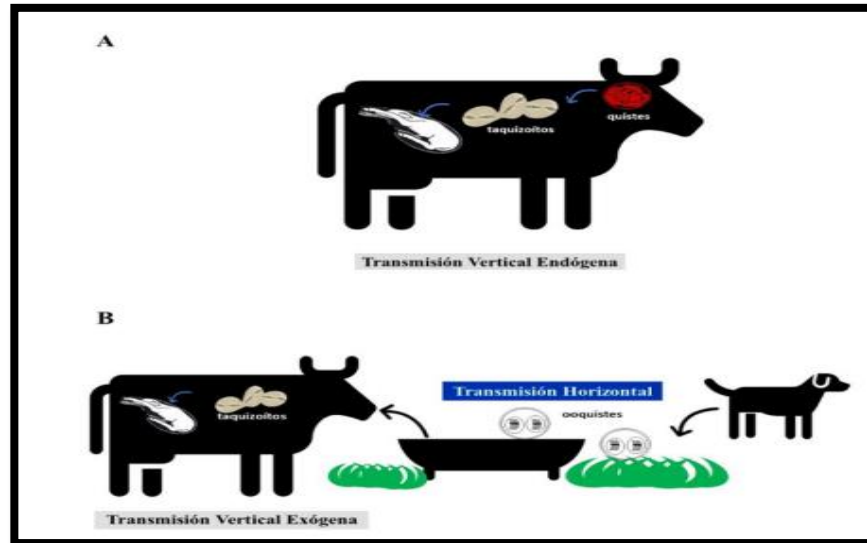
Ooquistes: Son esféricos y miden 10 a 11 μ m entres estos encontramos:

- **No esporulados:** Son eliminados a través de las heces del huésped definitivo
- **Esporulados:** Son aquellos que después de tres días contienen dos esporoquistes con cuatro esporozoitos cada uno. (19)

7.1.5 Transmisión

Existen varias rutas por las cuales el ganado bovino puede adquirir Neosporosis otra forma de transmisión y que se debe tomar en cuenta es la venérea, que consiste de semen de toros infectados el que puede ser un gran vector. De la misma manera puede darse la transmisión lactogénica, post natal, por medio del calostro. Este modo de transmisión solo se ha dado de forma experimental. (20)

Figura 2: A: Transmisión Vertical, B: Transmisión Horizontal



Fuente: Lucia Campero, Dadín Moore, Ignacio Echaide, Carlos Camperro, (21)

a) Vertical

Es la principal vía de infección, siendo el método de propagación y mantenimiento de la enfermedad, la principal vía sugerida por varios autores fue la de la madre a la hija, demostrando que la *Neospora caninum* puede permanecer por varias generaciones en un nivel constante de prevalencia sin la necesidad del hospedador definitivo a través de la vía transplacentaria. (22)

Una vez adquirida la infección los animales llegan a permanecer infectados de por vida y por ende pueden transmitir la infección a su descendencia en distintas gestaciones. (23)

b) Horizontal

La infección postnatal del perro tiene lugar por ingestión de los tejidos de bovinos infectados; fetos abortados, placentas, calostros o leche bovina contaminada con los taquizoitos de *Neospora Caninum*, la infección es la que causa la eliminación de los oocistos en las heces del perro. La transmisión horizontal del ganado bovino adulto tiene lugar luego de que el hospedador definitivo elimina los oocistos que suelen contaminar pastos, forrajes, agua, de bebida y piensos almacenados. (24)

Otra forma de transmisión y que se debe tomar en cuenta es la venérea, que consiste de semen de toros infectados el que puede ser un gran vector. De la misma manera puede darse la transmisión lactogénica, post natal, por medio del calostro. Este modo de transmisión solo se ha dado de forma experimental. (25)

Inmunidad

Durante la preñez es conocida la existencia de la inmunosupresión específica (linfocitos T Y B) lo que provoca que la vaca gestante sea propensa a la asignación de agentes infecciosos, linfocitos T supresores, estos causan la inhibición de los linfocitos T helper. Esto desencadena una disminución de los antígenos que dependen de ellos. (26)

Entre otros de los factores de la inmunosupresión es la alta concentración hormonal provocada por la progesterona la cual es normal en la preñez y es agravada en la preñez en las etapas finales del parto que es provocada por la alta producción de corticoides tanto fetales como maternos. (27)

7.2 Epidemiología

La *Neospora caninum* es un protozoo que parasita a los animales en todo el mundo, entre los primeros indicios de la neosporosis fue en el año de 1984 cuando se describió una enfermedad neurológica especialmente en perros que presentaba lesiones con similitud al *Toxoplasma gondii* pero no presentaban los animales afectados anticuerpos contra este parásito. (28)

En 1988 la neosporosis fue descrita como una enfermedad neuromuscular grave en el perro, su descubrimiento como el agente causal del aborto en el ganado bovino de leche y carne, por lo cual se ha realizado diferentes estudios de dicha enfermedad en esta especie. De esta manera se determina que los problemas reproductivos en el ganado bovino producido por *Neospora caninum*. (29)

Fue hallada en Noruega en 1988 en un perro, la cual hasta ese momento era confundida con otro parásito llamado *Toxoplasma gondii*. En adelante se le conoce como un nuevo género y especie y con esto la neosporosis se convirtió en una enfermedad emergente del ganado y de los perros en todo el mundo. (30)

Uno de los primeros brotes de abortos en hatos lecheros en México en 1989 donde presento grandes pérdidas económicas y desde entonces la neosporosis ha sido reportada en todo el mundo afectando a diferentes animales como en caninos, equinos, rumiantes. Etc. Aun en 1999 todavía se tenía sospechas en cuanto al papel del perro como uno de los huéspedes definitivos en el ciclo biológico de este parásito. (31)

Se ha confirmado que la neosporosis caninum también llega a afectar al ganado gestantes, en el que se observan abortos y muertes fetales, aquellos becerros que logran nacer adquieren el parasito al momento del parto. (32)

Se le asocia a esta especie con las patologías causantes de abortos entre el cuarto y séptimo mes de gestación en los que no se hallan signos clínicos previos, provoca que los terneros nazcan vivos pero débiles los cuales llegan a sufrir parálisis lumbares, ataxia, disfunciones cerebrales y problemas vestibulares. (33)

7.3 Signos clínicos

7.3.1 Signos en Caninos

En esta parasitosis los signos encontrados en el caninos son semejantes a los del *Toxoplasma gondii*, pero sin embargo hay un predominio que diferencia con la neosporosis por la presencia de anomalías musculares y neurológicas. (34)

En el caso de los perros jóvenes son los casos que pueden estar más afectados con cuadros más severos que pueden presentar disfagia, parálisis de la mandíbula, atrofia muscular, contracturas musculares de tipo ascendente, parálisis de ambas extremidades posteriores, dolor cervical, reflejos oculares perdidos o disminuidos, pero ya en casos crónicos. (35)

También pueden observarse signos neurológicos con lesiones necróticas visibles a los dos días y de igual manera en perros con más de 10 años de edad presenta dermatitis piogranulomatosa. (36)

7.3.2 Signos en Bovinos

Las hembras bovinas serológicamente positivas a *Neospora caninum*, son inaparentes pero llegan a tener el doble del riesgo de presentar abortos a diferencia de las vacas seronegativas, manifestando abortos varias veces consecutivas. (37)

a) Vacas Adultas

El único signo clínico observado en hembras gestantes que estén infectadas es el aborto, el cual puede ocurrir en el tercer mes hasta llegar a culminar con la gestación, pero la mayoría de abortos se llegan a producir entre el quinto y el sexto mes. (38)

Se puede producir la infección prenatal en los primeros meses de la gestación, esta podría provocar la muerte del embrión o feto con su posterior reabsorción o también pueden presentar abortos de fetos momificados, estos no ocasionan retención de placenta ya que esta se expulsa con el feto, se deberá tener en cuenta que después del aborto la vaca puede volver a entrar en celo. (39)

b) En Terneros menores de 2 meses

Mientras tanto los terneros nacidos vivos e infectados congénitamente, llegan a presentar bajo peso y signos neurológicos, demostrando al examen clínico durante las primeras semanas de vida que van desde incoordinación ligera, hasta la parálisis completa, debilidad o incapacidad de levantarse, falta de crecimiento, ataxia, flexión o hiperextensión de miembros anteriores y posteriores, disminución del reflejo patelar, falta de sensibilidad propioceptiva, exoftalmia o asimetría ocular. (40)

7.3.3 Síntomas reproductivos (41)

Entre los síntomas reproductivos causados por el *Neospora caninum* en las vacas adultas tenemos:

- ❖ En el periodo de gestación a partir del tercero al sexto mes, se presenta el aborto en la vaca ya sea de una manera esporádica o por algún tipo de brote en el cual se infecte del parásito.
- ❖ Momificaciones del feto.

- ❖ Muerte del feto y aborto.
- ❖ Nacimiento del becerro en estado débil que puede llegar a ocasionar una muerte neonatal.
- ❖ Nacimiento del becerro vivo sin signos clínicos visibles, pero infectado con el parásito dentro de su organismo provocando deficiencias neuromusculares. (23)

7.4 Alteraciones en los nacidos infectados

La *Neospora caninum* rara vez llega a producir defectos al nacimiento. Aunque en el análisis post mortem se puede encontrar, hidrocefalia y estrechamiento de la médula espinal, necrosis multifocal en el cerebro fetal, corazón, hígado, pulmón, placenta y nódulos linfáticos. (42)

Ante el examen histopatológico se presentan lesiones escasas como gliosis focal en el Sistema Nervioso Central (SNC) y lesiones neurales severas tales como: encefalitis no supurativas con o sin necrosis multifocal, infiltración leucocitaria de las meninges, rara vez se dan calcificaciones. Miocarditis multifocal no supurativa y en músculo esquelético, miosis multifocal no supurativa. (43)

En el tejido nervioso las lesiones que se caracterizan por la presencia de focos necróticos rodeados por células de glía y abundante infiltrado perivascular de mononucleares. En la placenta y el miocardio son frecuentes las grandes áreas de la infiltración y de necrosis difusas, la acción de la meningoencefalitis, miocarditis y placentitis determina en la mayoría de los casos la muerte del feto. (44)

7.5 Diagnóstico

El diagnóstico se basa en la historia clínica, signos, lesiones, y los estudios epidemiológicos. Además de la utilización de las pruebas complementarias como lo técnicas directas e indirectas. (45)

Un diagnóstico definitivo asociado a la *Neospora caninum* es difícil de establecer, debido a que no solamente comprende en examinar serológicamente al suero materno o fluidos corporales fetales. También se toma en cuenta a los análisis por la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) los cuales proveen la evidencia para concluir que los abortos son producidos por dicho parásito. (46)

7.5.1 Técnicas Directas

a) Histopatológicas

La histopatología que se realiza en el tejido bovino fetal, es una técnica relevante en las infecciones por *Neospora caninum*. Los hallazgos histopatológicos en los fetos abortados, cuyos tejidos se pueden teñir con Hematoxilina - eosina, es característico un infiltrado celular mononuclear en el epicardio, miocardio y tejidos necróticos. (47)

b) Inmunohistoquímica (IHQ)

Esta técnica realizada sobre tejidos fetales que se forman con lesiones histopatológicas compatibles, nos ayudan a la identificación de la *Neospora caninum* con alta especificidad, adquiriendo un valor diagnóstico relevante, aunque su sensibilidad llega a ser baja. (48)

Mediante las tinciones de Hematoxilina y Eosina, se puede obtener un diagnóstico presuntivo, pero la IHQ es necesaria ya que por lo general los fetos autolíticos poseen una escasa cantidad de *Neospora caninum*, lo que dificulta su visualización mediante la tinción con Hematoxilina y Eosina. (49)

A Través de la IHQ se puede observar los taquizoitos de la *Neospora caninum*, aislados o agrupados en forma de racimos, los cuales reaccionan positivamente con el antisuero primario utilizado, los cuales están asociados a los focos inflamatorios o necróticos en el cerebro. (50)

c) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

En la actualidad la PCR ha probado ser un método suficientemente robusto para detectar DNA de *Neospora caninum*. La prueba de PCR tiene un papel importante en los diagnósticos y la investigación de *Neospora caninum*, se utiliza esta técnica para identificar el ADN de la *Neospora caninum*, en las muestras de tejidos fetales, líquido amniótico, ooquistes en las heces de perros y coyotes, sangre, leche y semen. (51)

Las pruebas de PCR utilizan principalmente cerebro, corazón e hígado, estos son los órganos que comúnmente terminan afectados. Así mismo mediante las pruebas de PCR es posible detectar el ADN del parásito en leucocitos, linfocitos y sangre. Lo cual nos demuestra la presencia del parásito en animales vivos infectados. (52)

7.5.2 Técnicas indirectas

a) Test de Inmunofluorescencia Indirecta (IFAT)

Esta técnica se basa en la capacidad de la globulina del anticuerpo en combinarse químicamente con un colorante fluorescente o fluorocromo, sin perder la reactividad inmunológica. La reacción se puede visualizar al ser iluminada con luz ultravioleta de alta intensidad. (53)

El IFAT fue el primer test en ser aplicados para el hallazgo de anticuerpos contra *Neospora caninum* y es utilizados para su diagnóstico, siendo considerada la técnica estándar para la comparación con otras, una característica de esta técnica es la preserva morfológica del parásito y detectar antígenos de membrana. (54)

b) Enzima Inmunoensayo (ELISA)

Para el diagnóstico en sueros individuales. La IFAT sigue siendo la primera elección, sin embargo, cuando el objetivo es realizar estudios seroepidemiológicos usando una gran cantidad de muestras se recomienda más el uso de ELISA. Estas pruebas se basan en la proteína recombinante presentan niveles mayores de sensibilidad y especificidad. (55)

Esta técnica utiliza los anticuerpos a los que las enzimas se utilizan covalentemente, de modo que las propiedades catalíticas quedan sin alteraciones las propiedades catalíticas de la enzima y la especificidad del anticuerpo. En la actualidad la prueba de ELISA es demasiado importante para la detección de anticuerpos de *Neospora caninum*, obteniendo con esto un diagnóstico definitivo de dicha infección. (56)

c) ELISA-COMPETITIVO (VMRD)

Este ensayo competitivo inmunoabsorbente ligado a enzimas (cELISA) detecta anticuerpos contra *Neospora caninum* en suero bovino. El anticuerpo inhibe la unión del anticuerpo monoclonal específico de *Neospora caninum* marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP) al antígeno de *Neospora caninum* recubierto en el plástico con los pocillos de la placa de microtitulación. La unión del anticuerpo monoclonal marcado con HRP, el conjugado se detecta mediante la adición de sustrato enzimático y se cuantifica mediante posterior desarrollo de productos de color. El fuerte desarrollo del color indica poco o ningún bloqueo de

la unión de anticuerpos monoclonales marcados con HRP y, por lo tanto, la ausencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en muestras de suero. Desarrollo de color débil debido a la inhibición de la unión del anticuerpo monoclonal al antígeno en el sólido fase indica la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en muestras de suero. (57)

Ventajas y desventajas de la técnica. (58)

Ventaja:

- Alta flexibilidad: Puede basarse en diversos procedimientos
- Alta sensibilidad, robustez y consistencia
- Permite la detección de anticuerpos de pequeño tamaño y en bajas concentraciones
- No requiere del procesamiento previo de las muestras que se van a analizar

Desventajas:

- El protocolo es relativamente complejo
- Requiere el uso de antígeno de inhibición

En conclusión el uso idóneo del ELISA competitivo es la de detectar anticuerpos de pequeño tamaño los cuales se encuentran presentes en muy bajas concentraciones de las muestras.

