



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

MODALIDAD: PROYECTO DE DESARROLLO

Título:

**Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos en el cantón
Guamote.**

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de magister en Ciencias
Veterinarias

Autor:

Guamán Ramírez Maira Alexandra

Tutor:

Quishpe Mendoza Xavier Dr. Mg.

LATACUNGA –ECUADOR

2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación “Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos en el cantón Guamote.” presentado por Guamán Ramírez Maira Alexandra, para optar por el título Magíster en Ciencias Veterinarias.

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y se considera que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación para la valoración por parte del Tribunal de Lectores que se designe y su exposición y defensa pública.

Latacunga, septiembre, 30, 2022



Dr. Xavier Cristóbal Quispe Mendoza, Mg
CC: 0501880132

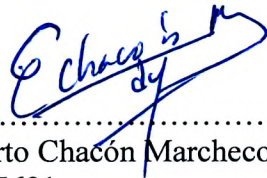
APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación: “Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos en el cantón Guamote.” ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, previo a la obtención del título de Magíster en Ciencias Veterinarias; el presente trabajo reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la exposición y defensa.

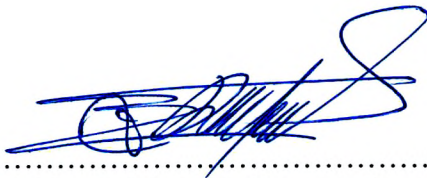
Latacunga, noviembre, 15, 2022



.....
MSc. Blanca Mercedes Toro Molina
CC: 0501720999
Presidente del tribunal



.....
PhD. Edilberto Chacón Marcheco
CC: 1756985691
Lector 2



.....
MSc. Nancy Margoth Cueva Salazar
CC: 0501616353
Lector 3

DEDICATORIA

El presente trabajo investigativo lo dedico principalmente a Dios, por ser el inspirador y darme fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A toda mi familia que me apoyaron y estuvieron en los momentos malos y en los menos malos. Gracias por enseñarme a afrontar las dificultades.

También quiero dedicarle este trabajo a mi esposo Jorge. Por tu paciencia, por tu comprensión, por tu empeño, por tu fuerza, por tu amor. Realmente, el me ayuda a alcanzar el equilibrio que me permite dar todo mi potencial nunca dejaré de estar agradecida por esto.

Dedico este trabajo a mis hijos Andrés y David. Sin duda ellos son lo mejor que me ha pasado. A todas las personas que me han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito.

Maira Alexandra

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por bendecirme la vida, por guiarme a lo largo de este camino, por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a toda mi familia, por confiar, por los consejos, valores y principios que me han inculcado. A mi esposo Jorge y a mis hijos Andrés y David por su paciencia, amor y comprensión. Los amo.


Agradezco a los docentes de la Universidad Técnica de Cotopaxi, por haber compartido sus conocimientos, de manera especial, al Dr. Xavier Cristóbal Quishpe Mendoza, Mg tutor de este proyecto de investigación quien ha guiado con su paciencia, y su rectitud como docente, y a los productores del cantón Guamote por su valioso aporte para esta investigación.

Maira Alexandra

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Quien suscribe, declara que asume la autoría de los contenidos y los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación.

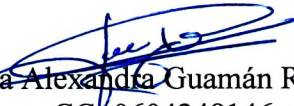
Latacunga, septiembre, 28, 2022


Maira Alexandra Guamán Ramírez
CC: 0604248146

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de autoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, septiembre, 28, 2022


Maira Alexandra Guamán Ramírez
CC: 0604248146

AVAL DEL VEEDOR

Quien suscribe, declara que el presente Trabajo de Titulación: “Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos en el cantón Guamote.” contiene las correcciones a las observaciones realizadas por los lectores en sesión científica del tribunal.