Preparación de los controles (59)

1. Con ayuda de una pipeta ajustada se aspiró el Control Positivo en el pocillo A y B después el Control Negativo en los pocillos C y D por duplicado.
2. Utilizando una pipeta multicanal ajustada a 50 µl, se colecto los controles y muestras de suero en la placa recubierta de antígeno, procurando realizar un manejo inmediato de las mismas. Si se utilizan más de dos tiras, se recomienda aspirar primero las muestras de suero y controles, en una placa de transferencia y a continuación, se transfieran a la placa recubierta de antígeno (A).
3. El volumen de la muestra en la placa de transferencia debe ser superior a 50 µl para poder transferir 50 µl desde ella. Se golpeó el lado de la placa recubierta de

antígeno (A) varias veces para asegurarse que las muestras cubran el fondo de los pozos. Procurando no derramar las muestras entre pocillo e incubar la placa, 1 hora a temperatura ambiente ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

4. Se lavó los pocillos después de la incubación de 1 hora, 3 veces continuas.
5. Añadir el conjugado: 50 μl de anticuerpo-peroxidasa diluido (1X) Conjugado (D) a cada pocillo. Golpear el lado de la placa de ensayo con las muestras, varias veces para asegurar que el conjugado cubra el fondo de los pocillos. Incubar durante 20 minutos más a temperatura ambiente ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$).
6. Se lavó los pocillos después de 20 minutos de incubación.
7. Añadir 50 μl de solución de sustrato (G) a cada pocillo, golpear el lado de la placa de ensayo cargada, varias veces para verificar que el sustrato cubra el fondo de los pocillos. Incubar 20 minutos a temperatura ambiente ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Evitar la exposición directa a luz de las placas. No vaciar los pocillos.
8. Después se añadió la solución de parada a cada pocillo, mezclar la solución de sustrato y la solución de parada con pequeños golpes en la placa, no vaciar los pocillos.
9. Registraremos los resultados del ensayo: Inmediatamente después de añadir la solución de parada, la placa debe leerse en un espectrofotómetro de microplacas.
10. Finalmente se retiró todos los reactivos restantes del kit, para para su almacenamiento a una temperatura estimada de $2-7^{\circ}\text{C}$.

d) Microaglutinamiento

Esta es una prueba serológica relevante para el diagnóstico de neosporosis, no necesita de conjugados difíciles de adquirir y permite el análisis de sueros en varias especies al mismo tiempo. Entre otros de sus beneficios es que, tiene alta repetibilidad entre operarios, de fácil lectura, bajo costo, se necesita poco equipamiento y materiales. (60)

Esta prueba de aglutinamiento en las microplacas, utiliza los taquizoitos como antígenos que también sirven para diagnosticar neosporosis. Es muy útil ya que no requiere de anticuerpos secundarios, equipos para ELISA o el uso del microscopio para la inmunofluorescencia. (61)

7.5.3 Muestras enviadas al Laboratorio (62)

Se recomienda enviar las siguientes muestras ante la sospechas de Neosporosis bovina:

- Feto con su placenta.
- Muestras de tejidos: el cerebro del feto o de su médula espinal a nivel del cuello, músculo esquelético, hígado, placenta en formol al 10%.
- Suero de la vaca madre.
- Exudado torácico del feto.
- Leche de la madre.
- Suero sanguíneo.

7.6 Diagnóstico Diferencial (63)

Existen múltiples enfermedades relacionadas con el aborto, estas pueden ser causadas por virus, hongos y bacterias se debe tomar en cuenta los abortos por parásitos, químicos, nutricionales, hormonales o causados por traumas externos. Generalmente se le puede asociar con diferentes enfermedades las cuales son:

- Brucelosis
- DVB
- IBR
- Leptospirosis
- Tricomoniasis
- Vibriosis.

7.7 Tratamiento

Tratamiento en bovinos

Actualmente no se tiene conocimiento de algún tratamiento específico de la enfermedad. Esto se debe a la dificultad de eliminar a los bradizoitos los que se encuentran en los quistes tisulares y la eliminación de los medicamentos por medio de la leche cuando son administradas en vacas en producción. (64)

Al no existir medicamentos para su tratamiento se ha utilizado experimentalmente el Toltrazuril los cuales demostraron que previenen la formación de lesiones cerebrales en ratones inoculados, reduciendo la detección por ADN de este parásito y por medio del PCR en un porcentaje mayor al 90%. (65)

7.8 Prevención

Se debe basar en un buen manejo del ganado bovino como también un control de los canes y otros animales silvestres. En casos de abortos en la vacas adultas causados por el *Neospora caninum* se debe primordialmente realizar una identificación y conteo de las vacas infectadas, aislamiento de las vacas con abortos y la utilización de las pruebas serológicas rápidamente para la identificación de su seropositividad. (66)

7.8.1 Prevención de transmisión transplacentario o endógena (67)

En una transmisión transplacentaria se utiliza las siguientes medidas:

- 1) Disminuir la cantidad de vacas lecheras infectadas por el reemplazo de vacas seronegativas.
- 2) Limpieza adecuada y rápida de los fetos abortados y la placenta que se encuentren en el pasto.
- 3) Realización de pruebas serológicas a los terneros pre calostrados periódicamente.
- 4) Eliminación de las vacas seropositivas de inmediato para evitar una transmisión a otros animales.

7.8.2 Prevención de transmisión exógena (68)

Se utilizan las siguientes medidas:

- 1) Evitar y controlar el ingreso de canes a las instalaciones para prevenir que consuman los tejidos infectados tales como los fetos, la placenta con el parásito.
- 2) Minimizar la contaminación fecal del can con los ooquistes del parásito que contamina tanto el pasto, agua y comida del bovino.
- 3) Control y saneamiento de plagas (roedores silvestres) dentro de las instalaciones.

7.9 Control

7.9.1 Vacunación

En la actualidad existe una vacuna a base de taquizoítos de *Neospora caninum* en adyuvante sintético (SPUR). **BovilisNeoGuard (INTERVET)** su presentación es en frascos de 50 ml y dosis de 5 ml, se aplica por vía subcutánea. Evita reacciones, dolor y aumenta la inmunidad. Se lo mantiene entre 2 a 7 °C la cual se aplica entre los 2 a 3 meses de gestación y se aplica una revacunación a los 21 días, con esta vacuna evitamos los abortos dentro del hato. (69)

7.10 Estudios relacionados

Lozada en el (2004), realizó un trabajo sobre determinación de la presencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en hatos lecheros de la sierra centro norte del Ecuador, por Prueba Inmunoenzimática, para la diagnosticación de neosporosis bovina, en el cual se tomaron muestras de sangre a 395 bovinos y obtuvo una prevalencia del 42% de reactores positivos. (70)

Cruz en el (2011), realizó un estudio sobre la Identificación del parásito *Neospora caninum* en bovinos por medio del método de ELISA, en las haciendas ganaderas del cantón Tulcán en la Provincia del Carchi, a 182 bovinos, se obtuvo como resultado que la prevalencia fue de 51,64% de bovinos positivos. (71)

Escobar y Vargas en el (2011), desarrollaron la investigación sobre la “comparación de inmunofluorescencia indirecta y ELISA para la determinación de anticuerpos contra *Neospora caninum* en sueros bovinos recolectados en fincas de las provincias de Pichincha, Bolívar y Santo Domingo de los Tsáchilas”. Se evaluaron 343 sueros bovinos de diferentes haciendas de las zonas de Pintag, Alluriquín y Salinas. Las prevalencias encontradas para *Neospora caninum* fueron de 27,1 % mediante la técnica de ELISA, y el 23% mediante la técnica de IFI. (72)

Cajamarca y Reyes en el (2012), desarrollaron la siguiente investigación sobre. Determinación de la incidencia de Sarcocistosis Bovina en Animales Positivos a Neosporosis, esta se desarrolló en trece haciendas ganaderas en Machachi del cantón Mejía, en 145 bovinos, obteniendo como resultado 18,6% de bovinos positivos a neosporosis. (73)

Cuenca en el (2014), realizó la investigación sobre la “Determinación de la prevalencia de neosporosis bovina e identificación de la presencia de caninos como factor de riesgo en las ganaderías del cantón Loja”, realizó la colecta de 650 muestras sanguíneas de hembras bovinas mayores a un año de edad en 141 fincas. Con los datos obtenidos se procedió al cálculo de prevalencia de la enfermedad en un 22,31 %, resultando afectadas el 45,39% de las ganaderías. (74)

Bernardi (2015), en el cual se analizaron 131 sueros de hembras bovinas procedentes de las tres parroquias estudiadas, en el cantón Cuenca se encontraron 57 casos positivos y 74 negativos para anticuerpos a *Neospora caninum*, en donde se pudo corroborar la existencia de casos positivos. (75)

Oña (2015) en donde se tomaron muestras del Cantón Cayambe en la cual se analizó 100 muestras de hembras bovinas de raza Holstein y obtuvo un 61% de vacas positivas a *Neospora Caninum*. (76)

Osoro y Tamargo (2006 - 2009) cubrieron con 4 diferentes toros infectados de *Neospora caninum* a una cantidad de 83 novillas en el transcurso de esos años las cuales se presentaron seronegativas y también se pudo evidenciar que no ocurrió el contagio venereo ni transplacentario. (77)

Morán (2020) realizo un estudio de *Neospora caninum* en un criadero del Cantón Chambo de la provincia de Chimborazo en el cual tomo 36 muestras de hembras bovinas, el cual como resultado tuvo un 70% de casos positivos en vacas que tienen de 5 años en adelante teniendo similitud con nuestros resultados. (78)

8.-VALIDACIÓN DE LAS HIPÓTESIS

8.1 Hipótesis Nula

Ho: No existe la prevalencia de *Neospora caninum* en las hembras bovinas productoras de traspatio los cantones de Pangua, Pujilí y Saquisilí.

8.2 Hipótesis Alternativa

H1: Existe prevalencia de *Neospora caninum* en las hembras bovinas productoras de traspatio los cantones de Pangua, Pujilí y Saquisilí.

Validamos la hipótesis alternativa ya que verificamos que si existe una prevalencia del 23.33% de casos positivos totales en los 3 cantones.

9.-METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

9.1 Método científico

Transversal no probabilístico: Son estudios observacionales y descriptivos que carecen de direccionalidad. Su finalidad es estimar la frecuencia de una enfermedad o característica en una muestra de una población en un momento determinado, por lo que se conocen también como estudios de prevalencia. Para llevarlos a cabo, se define la población de estudio, de la que se extrae una muestra representativa en la que se mide la frecuencia de la variable que se quiere estudiar. (75)

9.1.1 Ubicación

El proyecto de investigación se llevó a cabo específicamente en bovinos de producción lechera el cual se encontraban bajo los métodos y manejos tradicionales que es de conocimiento de los propietarios de la zona.

9.1.1.1 Ubicación Geográfica

Tabla 2: Datos Geográficos

País	Ecuador		
Provincia	Cotopaxi		
Cantón	Pangua	Pujilí	Saquisilí
Latitud	-79.1	-76.6	-78
Altitud	-1.2	-0.95	-0.83
Temperatura Promedio	3.600	2.961	2.919
Humedad	20° C	18° C	18° C
Precipitaciones	92%	99%	99%
Viento	9%	5%	5%
Viento	8 km/h	8 km/h	8 km/h

Fuente: Google Maps (33)

Figura 3. Ubicación Geográfica de los cantones Pangua, Pujilí y Saquisilí.



Fuente: Google Maps (33)

9.1.2 Unidades de estudio

La población de referencia utilizada fue de 270 hembras bovinas de las siguientes razas (Holstein, Jersey, F1) de entre 3 a 11 años de edad, los cuales se mantienen bajo una producción de traspasto donde su contacto con perros es constante.

9.1.3 Tipo de estudio

Es un estudio descriptivo de corte transversal, ya que se utilizó pruebas, que permiten interpretar en porcentaje el número de individuos que presenta anticuerpos contra *Neospora caninum*, y por ende la prevalencia existente.

Además, es no probabilístico porque pese a tener una población conocida de animales, el número de individuos que se monitoreo fue debido a la capacidad de cada placa en donde permitió 270 muestras, así que finalmente se procesaron muestras de 270 animales.

9.1.4 Fase de Campo

9.1.4.1 Variables de estudio

Para determinar el número de casos de hembras bovinas con neosporosis se estudiaron diferentes variables como lo es: la edad, raza, monta natural o inseminación artificial, altitud y signos reproductivos.

9.1.4.2 Recolección de Datos de los factores de riesgo

- a) Procedimos a dirigirnos a los cantones ya establecidos para realizar el proyecto de investigación.
- b) A cada propietario se le hizo una socialización para dar un conocimiento sobre el proyecto de *Neospora caninum* en hembras bovinas que se llevó a cabo.
- c) Realizamos una encuesta al propietario el cual que nos facilitaría con los datos respecto al animal en donde abarcamos (edad, raza, número de partos, método de reproducción y presencia de abortos).