Latacunga, noviembre, 15, 2022



.....
MSc. Blanca Mercedes Toro Molina
CC: 0501720999

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

TITULO: "Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos en el Cantón Guamote "

Autor: Guamán Ramírez Maira Alexandra

Tutor: Xavier Cristóbal Quishpe Mendoza,
Mg

RESUMEN

La *Neospora caninum* es un protozoo que afecta a los hatos ganaderos a nivel reproductivo teniendo como hospedadores definitivos a los caninos. Este protozoo es capaz de causar desde abortos hasta teneros mal formados. La presente investigación tiene como objetivo determinar la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos del cantón Guamote (Matriz, Cebadas y Palmira). Para ello, 5 ml de muestras de sangre fueron tomadas de la vena yugular de 184 bovinos hembra para su posterior análisis mediante la prueba de ELISA indirecto. Después, a través de la prueba estadística chi-cuadrado se analizaron la significancia y la correlación existente entre las variables (edad, raza y altura) y la presencia de *Neospora caninum*. Los resultados mostraron que de las 184 vacas un total de 28 casos son positivos a Neospora, lo que representa, una prevalencia del 15.22%. El 4.89% de la prevalencia según la edad corresponde a hembras de 5 años, siendo la edad con mayores casos positivos; de acuerdo con la raza se observó que la mayoría de los casos infectados corresponden a la raza Jersey con 13 animales positivos lo que representa el 7.07% de prevalencia de *Neospora caninum*; en cuanto a la altura a la que se encuentran cada animal, el 8.70% de prevalencia se encuentran en una altura de 2750 a 3000 msnm. Finalmente, en base a los resultados obtenidos, se demuestra la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos en el cantón Guamote, sin embargo, en ninguna de las variables en estudio se encontró diferencias significativas, es decir, la raza, edad y altura no tienen relación con la presencia de la enfermedad. Adicionalmente, se plantea un plan sanitario para prevenir y controlar la Neosporosis y se recomienda la aplicación del plan propuesto a nivel cantonal, puesto que incluye varias acciones a tomar para prevenir y controlar la Neosporosis en los hatos ganaderos.

PALABRAS CLAVES: Prevalencia, *Neospora caninum*, neosporosis, abortos, bovinos lecheros.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

TITLE: Prevalence of *Neospora caninum* in cattle in Guamote

Author: Guamán Ramírez Maira Alexandra

Tutor: Xavier Cristóbal Quishpe Mendoza, Mg

ABSTRACT

The *Neospora caninum* is a protozoan that affects cattle herds at the reproductive level, having as definitive hosts the canines. This protozoan can cause abortions to have poorly formed baby cows. This research aims to determine the prevalence of *Neospora caninum* in cattle in the Guamote (Matriz, Cebadas, and Palmira). To do this, 5 ml of blood samples were taken from the jugular vein of 184 female cattle for further analysis using the indirect ELISA test. Then, through the chi-square statistical test, the significance and correlation between the variables (age, race, and altitude) and the presence of *Neospora caninum* were analyzed. The results showed that 28 out of 184 cows are positive for *Neospora*, which represents a prevalence of 15.22%. 5% of the prevalence, according to age, corresponds to females of 5 years, being the age with the most positive cases; according to the breed, it was observed that the most infected cases correspond to the Jersey breed with 13 positive animals which represent 7.07% prevalence of *Neospora caninum*; as for the altitude at which each animal is, 8.7% of prevalence are at 2750 to 3000 m.a.s.l. Finally, based on the results obtained, the prevalence of *Neospora caninum* in cattle in Guamote was demonstrated, however, none of the variables studied were significant differences. In other words, race, age, and altitude are not related to the presence of the disease. In addition, a health plan to prevent and control Neosporosis is proposed, and its implementation at a cantonal level is recommended since it includes several actions to be taken to prevent and control Neosporosis in herds.

KEYWORDS: Prevalence, *Neospora caninum*, neosporosis, abortions, dairy cattle.

Mayra Fernanda Guayanlema Basantes, con cédula de identidad número 0603913047 Licenciada en: Ciencias de la Educación Profesora en Lenguas Ingles, con número de registro de la SENESCYT 1019-09-881667; **CERTIFICO** haber revisado y aprobado la traducción al idioma inglés del resumen del trabajo de investigación con el título “Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos en el cantón Guamote.”, de Maira Alexandra Guamán Ramírez, aspirante a magister en Ciencias Veterinarias.

Latacunga, septiembre, 28, 2022



Mayra Fernanda Guayanlema Basantes
C.I: 0603913047

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación.....	2
1.2 Planteamiento del problema	3
1.3 Hipótesis.....	4
1.4 Objetivos de la investigación.....	5
1.4.1 Objetivo General.....	5
1.4.2 Objetivos Específicos	5
CAPITULO II.....	6
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	6
2.1 <i>Neospora caninum</i>	6
2.1.1 Etiología.....	6
2.1.2 Clasificación taxonómica de <i>Neospora caninum</i>	6
2.1.3 Clasificación de <i>Neospora caninum</i>	7
2.1.4 Ciclo de vida de <i>N. caninum</i>	7
2.2 Morfología de <i>N. caninum</i>	10
2.2.1 Taquizoitos.....	10
2.2.2 Quistes tisulares	11
2.2.3 Ooquiste	11
2.3 <i>Neospora bovina</i>	12
2.3.1 Definición	12
2.4 Epidemiología	12
2.5 <i>Neospora caninum</i>	12
2.6 Hospedador.....	13
2.7 <i>Neospora caninum</i> en el ambiente	13
2.8 Factores de riesgo	13
2.8.1 Raza	13
2.8.2 Aptitud y manejo del rebaño.....	14
2.8.3 Edad	14
2.8.4 País o región de procedencia.	14
2.8.5 Clima.....	14

2.9 Transmisión	15
2.9.1 Transmisión vertical-transplacentaria, endógena o congénita.....	15
2.9.2 Transmisión horizontal-transplacentaria exógena o postnatal.....	15
2.10 Patogenia	16
2.11 Signos clínicos.....	17
2.11.1 Signos clínicos en bovinos adultos	17
2.11.2 Signos clínicos en terneros	18
2.11.3 Signos clínicos en el perro	18
2.12 Lesiones.....	19
2.12.1 Lesiones en vacas.....	19
2.12.2 Lesiones en terneros y fetos	19
2.13 Muestras para el diagnóstico de laboratorio	20
2.14 Diagnóstico.....	20
2.14.1 Métodos directos.....	20
2.14.2 Métodos indirectos o serológicos	21
2.15 Tratamiento	23
2.15.1 Control y Prevención	24
2.15.2 Vacunación	25
2.16 Respuesta Inmune.....	26
2.16.1 Respuesta inmune celular	26
2.16.2 Respuesta inmune humoral.....	26
2.16.3 Respuesta inmune en hembras gestantes	27
2.17 Impacto económico de la enfermedad.....	28
CAPITULO III.....	30
MATERIALES Y MÉTODOS	30
3.1 Ubicación Geográfica y características generales	30
3.2 Materiales y equipos.....	31
3.2.1 Material biológico.....	31
3.2.2 Material para la extracción de muestras	31
3.2.3 Material para el transporte de muestras	31
3.2.4 Material para el laboratorio.....	31
3.2.5 Reactivos.....	32
3.2.6 Materiales para la recopilación de información.....	32
3.2.7 Equipos	32