9.1.4.3 Obtención de la Muestra

1. A los propietarios de cada animal se les explico que la toma de muestra de sangre se la realiza en vena coxígea para evitar estrés en el animal.
2. A los animales se los sujeto de sus extremidades posteriores para evitar el movimiento y dificultades al momento de obtener la muestra.
3. Se preparó la cola del animal desinfectando la zona de punción con alcohol antiséptico al 70°.

4. Se tomó aproximadamente entre 7 a 10 ml de sangre por punción de la vena coxígea en un tubo estéril de tapa roja.
5. Preservando las muestras de sangre obtenidas se las etiquetaron cada una posteriormente se colocó todas las muestras en una caja conservadora de temperatura (Cooler) y con geles refrigeran a 4 °C para su transporte a los laboratorios de biología de la carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad CAREN de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

9.1.4.4 Procesamiento de la muestra

1. En los laboratorios de biología de la carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad CAREN de la Universidad Técnica de Cotopaxi se prepararon las muestras de sangre, utilizando una centrifugadora que tenía una capacidad de procesar de 8 muestras de sangre, posteriormente se programó a una velocidad de 5000 rpm durante 10 minutos.
2. Terminado el proceso de centrifugación observamos dos tonos de color diferente en las muestras de sangre la cual era el resultado de la separación del suero sanguíneo (color amarillento).
3. Con la ayuda de una micropipeta ajustada a 50 µl se recolecto el plasma sanguíneo de cada muestra la cual fue almacenada en conos de eppendorf. con su respectiva identificación.
4. Los plasma sanguíneo serán alicuotados por duplicado y almacenados a -20 °C en la nevera de los laboratorios de biología de la carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad CAREN de la Universidad Técnica de Cotopaxi para su posterior análisis.
5. El análisis de las muestras de suero individual se las realizó en el laboratorio de parasitología de la clínica veterinaria de la Universidad Técnica de Cotopaxi.
6. El suero obtenido era libre de hemolisis y contaminación para la detección de anticuerpos específicos contra *Neospora caninum* en ganado bovino.
7. Se realizó la prueba de Elisa-c con kit comercial VMRD (Veterinary Medical Research & Development) y el equipo que se empleó es el lector de micro- placas BIOTEK TS 800 junto con el programa Gen5n tomando en cuenta la media de los Controles Negativos $\geq 0,30$ y $< 2,50$ y la media de los controles positivos el cual

debe tener una inhibición $\geq 30\%$ en el laboratorio de parasitología de la clínica veterinaria de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

9.1.4.5 Procedimiento de la prueba

1. Los controles positivos y negativos se colocaron con una pipeta ajusta a 50 μ l, en la placa recubierta de antígeno. Las muestras de suero también se deben colocar en la placa recubierta de antígeno lo más pronto posible.
2. El volumen de la muestra de la placa de transferencia debe ser superior a 50 para transferir 50 μ l. Toca el lado de la placa recubierta de antígeno varias veces para asegurarse de que la muestra cubra el fondo de los pozos. Se tuvo cuidado para no derramar las muestras del pozo muy bien. Incubar la placa durante 1 hora a temperatura ambiente (23 $^{\circ}$ C).
3. Se lavó los pocillos después de la incubación de 1 hora, lavando la placa 3 veces llenando los pocillos cada vez que solución de lavado. Se vació el contenido del pozo y retiro el suero y controles restando golpeando bruscamente, invirtiendo la placa 4 veces con una toalla de papel limpia, golpeando un área limpia cada vez.
4. Se agregó el conjugado a 50 μ l de Anticuerpo-Peroxidasa diluido a cada pocillo. Incubar durante 20 minutos más, a temperatura ambiente.
5. Se lavó los pozos después de la incubación de 20 minutos, lavar la placa 3 veces
6. Luego se colocó la solución de sustrato 50 μ l, se incubo por 20 minutos a temperatura ambiente
7. Se agregó 50 μ l de solución de parada a cada pocillo para desactivar la acción del reactivo.
8. Luego se procedió a leer la placa en el espectrofotómetro donde nos arrojó la lectura de densidad óptica (OD) 650nm, mediante el programa Gen5 software.

9.1.4.6 Análisis de los resultados

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico R software, lo cual determino la prevalencia con un intervalo de confianza del 95% se hizo un estudio de correlación entre los factores de riesgo y la seropositividad.

9.1.4.7 Interpretación P-valué en la prevalencia

Con ayuda del p valor se refleja la probabilidad de tener un resultado sosteniendo en el caso de que exista la correlación con los factores de riesgo a lo cual sus valores resultaron bajos, demostrando así que no existe alguna correlación y esta enfermedad es predisponente ante cualquier factor.

10.-ANALISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

10.1 Seroprevalencia de neosporosis bovina en los cantones Pangua, Pujilí y Saquisilí

Saquisilí

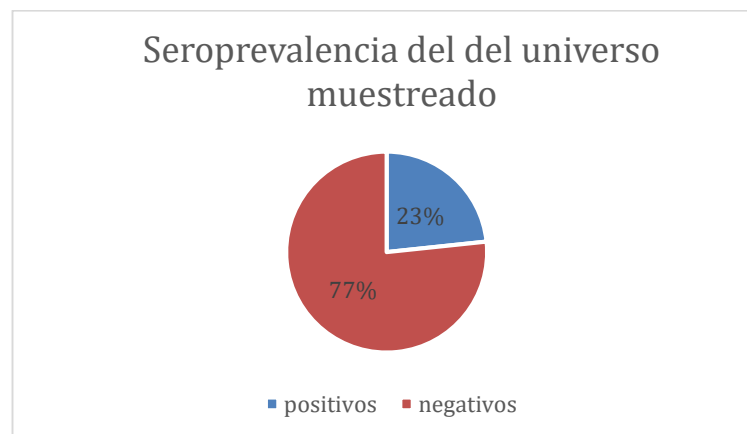


Figura 4 : Seroprevalencia de neosporosis bovina en los cantones Pangua, Pujilí y Saquisilí

La neosporosis bovina es una enfermedad de importancia mundial debido a las pérdidas económicas que afectan a los productores, en la figura 4 se presentan los resultados totales de los tres cantones, en la cual se determinó que de 270 animales muestreados, 63 bovinos son positivos a neosporosis, que representa el 23.33 % de seroprevalencia.

En investigaciones previas en los que se emplean métodos de diagnóstico similares nos da a entender que la neosporosis se encuentra difundida en el país en diferentes sectores de la región Sierra, pues la presencia de anticuerpos de *Neospora caninum* en ganados lecheros mediante pruebas serológicas se ha logrado detectar según las investigación de Iza (2020) al realizar el mismo estudio determinó que la prevalencia del cantón Latacunga en la parroquia Ignacio flores en la cual se determinó que de 50 animales muestreados, 6 bovinos son positivos que representa el 12 % de seroprevalencia de la neosporosis, resultados que se obtuvieron mediante la técnica de ELISA indirecta. También tenemos

el caso de Asanza y Cunalata (2021) tomaron muestras de 90 vacas productoras en la provincia de Sucumbios se llegó a una prevalencia del 29% de casos positivos. Teniendo estas dos referencias una cerca del lugar muestreado y la otra en una provincia más al norte, podemos darnos cuenta que nuestra prevalencia del 23% en los 3 cantones es relativamente similar a la de Iza (2020) por lo que vemos que en estos años la prevalencia se ha mantenido.

10.2 Seroprevalencia en las parroquias de los tres cantones

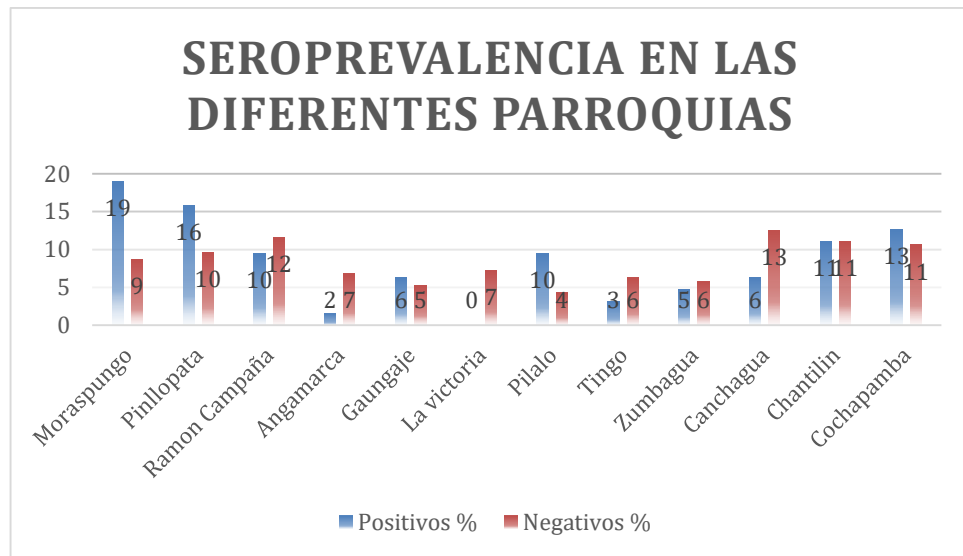


Figura 5 : Seroprevalencia en las parroquias de los diferentes cantones

En la figura 5 se representa a todas las parroquias de dichos cantones con el total de 270 muestras distribuidas en todas estas parroquias, observamos que en la parroquia de Moraspungo (Pangua) notificamos 12 casos positivos lo cual representa una prevalencia del 19 %, mientras que la parroquia La Victoria (Pujilí) indica una prevalencia del 0 %, en cambio en la parroquia con el mayor número de casos negativos es la de Canchagua (Saquisilí) la cual cuenta con 26 vacas seropositivas que representa al 13%.

Los resultados obtenidos por Bernardi (2015), en el cual se analizaron 131 sueros de hembras bovinas procedentes de las tres parroquias estudiadas, en el cantón Cuenca se encontraron 57 casos positivos y 74 negativos para anticuerpos a *Neospora caninum*, en donde se pudo corroborar la existencia de casos positivos.

10.3 Seroprevalencia según las razas

10.3.1 Seroprevalencia en la raza Holstein

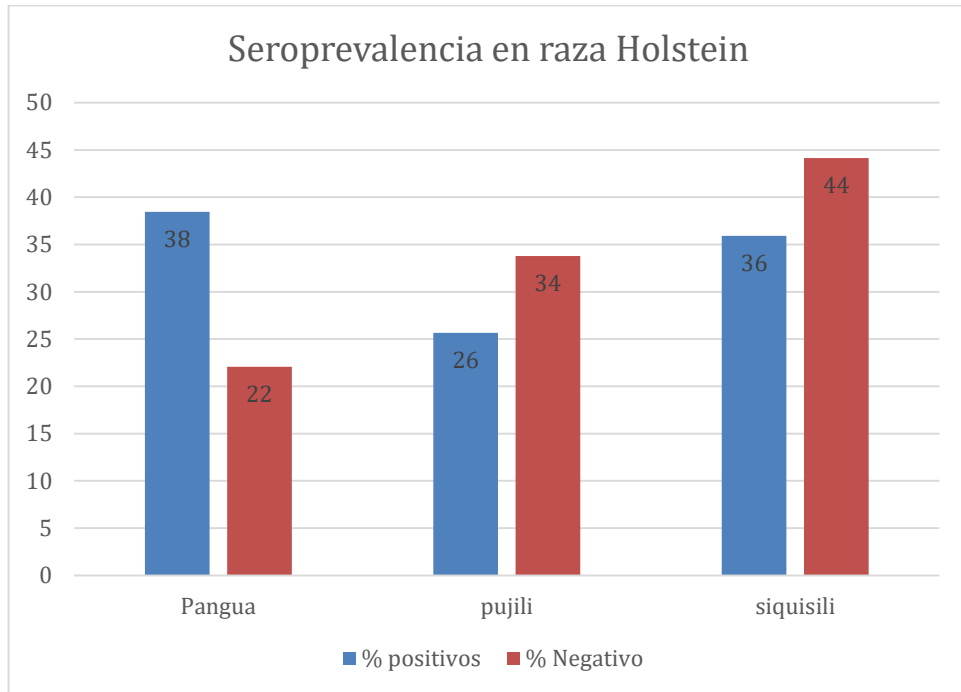


Figura 6: Seroprevalencia en raza Holstein

En la figura se puede observar que de un total de 184 animales de raza Holstein, 39 casos fueron positivos, en el cantón Pangua se presentó 15 casos positivos que nos da la incidencia de 38% de casos positivos, en el cantón Pijulí se dieron 10 casos positivos que representa al 26% y finalmente en el cantón Saquisilí obtuvimos 14 casos positivos representando al 36%.

Estos resultados concuerdan con Oña (2015) en donde se tomaron muestras del Cantón Cayambe en la cual se analizó 100 muestras de hembras bovinas de raza Holstein y obtuvo un 61% de vacas positivas a *Neospora Caninum*.

10.3.2 Seroprevalencia en la raza Jersey

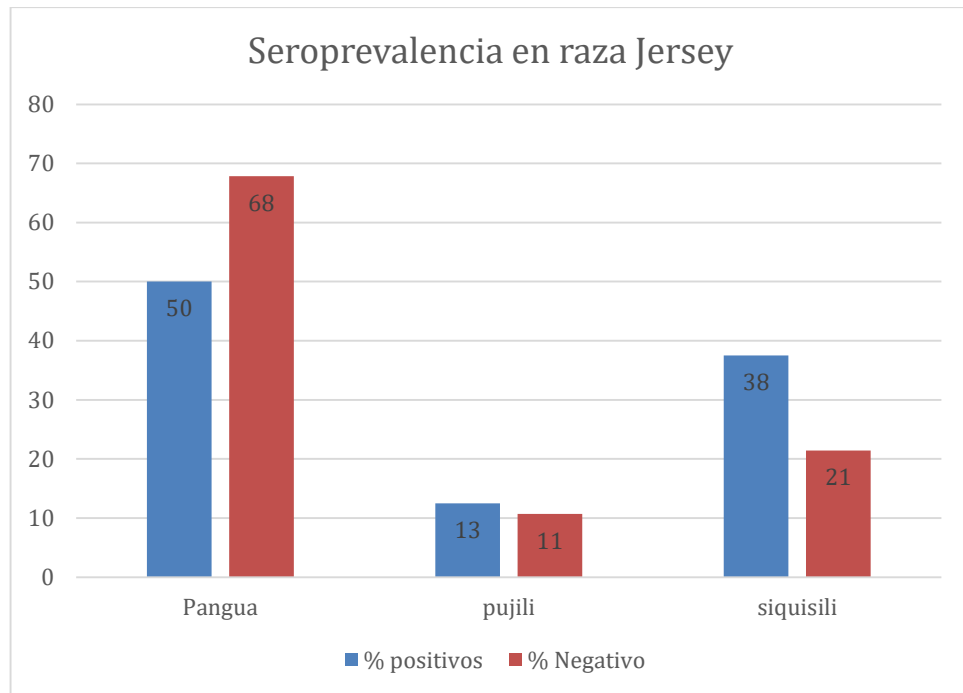


Figura 7: Seroprevalencia en raza Jersey

Con un total de 36 hembras bovinas de raza Jersey en la figura 7, se observamos que en el cantón Pangua se presenta 4 casos positivos que representa al 50% de casos positivos, en cuanto al cantón Pujilí tenemos 1 caso positivo el cual se lo representa con el 13% y en Saquisilí contamos con 3 casos positivos que se refleja con el 38% de seroprevalencia en cuanto a la raza Jersey

Estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Cruz (2019) en donde se tomó muestras de 375 hembras bovinas entre ellas de raza Jersey de las cuales el 40% resultaron positivas a *Neospora caninum*.