3.3 Variables.....	32
3.3.1 Variables dependientes	32
3.3.2 Variables independientes	32
3.4 Población y muestra	33
3.5 Obtención de muestras	34
3.6 Prevalencia en el cantón Guamote	34
3.7 Tipo de investigación	35
3.8 Método.....	35
3.8.1 Procedimiento de la prueba de ELISA indirecta con el kit IDEXX <i>Neospora</i>	35
3.9 Análisis estadístico	36
CAPÍTULO IV	37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4. 1 Prevalencia de <i>Neospora caninum</i> en el cantón Guamote	37
4.2 Presencia de <i>Neosporosis bovina</i> según la edad	38
4.3 Presencia de Neosporosis bovina según la raza	40
4.4 Presencia de <i>N caninum</i> según la altura (msnm).....	41
4.5 Plan sanitario propuesto para prevenir y controlar la Neosporosis.	42
4.6 Impactos	45
4.6.1 Sanitario	45
4.6.2 Social	45
4.6.3 Ambiental.....	45
4.6.4 Técnico.....	46
4.6.5 Económico	46
CAPÍTULO V	47
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
5.1 CONCLUSIONES.....	47
5.2 RECOMENDACIONES	48
CAPÍTULO VI.....	49
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
CAPÍTULO VII	63
ANEXOS	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Neospora caninum</i>	6
Tabla 2. Ciclo biológico en el hospedero intermediario	9
Tabla 3. Interpretación de los resultados de Elisa según el kit IDEXX <i>Neospora</i>	36
Tabla 4. Prevalencia de <i>Neospora caninum</i> en el cantón Guamate	37
Tabla 5. Presencia de Neosporosis bovina según la edad	39
Tabla 6. Presencia de Neosporosis bovina según la raza	40
Tabla 7. Presencia de Neosporosis bovina según la altura.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida <i>Neospora caninum</i>	8
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Neospora</i> y especies domesticas que pueden ser infectadas.....	10
Figura 3. Taquizoito de <i>N. caninum</i>	10
Figura 4. Quiste tisular o bradozoito de <i>N. caninum</i>	11
Figura 5. A) Ooquiste sin esporular, B) ooquiste esporulado contiene dos espocistos, C) cada uno de ellos contiene cuatro esporoitoz	12
Figura 6. Mapa del cantón Guamote	30

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Predios Muestreados del cantón Guamote	63
Anexo 2. Recolección de muestras y obtención de suero	63
Anexo 3. Kit <i>Neospora caninum</i> y preparación de las muestras	63
Anexo 4. Muestras en incubadora, prueba de ELISA indirecto.....	64
Anexo 5. Resultados obtenidos	65

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En el año de 1984 en Noruega se diagnostica el primer caso de infección por *Neospora*, en un perro con lesiones de carácter inflamatorio en su sistema nervioso central y paresia de las extremidades (1), el mismo que es producido por un parásito protozoo creador de quistes, morfológicamente similar a *Toxoplasma gondii* pero serológicamente negativo frente *Toxoplasma* (2). A partir del año 1989 se reconoció esta enfermedad en los bovinos y su diseminación a nivel mundial (3).

En la actualidad se considerará a la Neosporosis como un malestar realmente serio con la capacidad de ocasionar problemas reproductivos en los hatos lecheros (4), la Neosporosis bovina conocida también como Neosporosis fetal bovina o Neosporosis abortiva bovina (5), es una enfermedad parasitaria producida por el protozoo *Neospora caninum* ocasionando en el bovino abortos y nacimientos de terneros con signología neuromuscular o clínicamente sanos, pero congénitamente infectados (6), esta enfermedad ha sido asociada a problemas reproductivos en las principales regiones ganaderas del mundo (7).

Los problemas abortivos de origen infeccioso y la presencia de enfermedades reproductivas a causa del mal manejo sanitario es un factor de las principales pérdidas económicas (8), en los predios ecuatorianos ya que a pesar de que se maneja un calendario sanitario adecuado, estos problemas persisten en la producción de las ganaderías (9).

Esta enfermedad afecta a cualquier tipo de ganado y a cualquier edad, teniendo mayor impacto económico en el ganado lechero (10). Los abortos en las vacas gestantes se producen entre el quinto y el séptimo mes de gestación, por tal motivo es de mucha importancia dar a conocer esta enfermedad de carácter reproductiva a todos los ganaderos y tomar medidas profilácticas (11). Esta enfermedad genera

pérdidas económicas directas, como también costos indirectos asociados a la asesoría veterinaria para establecer un diagnóstico, dado que es una enfermedad que se encuentra presente en todos los continentes (12).