10.3.3 Seroprevalencia en la raza F1

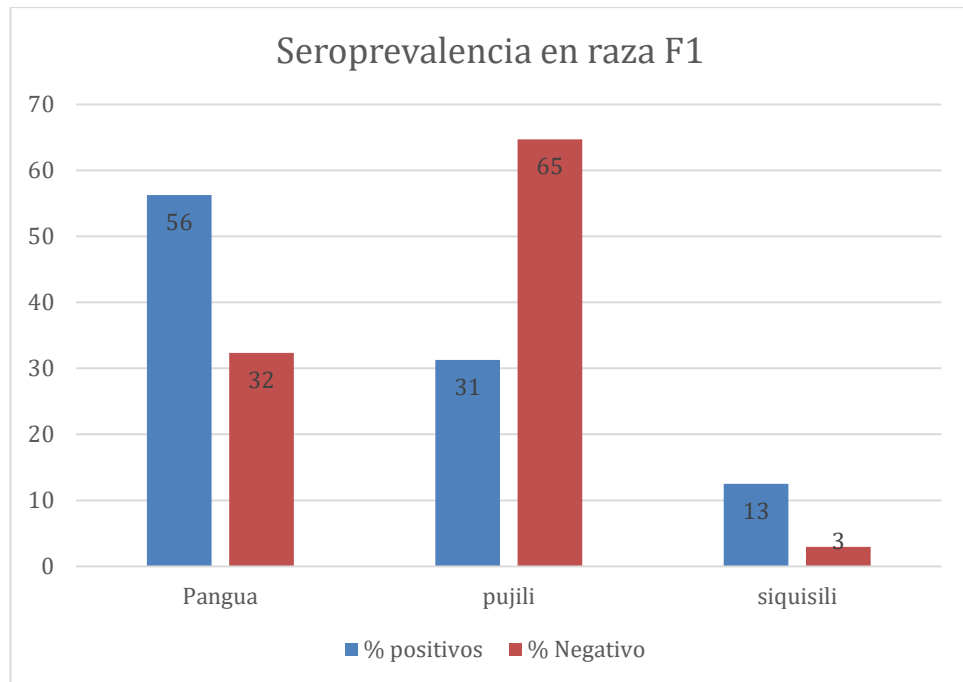


Figura 8: Seroprevalencia en vacas F1

En la figura 8 se puede visualizar que las vacas F1 se obtuvieron un total de 50 de las cuales Pangua refleja que 9 vacas representan el 56% de casos positivos. Pujilí cuenta con 5 vacas seropositivas representando el 31% y en Saquisilí contamos con 2 vacas seropositivas que es 13%.

No se encontraron estudios relacionados a las vacas F1 y la neosporosis para realizar la discusión.

10.4 Seroprevalencia según los métodos de reproducción

10.4.1 Seroprevalencia en vacas por monta natural

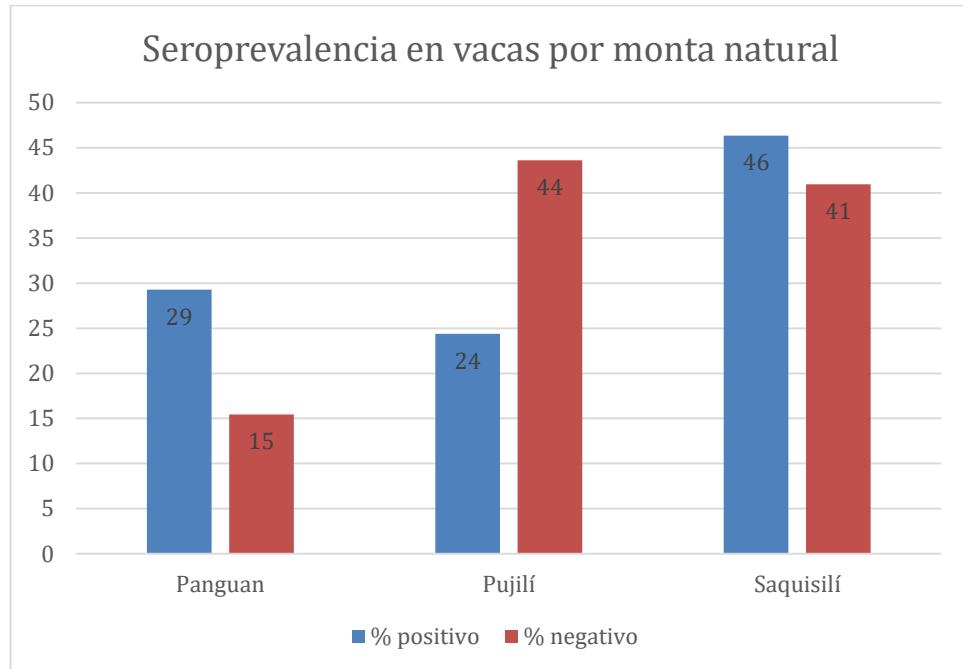


Figura 9: Seroprevalencia por monta natural

En el caso de vacas preñadas por monta Natural tenemos un total de 190 vacas de las cuales en la figura 9 se observa que en el cantón Saquisilí se presentan 19 casos positivos que representa al 46%, Seguido a esto tenemos al cantón Pangua con el cual tiene 12 casos positivos representando al 29% y en el cantón Pujilí contamos con 10 vacas seropositivas las cuales representan al 24%.

10.4.2 Seroprevalencia en vacas por Inseminación Artificial

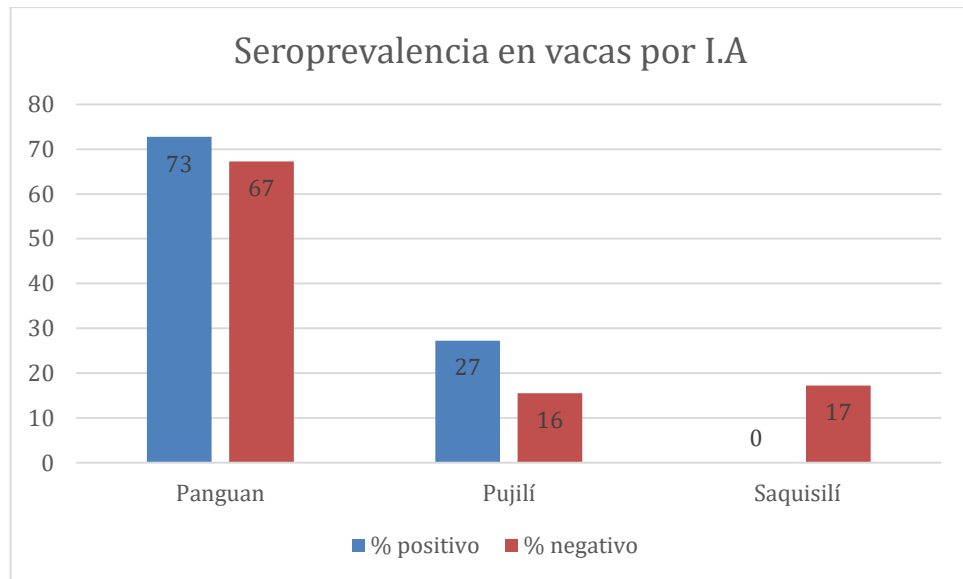


Figura 10: Seroprevalencia en vacas inseminadas artificialmente

En el gráfico 10 observamos que en el caso de las vacas inseminadas artificialmente tenemos un total de 80 vacas donde la mayor incidencia es en el cantón Pangua con 16 vacas representando el 73% de casos positivos, seguido tenemos a Pujilí con 27 vacas infectadas representando al 27% de casos positivos y finalmente en Saquisilí no se reportaron casos con vacas seropositivas.

10.4.3 Seroprevalencia en I. Artificial vs M. natural

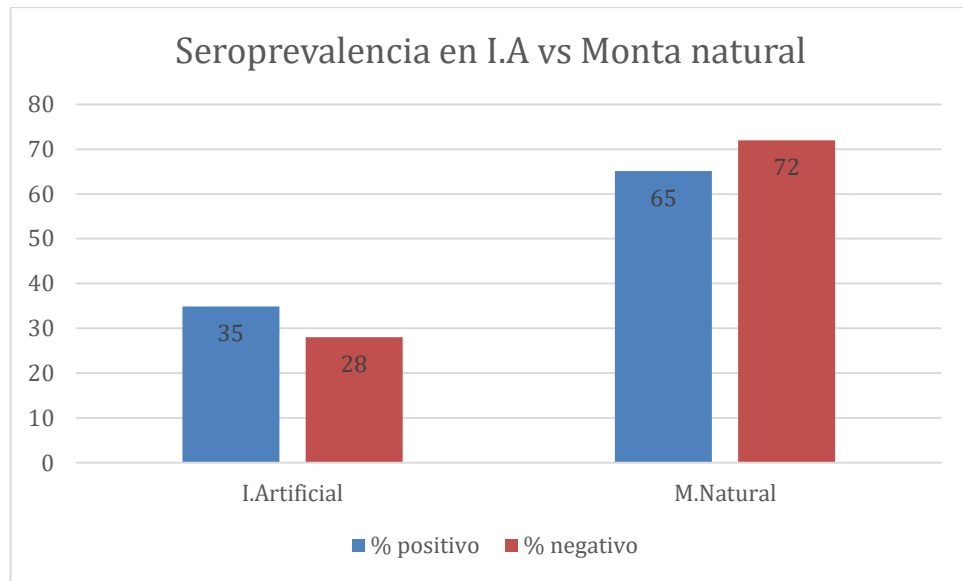


Figura 11: Seroprevalencia entre M. Natural e I. Artificial

En la figura 11 vemos del total del universo el porcentaje de casos positivos por I.A son de 22 vacas reflejando el 35% y en el caso de M. natural es de 41 vacas lo cual refleja un 65% de casos positivos.

Según Osoro y Tamargo (2006 - 2009) cubrieron con 4 diferentes toros infectados de *Neospora caninum* a una cantidad de 83 novillas en el transcurso de esos años las cuales se presentaron seronegativas y también se pudo evidenciar que no ocurrió el contagio venereo ni transplacentario

10.5 Seroprevalencia en vacas según la edad

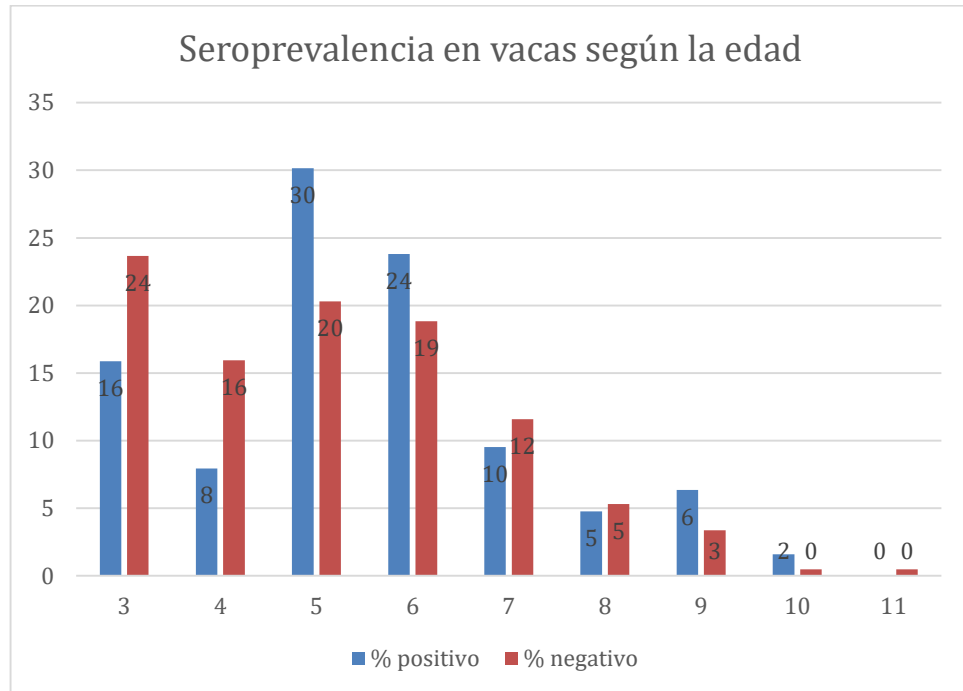


Figura 12: Seroprevalencia según la edad

En la figura 12 podemos observar que tenemos vacas de entre 3 a 11 años de las cuales el mayor porcentaje se presentó en las vacas de 5 años con un total 19 vacas que representa el 30% de casos positivos y en los casos de las vacas de 11 años no se presentó ninguna vaca infectada

Según Moran (2020) realizó un estudio de *Neospora caninum* en un criadero del Cantón Chambo de la provincia de Chimborazo en el cual tomó 36 muestras de hembras bovinas, el cual como resultado tuvo un 70% de casos positivos en vacas que tienen de 5 años en adelante teniendo similitud con nuestros resultados.

10.6 Seroprevalencia en vacas según el número de partos

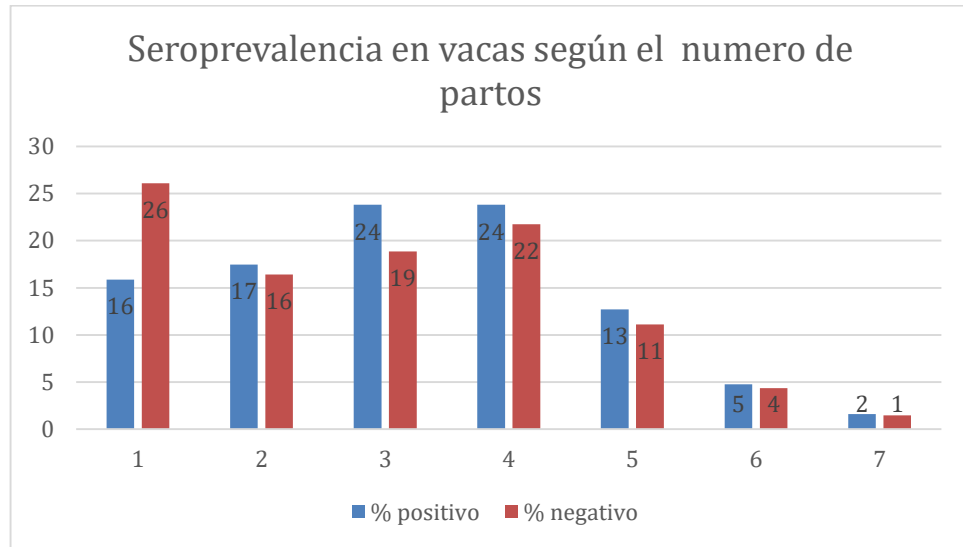


Figura 13: seroprevalencia según el número de partos

En la figura 13 se presentan vacas de 1 a 7 partos en la cual la mayor incidencia se presentó entre los 3 y 4 partos las cuales simultáneamente se presentan 15 vacas de estas edades representando un porcentaje del 24% de casos positivos y en el caso de las vacas de 7 años se presenta 1 vaca la cual representa el 2%

10.7 Método estadístico para determinar la correlación

Se realizó el análisis estadístico por medio de la prueba Chi-cuadro para el análisis de la existencia de asociación entre la presencia de la enfermedad y las variables estudiadas. Por lo cual se obtuvo los siguientes P valores con relación a dichas variables:

Tabla 3: Prueba Chi-Cuadrado en relación a los factores de riesgo

P value edad 0.3789	P value de partos 0.8117	P value raza 0.2733	P. value de formas de reproducción 0.9107
No hay diferencia significativa, no existe asociación entre la variable y la presencia de la enfermedad.	No hay diferencia significativa, no existe asociación entre la variable y la presencia de la enfermedad.	Ho hay diferencia significativa, no existe asociación.	No hay diferencia significativa no hay asociación entre la variable y la presencia de la enfermedad.

Autor: Anthoy Tashiguan, Deryan Veloz

11.-IMPACTOS (SOCIALES, ECONÓMICOS):

11.1 El Impacto Social

La mayoría de los pequeños productores se dedican a la actividad lechera ya que es su principal fuente de ingresos económicos y sustento familiar en algunos casos, muchas de estas personas tienen un limitado conocimiento técnico y sanitario para la prevención de esta enfermedad, por esta razón una vez obtenido los resultados podemos evitar que animales positivos a neosporosis se pueden seguir utilizando para su reproducción.

11.2 El Impacto Económico

La producción de leche y reproducción del animal serán los principales factores que afectaran al ingreso económico del propietario debido a la baja producción de leche también el alargamiento de los partos, la repetición de celo y mantenimiento del animal.

12.-CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

12.1 CONCLUSIONES

- Existe prevalencia de *Neospora caninum* ya que de 270 muestras de hembras bovinas que pertenecen a los 3 cantones estudiados obtuvimos un resultado de 63 bovinos equivalente al 23.33% de seropositivismo, el cantón con mayor porcentaje de anticuerpos contra *Neospora Caninum* mediante el estudio de ELISA –c fue el cantón Pangua. Podemos visualizar que la raza con mayor prevalencia de *Neospora caninum* es la raza Holstein tomando en cuenta que de 184 animales obtuvimos 39 animales equivalente a un 38 % de casos positivos en comparación con las otras razas como Jersey y F1. Según el número de partos se estableció mediante el estudio que hay un porcentaje del 30% de prevalencia de *Neospora Caninum* en vacas adultas de edad de 5 años con casos positivos en relación de vacas de 3 a 11 años. Según el número de partos determinamos un porcentaje de prevalencia del 24% con *Neospora caninum* en vacas con 3 a 4 partos en relación a las vacas primerizas.
- No se cuenta con una correlación ya que gracias al método estadístico se establece que la *Neospora caninum* no depende de algún factor para que llegue a presentarse, siendo así que *Neospora caninum* es predisponente ante cualquier raza, edad, número de partos y métodos de reproducción

12.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda una adecuada desparasitación y estimulación del sistema inmunitario a los bovinos para que no estén propensos a contraer algún tipo de enfermedad, de igual manera el control de ingreso de los perros a la propiedad tanto en el pasto, fuentes de agua donde se alimentan los bovinos y en el caso de abortos se debe recomendar una adecuada eliminación de los fetos sin dejarlos tanto tiempo a la intemperie para evitar que los perros coman estos residuos evitando así la propagación de la enfermedad.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Moore DP, Odeón AC, Venturini MC, Campero CM. Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. Revista argentina de microbiología [Internet]. 2005 Dec 1 [cited 2022 Aug 31]. Available from: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412005000400011
2. Ortega-Mora L, Fernández-García A, Gómez-Bautista M. Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives. Acta Parasitologica. 2006.
3. Morales E. NEOSPOROSIS BOVINA: CONTROL Y PREVENCIÓN [Internet]. 2016 Jul [cited 2022 Aug 31]. Available from: https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/191-Neosporosis_bovina.pdf
4. Cruz-Vázquez C, Vital-Gutiérrez J, Medina-Esparza L, Ortega-Mora L, Valdivia-Flores A, Quezada-Tristán T, et al. *Neospora caninum* Infection during the First Gestation of Holstein Heifers That Consume Food Contaminated Naturally with Zearalenone under Field Conditions. Iranian journal of parasitology [Internet]. 2017 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5756306/>
5. Parrado S. Prevención de la Neosporosis Bovina en Colombia. Zoociencia [Internet]. 2016 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/zoociencia/article/view/517/439>
6. Moore DP, Odeón AC, Venturini MC, Campero CM. Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. Revista argentina de microbiología [Internet]. 2005 Dec 1 [cited 2022 Aug 31]. Available from: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412005000400011

7. UNAM Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,. Frecuencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en ganado bovino del noreste de México [Internet]. 2005 Jul [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2005/vm053f.pdf>
8. J.P Dubey. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. The Korean Journal of Parasitology [Internet]. 2003 Mar 20 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2717477/>
9. Argentina De Microbiología. Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación [Internet]. 2005 Apr [cited 2022 Aug 30]. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/2130/213016800011.pdf>
10. Álvarez D. *Neospora Caninum* y sus alteraciones sobre la salud reproductiva bovina. Trabajo de grado para optar por el título de Médica Veterinaria - PDF Descargar libre [Internet]. docplayer.es. 2016 [cited 2022 Sep 2]. Available from: <https://docplayer.es/82815471-Neospora-caninum-y-sus-alteraciones-sobre-la-salud-reproductiva-bovina-trabajo-de-grado-para-optar-por-el-titulo-de-medica-veterinaria.html>
11. Cruz-Estupiñan S, Diaz-Anaya A, Bulla-Castañeda D, Garcia-Corredor D, Pulido-Medellín M, Cruz-Estupiñan S, et al. Diagnóstico serológico de *Neospora caninum* en vacas del municipio de Tuta, Boyacá. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2022 Aug 31]. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-29522019000300197
12. Portalveterinaria. Neosporosis bovina [Internet]. www.portalveterinaria.com. 2004 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://www.portalveterinaria.com/articoli/articulos/2757/neosporosis-bovina-una-actualizacion.html#:~:text=La%20microaglutinaci%C3%B3n%20es%20una%20prueba>

13. Cruz Carrillo A, Moreno Figueredo G, González Medrano K, Martínez Contreras JA. Determinación de la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* y el Virus de Diarrea Viral Bovina y su relación con el desempeño reproductivo de hembras bovinas del municipio de Oicatá (Boyacá). CES Medicina Veterinaria y Zootecnia [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2022 Aug 31]. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072014000200009
14. Oviedo S T, Bustamante G G, Mejía L J. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO SOBRE NEOSPOROSIS EN FETOS BOVINOS PROCEDENTES DE MATADERO. Revista MVZ Córdoba [Internet]. 2008 May 1 [cited 2022 Aug 31]. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682008000200009
15. Giangreco J, Guerrero S. Neosporosis canina: la enfermedad y sus factores de riesgo [Internet]. 2019 Oct [cited 2022 Sep 2]. Available from: <https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/2246/PEREZ%20LOPEZ%2C%20JULIETA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Medina-Esparza LE, De Luna-Oseguera R, Vitela-Mendoza IV, Cruz-Vázquez C. Detección de *Neospora caninum* en ganado lechero sacrificado en Aguascalientes, México. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias [Internet]. 2018 Jun 29 [cited 2022 Jan 31]. Available from: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v9n3/2448-6698-rmcp-9-03-408.pdf>
17. Gutiérrez Saenz RA. Tricomoniasis vaginal. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología. 1956 Nov 30.
18. Zoovetespasion. ? Tricomoniasis Bovina, enfermedad abortiva del ganado? [Internet]. Zootecnia y Veterinaria es mi Pasión. 2017 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://zoovetespasion.com/ganaderia/enfermedades-bovinas/tricomoniasis-bovina/#:~:text=y%20Clark>
19. Texas Animal Health Commission. ¿QUE ES LA TRICOMONIASIS? [Internet]. 2022 Feb [cited 2022 Aug 31]. Available from: https://www.tahc.texas.gov/news/brochures/TAHC Factsheet_TrichomoniasisSPANISH.pdf

20. Requena NR, Martínez AA. Desarrollo de técnicas serológicas para el diagnóstico de la neosporosis canina. *Revista complutense de ciencias veterinarias* [Internet]. 2007 [cited 2022 Aug 31];1(Extra 2):386–93. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6979540>
21. Campero LM, Moore DP, Echaide IE, Campero CM, Venturini MC. Neosporosis bovina en Argentina: a 25 años del primer reporte en el país. *ANALECTA VETERINARIA* [Internet]. 2021 Jun 21 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/25/251984004/html/>
22. Zoetis. Rinotraqueitis infecciosa bovina [Internet]. www2.ar.zoetis.com. 2022 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://www2.ar.zoetis.com/productos-y-soluciones/bovinos/rinotraqueitis-infecciosa-bovina>
23. SAG ministerio de agricultura Gobierno de Chile. Definición del caso diarrea viral bovina y concepto [Internet]. 2016 May [cited 2022 Aug 31]. Available from: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/f_tecnica_diarrea_viral_bov.pdf
24. Rondón I. DIARREA VIRAL BOVINA: PATOGÉNESIS E INMUNOPATOLOGÍA. *Revista MVZ Córdoba* [Internet]. 2006 Jan 1 [cited 2022 Aug 31]. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682006000100003
25. The Center for Food Security and Public Health. Untitled Document [Internet]. www.cfsph.iastate.edu. 2009 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/>
26. Senacsa. Brucelosis Bovina: SENACSA [Internet]. www.senacsa.gov.py. 2019 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://www.senacsa.gov.py/index.php/Temas-pecuarios/sanidad-animal/programas-sanitarios/brucelosis-bovina>
27. Izquierdo AC. Campilobacteriosis Genital Bovina: Enfermedad reproductiva de gran importancia [Internet]. Engormix. 2017 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/campilobacteriosis-genital-bovina-enfermedad-t40187.htm>

28. Rojas M del C, Fort M, Bettermann S, Entrocassi C, Costamagna SR, Sachse K, et al. Detección de *Chlamydia abortus* en pérdidas reproductivas de bovinos en la provincia de La Pampa, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*. 2018 Jul.
29. Axón, IBR: sensibilización y opciones de control [Internet]. Axon Comunicacion. Expertos en soluciones integrales. 2022 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://axoncomunicacion.net/ibr-sensibilizacion-y-opciones-de-control/>
30. López P, Giangreco J, Guerrero S. Neosporosis canina: la enfermedad y sus factores de riesgo [Internet]. 2019 Oct [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/2246/PEREZ%20LOPEZ%2C%20JULIETA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
31. Luzardo MBB, Diaz M del PA, Martinez GN, Mendieta CES, Garcia ARR, Gutierrez LA. Primer reporte de *Neospora caninum* en el ganado bovino de la Costa Chica de Guerrero, México. *Agro Productividad* [Internet]. 2020 May 27 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1641/1321>
32. Gabriela M, Tipán Y, Francisco P. Determinación de *Neospora Caninum* en el Cantón Mejía [Internet]. 2015 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6676/1/T-UCE-0014-026.pdf>
33. Google Maps. CANTONES DE LA PROVINCIA - Provincia de Cotopaxi [Internet]. sites.google.com. 2022 [cited 2022 Sep 2]. Available from: <https://sites.google.com/site/provinciadecotopaxil/cantones-de-la-provincia>
34. Álvarez G. Identificación y caracterización de antígenos de “*Neospora caninum*” con interés inmunodiagnóstico en bovinos [Internet]. eprints.ucm.es. 2003 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/4780/>
35. Vargas J, Cortés J. *Neospora caninum*, ¿Una Zoonosis Potencial? *Rev Salud Pública* [Internet]. 2001 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v3n1/v3n1a07.pdf>
36. Álvarez D, Asesor S, Andrés J, Torres P. *Neospora Caninum* y sus alteraciones sobre la salud reproductiva bovina. Trabajo de grado para optar por el título de Médica Veterinaria [Internet]. 2016 Jun [cited 2022 Aug 31]. Available from: http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1737/1/Neospora_Caninum_alteraciones_salud_reproductiva_bovina.pdf

37. Baquero Tapia F, Díaz Monroy B, Vinueza Veloz P. Estudio de la neosporosis en bovinos de la provincia de Chimborazo, Ecuador. revistaalfa [Internet]. 27 de junio de 2022 [citado 15 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://revistaalfa.org/index.php/revistaalfa/article/view/176>
38. Cruz Montenegro M. repositorio udla [Internet]. Dspace.udla.edu.ec. 2022 [citado 15 Agosto 2022]. Obtenido de: <https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/2807/8/UDLA-EC-TMVZ-2011-11.pdf>
39. Vargas Ramos K, Escobar Sarabia M. Comparación de Inmunofluorescencia Indirecta y ELISA para la determinación de anticuerpos contra Neospora caninum en sueros bovinos recolectados en fincas de las provincias de Pichincha, Bolívar y Santo Domingo de los Tsáchilas [Internet]. Repositorio.puce.edu.ec. 2022 [citado 15 de Agosto 2022]. Obtenido de: <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/10396>
40. Cajamarca Zurita M, Reyes Molina M. Determinación de la incidencia de sarcocistosis bovina en animales positivos a neosporosis, en trece haciendas ganaderas en Machachi, cantón Mejía. [Internet]. Repositorio.utc.edu.ec. 2022 [citado el 15 de Agosto 2022]. Obtenido de: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/818>
41. Cuenca Flores J. Determinación de la prevalencia de neosporosis bovina e identificación de la presencia de caninos como factor de riesgo en las ganaderías del cantón Loja [Internet]. Dspace.unl.edu.ec. 2022 [citado 15 de Agosto 2022]. Obtenido de: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/11902>
42. Inga RA. Neospora caninum – Parasitología [Internet]. Monografias.com. 2006 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <https://www.monografias.com/trabajos30/neospora-caninum/neospora-caninum>
43. Tuemmers C. Seroprevalencia de Neospora caninum en Bovinos de una Feria Ganadera de la Región de la Araucanía, Chile. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú [Internet]. 2017 Oct 11 [cited 2022 Aug 31]. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v28n3/a15v28n3.pdf>

44. Sumarioganadero. Neosporosis bovina - Agritotal [Internet]. www.agritotal.com. 2021 [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://www.agritotal.com/nota/neosporosis-bovina/>
45. Salinas E, Tavera F. NEOSPOROSIS COMO CAUSA DE ABORTO EN EL GANADO BOVINO [Internet]. 1996 Apr [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://www.fmvez.unam.mx/fmvez/cienciavet/revistas/CVvol7/CVv7c1.pdf>
46. Martín Rodríguez A. Neosporosis bovina en rodeos de cría bovina [Internet]. 2014 May [cited 2022 Sep 1]. Available from: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_-_neosporosis_bovina.pdf
47. HIPRA. Neosporosis bovina. Información sobre enfermedades animales [Internet]. Hipra. 2021 [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://www.hipra.com/portal/es/hipra/knowledge/bgdetail/bovine-neosporosis/bovine-neosporosis>
48. Piaggio J. ACTUALIZACIÓN EN NEOSPOROSIS [Internet]. 2019 Jul [cited 2022 Sep 1]. Available from: https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/20256/1/FVET_PiaggioJ_2007_Act.Neosporosis.PDF
49. Vargas K, Escobar M. Comparación de inmunofluorescencia indirecta y elisa para la determinación de anticuerpos contra neospora caninum en sueros [Internet]. 2011 Apr [cited 2022 Sep 1]. Available from: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/10396/TESIS-%20PUCE-Vargas%20Ramos%20Karla.pdf>
50. Universidad de la Salle. Identificación de neospora caninum en materia fecal de 60 caninos en hatos lecheros en el municipio El Rosal, Cundinamarca [Internet]. 2015 [cited 2022 Sep 1]. Available from: https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1103&context=medicina_veterinaria

51. Santana OI. Neospora caninum: Detección de ADN en sangre durante la primera gestación de vaquillas infectadas naturalmente. Veterinaria México [Internet]. 2010 Jun 1 [cited 2022 Sep 1]. Available from: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922010000200006
52. Gos ML. Evaluación de la presencia de anticuerpos anti-Toxoplasma gondii y anti-Neospora caninum en sueros caninos de la provincia de Buenos Aires mediante las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y aglutinación directa [Internet]. sedici.unlp.edu.ar. 2016 [cited 2022 Sep 1]. Available from: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/56164>
53. Jara J. Neosporosis en un rodeo de cría en el partido de Olavarría [Internet]. 2009 Jul [cited 2022 Sep 1]. Available from: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/714/Jara_vj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
54. Arauco Villar F. Dinámica de seroconversión de diarrea viral bovina y neosporosis en hatos lecheros de la sierra central del Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2022 Sep 1]. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172020000300053
55. Sánchez Negrette M. Detección de Neospora caninum en fetos bovinos abortados espontáneamente en el nordeste argentino. InVet [Internet]. 2010 Dec 1 [cited 2022 Sep 1]. Available from: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-34982010000200007
56. Serrano-Martínez E. Seroprevalencia de Neospora caninum en bovinos de Lima y comparación entre ELISA e IFI. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 2018 Sep 6.

57. da Silva Silveira C. Comparación de ELISAs comerciales para la detección de anticuerpos en la investigación diagnóstica del aborto asociado a *Neospora caninum* en rodeos lecheros de Uruguay. *Revista Argentina de Microbiología*. 2020 Apr;52(2):107–
58. Gob.ec. Solicitud de análisis de muestra de *Neospora Caninum* (ELISAI) | Ecuador - Guía Oficial de Trámites y Servicios [Internet]. www.gob.ec. 2020 [cited 2022 Sep 1]. Available from: <https://www.gob.ec/arcfz/tramites/solicitud-analisis-muestra-neospora-caninum-elisai>
59. Fernández JG, García F. Diagnóstico serológico de Neosporosis Bovina en fincas de la región de Tucacas, estado Falcón, Venezuela. *Zootecnia Tropical* [Internet]. 2013 Dec 1 [cited 2022 Sep 1]; 31(4):291–8. Available from: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692013000400003
60. Seco T. Microaglutinación en placa [Internet]. *VISAVET*. 2021 [cited 2022 Sep 6]. Available from: <https://www.visavet.es/es/microaglutinacion-en-placa/34=3504/>
61. Gómez Leyva B. Cepario autóctono de leptospiras en la prueba de micro - aglutinación. *Correo Científico Médico* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2022 Sep 6];22(1):50–65. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812018000100005
62. Armas M. Cepario autóctono de leptospiras en la prueba de micro-aglutinación. Cepario autóctono de leptospiras en la prueba de micro - aglutinación [Internet]. 2018 [cited 2022 Sep 6];22(1):50–65. Available from: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=81380>
63. Bañales P, Delucchi L, Easton C, Piaggio J. INIA Tacuarembó ENFERMEDADES QUE AFECTAN REPRODUCCION EN BOVINOS [Internet]. 2006 Apr [cited 2022 Sep 5]. Available from: https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/129-neosporosis-11.pdf
64. Odeón AC, Venturini MC, Campero CM. Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. *Revista argentina de microbiología* [Internet]. 2005 Dec 1 [cited 2022 Sep 5];37(4):217–28. Available from: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412005000400011

65. Cruz-Estupiñan S, Diaz-Anaya A, Bulla-Castañeda D, Garcia-Corredor D, Pulido-Medellín M, Cruz-Estupiñan S, et al. Diagnóstico serológico de *Neospora caninum* en vacas del municipio de Tuta, Boyacá. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2022 Sep 5];66(3):197–207. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-29522019000300197
66. Novoa MB. Diagnóstico y prevención de la neosporosis bovina. Desarrollo de técnicas serológicas y evaluación de inmunógenos basados en proteínas recombinantes. *Unleduar* [Internet]. 2020 May 22 [cited 2022 Sep 6]; Available from: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/handle/11185/5653>
67. CONTEXTO GANADERO. Así se previene la neospora caninum | CONtexto ganadero [Internet]. *Contextoganadero.com*. 2019 [cited 2022 Sep 6]. Available from: <https://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/asi-se-previene-la-neospora-caninum>
68. Parrado S. Prevención de la Neosporosis Bovina en Colombia. *Zoociencia* [Internet]. 2017 Dec 2 [cited 2022 Sep 6];3(2). Available from: <https://revistas.udca.edu.co/index.php/zoociencia/article/view/517>
69. Zufriategui JB. Neosporosis bovina: actualidad y avances en el diagnóstico y control. *wwwridaauniceneduar* [Internet]. 2019 Jun 27 [cited 2022 Sep 6]; Available from: <https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/handle/123456789/2031>
70. Tapia FB, Monroy BD, Veloz PV. Estudio de la neosporosis en bovinos de la provincia de Chimborazo, Ecuador. *Revista Alfa* [Internet]. 2022 Jun 27 [cited 2022 Sep 6];6(17):224–38. Available from: <https://revistaalfa.org/index.php/revistaalfa/article/view/176>
71. Cruz M. IDENTIFICACIÓN DEL PARASITO “NEOSPORA CANINUM” EN BOVINOS POR MEDIO DEL MÉTODO DE ELISA, EN LAS HACIENDAS GANADERAS DEL CANTÓN TULCÁN EN LA PROVINCIA DEL CARCHI [Internet]. *Cedia.edu.ec*. 2016 [cited 2022 Sep 6]. Available from: https://rrae.cedia.edu.ec/Record/UDLA_e7d03255f939fd596ab70c5cb0a5cd74
72. Vargas Ramos KV, Escobar Sarabia MD. Comparación de Inmunofluorescencia Indirecta y ELISA para la determinación de anticuerpos contra *Neospora caninum* en sueros bovinos recolectados en fincas de las provincias de Pichincha, Bolívar y Santo Domingo de los Tsáchilas. *Pontificia Universidad Católica del Ecuador* [Internet]. 2011 Aug 22 [cited 2022 Sep 5]; Available from: <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/10396>
73. Cajamarca Zurita MA, Reyes Molina MC. Determinación de la incidencia de sarcocistosis bovina en animales positivos a neosporosis, en trece haciendas ganaderas en Machachi, cantón Mejía. *repositorioutceduec* [Internet]. 2012 Jan 1 [cited 2022 Sep 6]; Available from: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/818?mode=full>

74. Bernardi C, Cueva M. Prevalencia de anticuerpos a Neospora caninum en hatos de bovinos lecheros en tres parroquias del cantón Cuenca, Ecuador. Maskana [Internet]. 2015 Jun 30 [cited 2022 Sep 6];6:213–4. Available from: <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/681>
75. Molina M. Estudios observacionales (I). Estudios transversales. Medidas de frecuencia. Técnicas de muestreo [Internet]. evidenciasenpediatria.es. 2013 [cited 2022 Sep 5]. Available from: <https://evidenciasenpediatria.es/articulo/6396/estudios-observacionales-i-estudios-transversales-medidas-de-frecuencia-tecnicas-de-muestreo>
76. Oña Asipuela WE. Determinación de Neospora Caninum en el cantón Cayambe: relación canino – bovino. www.dspace.uce.edu.ec [Internet]. 2015 Aug 25 [cited 2022 Sep 6]; Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6784?mode=full>
77. Osoro K, Tamargo C. Proyecto: La monta natural como vía de transmisión de la neosporosis bovina. Experimentación en campo. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario [Internet]. www.serida.org. 2009 [cited 2022 Sep 6]. Available from: <http://www.serida.org/proyectedetalle.php?id=218>
78. Feijóo Ullauri JA. Prevalencia de Neospora caninum en un hato de producción lechera en el Criadero Santa Catalina en el cantón Chambo. repositorioucsgeduec [Internet]. 2020 Mar 2 [cited 2022 Sep 6]; Available from: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/14721>

14. ANEXOS

Anexo N°1. Hoja de Vida – Docente Tutora

HOJA DE VIDA

1. DATOS PERSONALES

APELLIDOS Y NOMBRES: YUNGA VANESSA DEL ROSARIO

CÉDULA DE CIUDADANÍA O PASAPORTE: 1103758999

NACIONALIDAD: ecuatoriana

CIUDAD DE RESIDENCIA: Loja

PROVINCIA: Loja

DIRECCIÓN: Tucumán y Habana

TELÉFONO FIJO: 2614592

CELULAR: 0994963298

CORREO ELECTRÓNICO: vanherre9969@gmail.com

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: El Oro, Machala, 26/06/1984

AUTODETERMINACIÓN ÉTNICA: Mestiza

DISCAPACIDAD: NO

A CARGO DE FAMILIAR CON ENFERMEDAD: NO



2. INSTRUCCIÓN

TERCER NIVEL - PREGRADO			
IES	EQUIVALENCIA DE TÍTULO	ESPECIALIZACIÓN	N° REGISTRO SENESCYT (ECUADOR)
Universidad Nacional de Loja	pregrado	Médica Veterinaria Zootecnista	1008-10- 1019290
CUARTO NIVEL - POSGRADO (Maestría)			
IES	EQUIVALENCIA DE TÍTULO	ESPECIALIZACIÓN	N° REGISTRO SENESCYT (ECUADOR)
Universidad Autónoma de Barcelona	Maestría	Microbiología Aplicada	7297R-13-11148
Título de tesis	Immunotherapy treatments alternative bcg in the non-invasive bladder cancer		
<p>Immunotherapy with Bacillus Calmette-Guérin (BCG) instillation is recommended for high-risk, non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC). However, many patients become refractory to BCG, giving impetus to the development of alternative therapies. Thus, an overarching search of the literature was used to identify relevant studies to analyze alternatives that reduce toxicity BCG and improve their effectiveness. Findings and interpretation the search identified over 37 articles in total, 2 of other mycobacterial, 6 of the other microorganisms, 11 of purified antigens, 5 of CWS, and 13 of rBCG. It shown be more effectiveness that BCG. However, is necessary carry out more experiments in vivo in order to validate these assays.</p>			

TESIS DE PREGRADO				
INSTITUCIÓN	TÍTULO	NOMBRE DEL TITULADO	FECHA DE DEFENSA	ROL (DIRECTOR/CODIRECTOR/LECTOR)
ESPOCH	"Aplicación de la Técnica Famacha para el diagnóstico Parasitológico de los Bovinos de la Hacienda "Mahanaim" del cantón Sucúa	Diego Iván Aucay Calle	25/07/2017	Asesora
TESIS DE MAESTRÍA DE INVESTIGACIÓN				
INSTITUCIÓN	TÍTULO	NOMBRE DEL TITULADO	FECHA DE DEFENSA	ROL (DIRECTOR/CODIRECTOR/LECTOR)
Universidad de Guayaquil	"ANÁLISIS MOLECULAR DE GENES ENTEROTOXIGÉNICOS DE Staphylococcus aureus EN QUESOS ARTESANALES DE LA CIUDAD DE LOJA"	Andrea Torres Gualán	06-2016	Tutor
Universidad de Guayaquil	"GENES DE VIRULENCIA DE Pseudomonas aeruginosa EN HOSPITALES DE LA CIUDAD DE LOJA"	Freddy Castillo Solano	03-2017	Tutor

DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este resumen son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad. Acepto ser excluido en caso de comprobar falsedad o inexactitud en alguna de sus partes, y me sujeto a las normas establecidas por la Institución y otras disposiciones legales vigentes.

Nombre del aspirante: Vanessa del Rosario Herrera Yunga

Firma



Anexo N°2. Hoja de Vida – Autor



HOJA DE VIDA

1.- Datos Personales:

Nombre:	TASHIGUANO	ALVARADO	ANTHONY MIGUEL
	<small>Apellido Paterno</small>	<small>Apellido Materno</small>	<small>Nombres</small>
Lugar y fecha de Nacimiento:	Pichincha 26 septiembre de 1998		
Edad:	23 años	Género:	Masculino
Nacionalidad:	Ecuatoriana	Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros):	
Dirección Domiciliaria:	Pichincha	Mejía	
Machachi	<small>Provincia</small>	<small>Cantón</small>	<small>Parroquia</small>
Av. Luis Cordero y Princesa Toa			
Teléfono(s):	-	<small>Dirección</small>	0999265464
	<small>Convencionales</small>		<small>Celular o Móvil</small>
Correo electrónico:	anthony.tashiguano4843@utc.edu.ec		1754414843
		Cédula de Identidad o Pasaporte:	
Tipo de sangre:	O+	Estado Civil:	Soltero
Personas con discapacidad: N.º de carné del CONADIS:			

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

Nivel de Instrucción	Nombre de la Institución Educativa	Título Obtenido	Número de Registro SENESCYT	Lugar (País y ciudad)
Bachillerato	Colegio Técnico Agropecuario "Genoveva German"	Bachillerato Técnico en Explotaciones Pecuarias		Ecuador

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.

Firma del estudiante

Anexo N°3. Hoja de Vida – Autor



HOJA DE VIDA

1.- Datos Personales:

Nombre:	VELOZ	GUACAPIÑA	DERYAN EDUARDO
	Apellido Paterno	Apellido Materno	Nombres
Lugar y fecha de Nacimiento:	Machachi 03 de octubre 1998		
Edad:	23 años	Género:	Masculino
Nacionalidad:	Ecuatoriana	Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros):	
Dirección Domiciliaria:	Pichincha	Mejía	Machachi
	Provincia	Cantón	Parroquia
	Av. Fernández Salvador y Pérez Pareja		
Teléfono(s):	-	Dirección	0995735805
	Convencionales		Celular o Móvil
Correo electrónico:	deryan.veloz4725@utc.edu.ec	1752954725	
		Cédula de Identidad o Pasaporte:	
Tipo de sangre:	O+	Estado Civil:	soltero
Personas con discapacidad: N.º de carné del CONADIS:			

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

Nivel de Instrucción	Nombre de la Institución Educativa	Título Obtenido	Número de Registro SENESCYT	Lugar (País y ciudad)
Bachillerato	Unidad Educativa "Machachi"	Bachillerato General Unificado		Ecuador

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.

Firma del estudiante

Anexo N°4 Materiales para la colecta de muestras



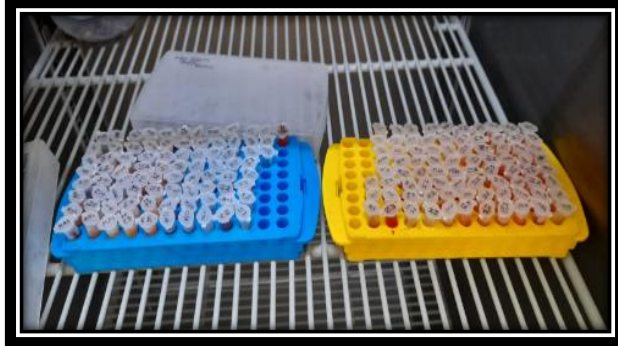
Anexos N° 5 Colecta de muestras



Anexo N°6 Proceso de extraer el suero de la sangre



Anexo N°7 Proceso de congelación a -20° C



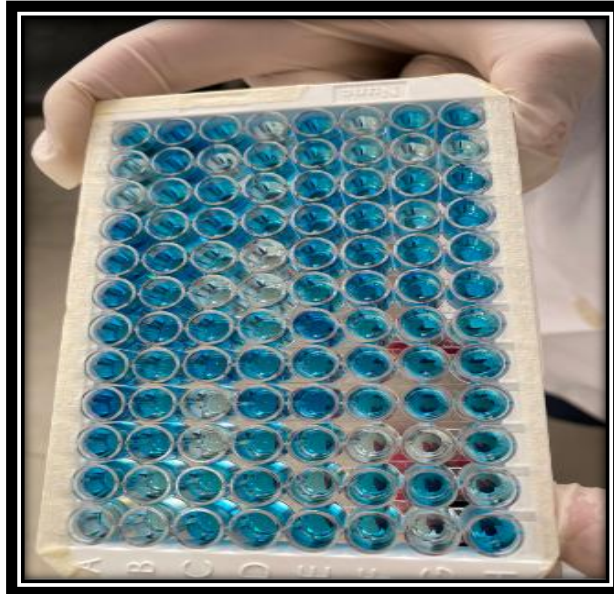
AnexoN°8 Preparación para realizar el test ELISA-c



Anexo N°9 Uso de pipeta multicanal



Anexo N°10 Placas con pocillos ya tinsionados



Anexo N°11 Lectura de la placa



Anexo N°12 Materiales



Anexo N° 13 Manual del Kit de *Neospora*

Calculation of % Inhibition (% I):

$$\% I = 100 [1 - (\text{Sample OD} \div \text{NC OD})]$$

Test Validation

- The mean of the **Negative Controls** must produce an optical density ≥ 0.30 and < 2.50 .
- The mean of the **Positive Controls** must have an inhibition of $\geq 30\%$.

Interpreting the Results

- If a test sample produces $\geq 30\%$ inhibition, it is positive.
- If a test sample produces $< 30\%$ inhibition, it is negative.

Precautions

Kit components should be handled and disposed of as potentially hazardous. Do not eat, drink, or smoke where serum samples and kit reagents are handled. Do not pipette by mouth. Some reagents may be harmful if ingested. If ingested, seek medical attention. Do not use expired or contaminated reagents, or reagents from other kits or serials. Do not mix reagents from different serials of this same product.

Component B, Positive Control, contains sodium azide as a preservative.

Component C, Negative Control, contains sodium azide as a preservative.

Component D, 100X Antibody-Peroxidase Conjugate, contains ProClin 300, methylisothiazolone, bromonitrodioxane, and thimerosal as preservatives.

Component E, Conjugate Diluting Buffer, contains ProClin 300 as a preservative.

Component H, Stop Solution, contains sodium fluoride.

USDA Veterinary License No. 332

Version 161003

vmrd Veterinary Medical
Research & Development

FOR VETERINARY USE ONLY
USDA Product Code 5N03.331

NEOSPORAS CANINUM ANTIBODY TEST KIT, cELISA

Assay instructions for catalog number: 280-2

General Description

This competitive, enzyme-linked, immunosorbent assay (cELISA) detects antibodies to *Neospora caninum* in bovine sera. Sample serum *N. caninum* antibody inhibits binding of horseradish peroxidase (HRP)-labeled *N. caninum* specific monoclonal antibody to *N. caninum* antigen coated on the plastic wells of the microtiter plate. Binding of the HRP-labeled monoclonal antibody conjugate is detected by the addition of enzyme substrate and quantified by subsequent color product development. Strong color development indicates little or no blockage of HRP-labeled monoclonal antibody binding and therefore the absence of *N. caninum* antibody in sample sera. Weak color development due to inhibition of the monoclonal antibody binding to the antigen on the solid phase indicates the presence of *N. caninum* antibodies in sample sera.

Kit Contents

Component	Quantity
A Antigen-Coated Plates	2 plates
B Positive Control	3.6 ml
C Negative Control	3.6 ml
D 100X Antibody-Peroxidase Conjugate	0.3 ml
E Conjugate Diluting Buffer	30 ml
F 10X Wash Solution Concentrate	120 ml
G Substrate Solution	30 ml
H Stop Solution	30 ml
Instructions for Use	

Materials Required But Not Included in the Test Kit

Single and multichannel adjustable-volume pipettors and disposable plastic tips, non-antigen-coated transfer plate(s), ELISA microplate absorbance spectrophotometer with 620, 630 or 650 nm filter, deionized or distilled water, paper towels, graduated cylinder, timer, multichannel pipettor reservoirs, wash bottle, manual multichannel washing device or automatic plate washer

Storage and Stability

Store all reagents at 2-7°C. Do not freeze. Reagents will remain stable until the expiration date when stored as instructed. Do not use test kit past the expiration date.

Preparation

- Warm reagents: Bring the serum samples, reagents and plate(s) to room temperature ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) prior to starting the test.
- Prepare plates: Remove the plate(s) from the foil pouch(es) (A). If applicable: Return any unused strips to the pouch and securely seal it. Place strips to be used in the frame and number the top of each strip to maintain orientation. Always mark the strips in case they dislodge from the frame during washing.
- Prepare conjugate: Prepare 1X Antibody-Peroxidase Conjugate by diluting 1 part of the 100X Antibody-Peroxidase Conjugate (D) with 99 parts of Conjugate Diluting Buffer (E). Example: For 96 wells, mix 60 μl of 100X Antibody-Peroxidase Conjugate (D) with 5.940 ml of Conjugate Diluting Buffer (E) to yield 6 ml of 1X Antibody-Peroxidase Conjugate. Fifty microliters (50 μl) are needed per well. Allow extra quantity for reservoirs, tubing, pipetting, etc.
- Prepare wash solution: Prepare 1X Wash Solution by diluting 1 part of the 10X Wash Solution Concentrate (F) with 9 parts of deionized or distilled water. Approximately 1.5 ml are needed per well. Allow extra quantity for reservoirs, tubing, pipetting, etc.

Test Procedure

- Load controls and serum samples: Positive and Negative Controls are provided READY-TO-USE. Load Positive Control (B) and Negative Control (C) in duplicate, regardless of the number of serum samples to be tested. When whole plates are used, it is best to put the controls in wells on different areas of the plate. The controls must be loaded every time the assay is performed and on each plate if multiple plates are used. Serum samples are tested UNDILUTED. Using a pipettor set at 50 μl , load controls and serum samples into the Antigen-Coated Plate (A). Serum samples and controls should be loaded into the Antigen-Coated Plate (A) as quickly as possible. When running more than two strips, we recommend that the serum samples and controls be first loaded into a transfer plate and then transferred to the Antigen-Coated Plate (A) using multi-channel pipetting equipment. The sample volume in the transfer plate must be in excess of 50 μl in order to transfer 50 μl from it. Tap the side of the Antigen-Coated Plate (A) several times to make sure the samples

coat the bottom of the wells. Use care not to spill samples from well to well. Incubate the plate 1-hour at room temperature ($23 \pm 2^\circ\text{C}$).

- Wash wells: After the 1-hour incubation, wash the plate 3 times:
 - If an automatic washer is used, place the plate on the washing apparatus and wash plate 3 times, filling the wells each time with 1X Wash Solution.
 - If manual washing is used, dump well contents and remove remaining sera and controls by sharply striking the inverted plate 4 times on a clean paper towel, striking a clean area each time. Immediately fill each well with 1X Wash Solution using a multichannel filling device or a wash bottle. Empty the wash solution from the plate and strike the inverted plate sharply on a clean paper towel as above. Fill and empty the plate by the same method 2 additional times for a total of 3 washes.
- Add conjugate: Add 50 μl of diluted (1X) Antibody-Peroxidase Conjugate (D) to each well. Tap the side of the loaded assay plate several times to make sure the conjugate coats the bottom of the wells. Incubate for an additional 20 minutes at room temperature ($23 \pm 2^\circ\text{C}$).
- Wash wells: After the 20-minute incubation, wash the plate 3 times as in Step 2.
- Add substrate solution: Add 50 μl of Substrate Solution (G) to each well. Tap the side of the loaded assay plate several times to make sure the substrate coats the bottom of the wells. Incubate 20 minutes at room temperature ($23 \pm 2^\circ\text{C}$). Avoid leaving the plate in direct sunlight. Do not empty wells.
- Add stop solution: Add 50 μl of Stop Solution (H) to each well. Tap the side of the loaded assay plate several times to mix the Substrate Solution and the Stop Solution. Do not empty wells.
- Read and record the test results: Immediately after adding the Stop Solution, the plate should be read on a microplate absorbance spectrophotometer. Set the optical density (OD) reading wavelength to 620, 630 or 650 nm. Some readers require an empty well on the plate for blanking. In this case, no reagents should be added to this well.
- Return all remaining kit reagents to 2-7°C for storage.

vmrd Veterinary Medical
Research & Development

PO Box 502
Pullman, WA 99163 USA

P: 509.334.5815
F: 509.332.5356

techserv@vmrd.com
www.vmrd.com

Anexo N° 14 Encuesta empleada a los propietarios.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

MEDICINA VETERINARIA

FICHA Y ENCUESTA DE TOMA DE MUESTRA DATOS DEL PROPIETARIO

Nombre del propietario: _____ Lugar: _____

Fecha: _____ Total número de animales: () bovinos DATOS DEL ANIMAL

Nombre: _____ Raza: _____ Edad: _____

Desparasitados: _____ Código: _____ Presencia de abortos: _____

A qué mes de gestación: _____ Vacunado: _____ vacunas _____

ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA SOBRE NEOSPOROSIS

1. ¿Qué edad tienen las vacas? _____
2. ¿Cuántos partos tienen las vacas? _____
3. ¿Cuál es el método de producción en sus establecimientos? () semi intensivo () traspatio
4. ¿Cuál es el método de reproducción? () Inseminación Artificial () Monta Natural
5. ¿Existe la presencia de perros en el predio? () Sí () No
6. ¿Los perros pasan en contacto directo con los bovinos? () Sí () No
7. ¿Con qué frecuencia desparasita a sus perros? () Trimestral () Semestral () Anual
8. ¿Ha tenido problemas de abortos con las vacas que ha tenido? () Sí () No
9. ¿En qué período de gestación han abortado las vacas? () No abortan () Primer tercio () Segundo tercio () Tercer tercio
10. ¿Cuál es el destino de los fetos y placentas de los abortos? () Consume () Entierra () incinera () bota a la basura () deja a la intemperie () comen los perros
11. ¿Cree usted que es necesario realizar exámenes de laboratorio a los bovinos en caso de presentar síntomas de enfermedades reproductivas? () Sí () No
12. ¿Con el estudio realizado de la Neosporosis en bovinos cree usted que existe un beneficio para el productor? () SI () NO porque

Anexo N° 15 Resultados Cantón Pangua.

Resultados en el Canton Pangua											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	0,269	1,143	1,212	0,504	1,159	1,529	0,52	0,409	0,739	1,101	0,702
B	0,261	0,319	0,459	1,091	0,589	0,981	0,908	0,683	1,293	1,212	1,137
C	0,586	0,468	0,426	0,683	0,971	1,035	0,846	1,371	0,483	0,516	1,054
D	0,428	1,007	0,445	0,398	0,907	0,725	0,83	0,578	0,817	0,924	0,998
E	1,17	0,793	0,398	0,581	1,028	0,279	0,768	0,853	0,836	0,449	0,816
F	0,774	0,722	0,905	0,999	0,369	0,977	0,467	0,885	0,774	0,754	1,198
G	0,753	1,078	0,91	1,273	0,599	0,995	0,538	1,229	0,554	1,009	1,001
H	0,566	0,505	0,634	0,471	0,432	0,637	0,928	0,681	0,827	0,716	1,54

Well ID	Name	Well		SPL31	0,971	1	N	SPL62	1,293	1	N
CTL1	A1	0,568		SPL32	0,907	1	P	SPL63	0,483	1	N
	B1	0,549		SPL33	1,028	1	N	SPL64	0,817	1	P
CTL2	C1	1,526		SPL34	0,369	1	N	SPL65	0,836	1	P
	D1	1,55		SPL35	0,599	1	N	SPL66	0,774	1	N
SPL5	1,143	1	N	SPL36	0,432	1	N	SPL67	0,554	1	P
SPL6	0,319	1	N	SPL37	1,529	1	N	SPL68	0,827	1	N
SPL7	0,468	1	N	SPL38	0,981	1	P	SPL69	1,101	1	N
SPL8	1,007	1	P	SPL39	1,035	1	P	SPL70	1,212	1	N
SPL9	0,793	1	N	SPL40	0,725	1	P	SPL71	0,516	1	P
SPL10	0,722	1	P	SPL41	0,279	1	N	SPL72	0,924	1	N
SPL11	1,078	1	P	SPL42	0,977	1	N	SPL73	0,449	1	N
SPL12	0,505	1	N	SPL43	0,995	1	N	SPL74	0,754	1	N
SPL13	1,212	1	N	SPL44	0,637	1	N	SPL75	1,009	1	P
SPL14	0,459	1	N	SPL45	0,52	1	P	SPL76	0,716	1	N
SPL15	0,426	1	N	SPL46	0,908	1	N	SPL77	0,702	1	P
SPL16	0,445	1	P	SPL47	0,846	1	N	SPL78	1,137	1	N
SPL17	0,398	1	N	SPL48	0,83	1	N	SPL79	1,054	1	N
SPL18	0,905	1	P	SPL49	0,768	1	P	SPL80	0,998	1	N
SPL19	0,91	1	P	SPL50	0,467	1	N	SPL81	0,816	1	N
SPL20	0,634	1	P	SPL51	0,538	1	N	SPL82	1,198	1	N
SPL21	0,504	1	P	SPL52	0,928	1	N	SPL83	1,001	1	N
SPL22	1,091	1	N	SPL53	0,409	1	N	SPL84	1,54	1	N
SPL23	0,683	1	N	SPL54	0,683	1	P	SPL85	0,893	1	N
SPL24	0,398	1	N	SPL55	1,371	1	P	SPL86	0,685	1	N
SPL25	0,581	1	P	SPL56	0,578	1	N	SPL87	0,967	1	N
SPL26	0,999	1	N	SPL57	0,853	1	P	SPL88	1,03	1	N
SPL27	1,273	1	N	SPL58	0,885	1	N	SPL89	0,332	1	N
SPL28	0,471	1	P	SPL59	1,229	1	N	SPL90	1,602	1	P
SPL29	1,159	1	P	SPL60	0,681	1	P	SPL91	0,903	1	N
SPL30	0,589	1	N	SPL61	0,739	1	N	SPL92	1,498	1	N

Anexo N° 16 Resultados Cantón Pujilí.

Resultados del canton Pujilí												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,568	0,79	1,232	1,643	1,682	1,593	1,542	0,424	1,481	1,762	1,501	1,826
B	0,549	1,436	1,978	0,388	1,623	1,564	1,144	0,449	0,753	1,724	0,908	0,469
C	1,526	0,453	1,721	1,185	1,943	1,574	1,539	0,379	1,053	1,796	0,43	1,547
D	1,55	1,588	1,639	1,633	1,563	1,545	0,341	1,34	1,337	0,565	1,587	1,501
E	1,485	1,525	0,332	1,71	1,523	1,54	1,466	1,544	1,507	1,559	0,898	0,641
F	1,126	1,448	1,093	0,908	1,618	1,357	0,436	1,348	0,49	1,378	1,802	1,65
G	1,869	1,461	0,426	1,606	1,383	1,534	1,473	1,688	1,143	1,684	1,549	1,925
H	1,319	1,585	0,503	1,869	1,364	1,795	1,732	0,508	1,457	1,65	0,868	1,79

Well ID	Name	Well		SPL30	B5	1,623	N	SPL64	D9	1,337	N
CTL1	A1	0,568		SPL31	C5	1,943	N	SPL65	E9	1,507	N
	B1	0,549		SPL32	D5	1,563	N	SPL66	F9	0,49	N
CTL2	C1	1,526		SPL33	E5	1,523	N	SPL67	G9	1,143	N
	D1	1,55		SPL34	F5	1,618	N	SPL68	H9	1,457	N
SPL1	E1	1,485	N	SPL35	G5	1,383	N	SPL69	A10	1,762	P
SPL2	F1	1,126	N	SPL36	H5	1,364	N	SPL70	B10	1,724	N
SPL3	G1	1,869	N	SPL37	A6	1,593	N	SPL71	C10	1,796	N
SPL4	H1	1,319	N	SPL38	B6	1,564	N	SPL72	D10	0,565	N
SPL5	A2	0,79	N	SPL39	C6	1,574	N	SPL73	E10	1,559	N
SPL6	B2	1,436	N	SPL40	D6	1,545	N	SPL74	F10	1,378	N
SPL7	C2	0,453	P	SPL41	E6	1,54	N	SPL75	G10	1,684	N
SPL8	D2	1,588	N	SPL42	F6	1,357	N	SPL76	H10	1,65	P
SPL9	E2	1,525	N	SPL43	G6	1,534	N	SPL77	A11	1,501	N
SPL10	F2	1,448	N	SPL44	H6	1,795	N	SPL78	B11	0,908	N
SPL11	G2	1,461	N	SPL45	A7	1,542	N	SPL79	C11	0,43	N
SPL12	H2	1,585	N	SPL46	B7	1,144	P	SPL80	D11	1,587	N
SPL13	A3	1,232	N	SPL47	C7	1,539	N	SPL81	E11	0,898	N
SPL14	B3	1,978	N	SPL48	D7	0,341	P	SPL82	F11	1,802	P
SPL15	C3	1,721	N	SPL49	E7	1,466	N	SPL83	G11	1,549	N
SPL16	D3	1,639	N	SPL50	F7	0,436	N	SPL84	H11	0,868	N
SPL17	E3	0,332	P	SPL51	G7	1,473	P	SPL85	A12	1,826	P
SPL18	F3	1,093	N	SPL52	H7	1,732	P	SPL86	B12	0,469	N
SPL19	G3	0,426	P	SPL53	A8	0,424	P	SPL87	C12	1,547	N
SPL20	H3	0,503	P	SPL54	B8	0,449	N	SPL88	D12	1,501	N
SPL21	A4	1,643	N	SPL55	C8	0,379	N	SPL89	E12	0,641	N
SPL22	B4	0,388	P	SPL56	D8	1,34	N	SPL90	F12	1,65	N
SPL23	C4	1,185	N	SPL57	E8	1,544	N	SPL91	G12	1,925	N
SPL24	D4	1,633	N	SPL58	F8	1,348	P	SPL92	H12	1,79	N
SPL25	E4	1,71	N	SPL59	G8	1,688	N				
SPL26	F4	0,908	N	SPL60	H8	0,508	N				
SPL27	G4	1,606	N	SPL61	A9	1,481	N				
SPL28	H4	1,869	N	SPL62	B9	0,753	N				
SPL29	A5	1,682	N	SPL63	C9	1,053	P				

Anexo N° 17 Resultados Cantón Saquisilí

Resultados Cantón Saquisilí												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1,939	1,369	1,905	1,705	1,599	2,143	1,704	0,6	1,595	1,267	2,139	0,293
B	1,965	1,559	1,516	2,102	1,881	1,591	1,952	0,423	1,927	1,377	1,538	1,397
C	1,972	1,424	0,703	2,007	1,297	1,763	1,709	0,629	1,444	1,427	1,834	1,364
D	1,867	1,24	0,351	2,254	1,8	2,089	1,694	1,034	0,331	1,047	1,612	1,575
E	1,736	1,539	1,664	2,112	1,937	0,593	0,359	1,788	0,975	0,556	0,951	0,469
F	1,407	1,459	1,502	1,737	1,234	1,702	1,875	1,443	1,885	1,047	1,604	0,494
G	1,958	1,67	0,535	1,813	1,063	1,516	1,663	1,365	1,381	1,541	1,91	1,537
H	1,732	0,445	2,04	1,983	1,343	0,461	1,458	1,74	1,621	1,484	1,714	0,659

Well ID	Well	650		SPL30	B5	1,881	N	SPL64	D9	0,331	N
CTL1	A1	1,939		SPL31	C5	1,297	N	SPL65	E9	0,975	N
	B1	1,965		SPL32	D5	1,8	N	SPL66	F9	1,885	N
CTL2	C1	1,972		SPL33	E5	1,937	N	SPL67	G9	1,381	N
	D1	1,867		SPL34	F5	1,234	N	SPL68	H9	1,621	N
SPL1	E1	1,736	N	SPL35	G5	1,063	N	SPL69	A10	1,267	P
SPL2	F1	1,407	N	SPL36	H5	1,343	P	SPL70	B10	1,377	N
SPL3	G1	1,958	N	SPL37	A6	2,143	N	SPL71	C10	1,427	N
SPL4	H1	1,732	N	SPL38	B6	1,591	N	SPL72	D10	1,047	N
SPL5	A2	1,369	N	SPL39	C6	1,763	P	SPL73	E10	0,556	N
SPL6	B2	1,559	N	SPL40	D6	2,089	N	SPL74	F10	1,047	N
SPL7	C2	1,424	N	SPL41	E6	0,593	N	SPL75	G10	1,541	N
SPL8	D2	1,24	N	SPL42	F6	1,702	N	SPL76	H10	1,484	P
SPL9	E2	1,539	N	SPL43	G6	1,516	N	SPL77	A11	2,139	N
SPL10	F2	1,459	N	SPL44	H6	0,461	P	SPL78	B11	1,538	N
SPL11	G2	1,67	N	SPL45	A7	1,704	N	SPL79	C11	1,834	N
SPL12	H2	0,445	P	SPL46	B7	1,952	N	SPL80	D11	1,612	P
SPL13	A3	1,905	N	SPL47	C7	1,709	N	SPL81	E11	0,951	N
SPL14	B3	1,516	N	SPL48	D7	1,694	P	SPL82	F11	1,604	N
SPL15	C3	0,703	P	SPL49	E7	0,359	P	SPL83	G11	1,91	N
SPL16	D3	0,351	P	SPL50	F7	1,875	P	SPL84	H11	1,714	P
SPL17	E3	1,664	N	SPL51	G7	1,663	N	SPL85	A12	0,293	P
SPL18	F3	1,502	N	SPL52	H7	1,458	N	SPL86	B12	1,397	N
SPL19	G3	0,535	P	SPL53	A8	0,6	N	SPL87	C12	1,364	P
SPL20	H3	2,04	N	SPL54	B8	0,423	N	SPL88	D12	1,575	P
SPL21	A4	1,705	N	SPL55	C8	0,629	N	SPL89	E12	0,469	N
SPL22	B4	2,102	N	SPL56	D8	1,034	N	SPL90	F12	0,494	P
SPL23	C4	2,007	N	SPL57	E8	1,788	N	SPL91	G12	1,537	N
SPL24	D4	2,254	N	SPL58	F8	1,443	N	SPL92	H12	0,659	N
SPL25	E4	2,112	N	SPL59	G8	1,365	N				
SPL26	F4	1,737	N	SPL60	H8	1,74	P				
SPL27	G4	1,813	N	SPL61	A9	1,595	N				
SPL28	H4	1,983	N	SPL62	B9	1,927	N				
SPL29	A5	1,599	N	SPL63	C9	1,444	N				

Firma de validación de datos

Tutor de Tesis:



El modo electrónico por:
VANESSA DEL
ROGARIO HERRERA
YUNGA

Anexo N° 18 Aval de Traducción

CENTRO
DE IDIOMAS*AVAL DE TRADUCCIÓN*

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que:

La traducción del resumen al idioma Inglés del proyecto de investigación cuyo título versa: **“ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE *Neospora caninum* EN HEMBRAS BOVINAS DE TRASPATIO EN LOS CANTONES PANGUA, PUJILÍ Y SAQUISILÍ DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”** presentado por: **Anthony Miguel Tashiguano Alvarado y Deryan Eduardo Veloz Guacapiña**, egresados de la Carrera de: **Medicina Veterinaria**, perteneciente a la **Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, lo realizaron bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a los peticionarios hacer uso del presente aval para los fines académicos legales.

Latacunga, 09 de septiembre de 2022

Atentamente,



Lic. Edison Marcelo Pacheco Pruma, Mg
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS-UTC
CI: 0520617350