Teniendo a los caninos como los hospedadores definitivos y diseminadores de la enfermedad de manera silenciosa, ya que aparecen como caninos asintomáticos, en especial los caninos adultos (13), la presencia de este parásito viene relacionado al gran número de caninos que se encuentran dentro de las producciones lecheras (9), este protozoo puede ser transmitido de forma horizontal por la ingestión de alimentos contaminados con los ooquistes expulsados en las heces de perros infectados, o de forma vertical, desde la madre a su cría durante la gestación (14).

1.1 Justificación

La importancia de esta investigación tiene como propósito determinar la presencia de *N. caninum* en el ganado bovino y su relación con los factores de edad, raza y altura, siendo este un problema emergente y de importancia a nivel internacional y sobre todo local, ya que si no es descubierta a tiempo afecta a la productividad de todo un hato ganadero porque los animales crónicamente infectados son un foco de diseminación dentro del rebaño con repercusión en los costos para el productor. En América Latina, específicamente en Argentina se realizó un estudio en el cual se concluyó que *Neospora caninum* es la causa del 88,8% de abortos en rebaños lecheros (13); por el contrario en la región Sierra centro y el norte del Ecuador se encontraron resultados de seropositividad del 42% y 22.31% respectivamente según estudios realizados de la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos (14).

La Neosporosis bovina afecta a animales de cualquier edad, afectando a la reproducción de los bovinos si no es detectada a tiempo siendo una de las principales causas de aborto y relacionándose con otros problemas como la baja producción de leche, intervalo entre partos muy largos, elevada tasa de sacrificio, nacimiento de becerros clínicamente sanos, pero crónicamente infectados, nacimiento de becerros débiles y con signos clínicos nerviosos.

Este estudio se basa en que la ganadería en Guamote es una de las principales fuentes de ingresos económicos dadas sus buenas condiciones para su desarrollo. Aquí la ganadería es practicada principalmente por pequeños y medianos

productores, quienes normalmente son acompañados por caninos que se involucran en el cuidado del ganado. Estos caninos pasean libremente por los pastizales coexistiendo con los animales por lo que es necesario indagar la relación existente entre caninos-bovinos y realizar ensayos que determinen la prevalencia del parásito en este grupo de estudio.

Al realizar la investigación acerca de la cantidad de perros callejeros a nivel cantonal, así como también al investigar las ordenanzas del Gobierno Autónomo Descentralizado tenencia y control de la zona urbana, por tal motivo la situación de los perros abandonados en las calles es dramática ya que no hay proyectos ni normativas.

Al no existir estudios previos sobre esta enfermedad en el cantón, los abortos que se presentan son atribuidos a otros tipos de enfermedades, dando un tratamiento equivocado, es por ello que esta investigación pretende determinar la existencia o no de *N. caninum* para tener una línea base en donde los involucrados en la ganadería bovina encuentren herramientas fiables para un mejor diagnóstico, prevención y control y así dar a conocer los resultados de la presencia del parásito y a su vez colaborar con los productores indicando a que no utilicen animales seropositivos para su reproducción evitando así la transmisión vertical, también se establecerá estrategias de control y prevención de la enfermedad en el cantón Guamote.

1.2 Planteamiento del problema

La preocupación de los productores ganaderos se basa por la presencia de enfermedades de tipo reproductivos, los mismos que acarrear muertes fetales, momificaciones, abortos y baja producción de leche afectando no solo los ingresos económicos sino también al bienestar animal del rebaño (11). La *N. caninum* es una enfermedad de tipo reproductivo asintomática con excepción del aborto, causando que los animales infectados propaguen la enfermedad a todo el rebaño infectando a los animales sanos (3).

En California, Estados Unidos en el año de 1985 se identificó un protozoo parecido al *N. caninum* que generaba lesiones histológicas en fetos provenientes de vacas lecheras asociándolo con el aborto siendo 3.5 veces más frecuente que una infección

bacteriana y 5 veces más que una infección viral (15), siendo este parásito endémico desde 1985.

Al realizar un análisis podemos evidenciar que a nivel nacional esta enfermedad ya se ha evidenciado desde años anteriores uno de ellos es en el año 2004 donde se realizó un estudio para determinar la presencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros de la Sierra Centro – Norte del Ecuador, en el cual se obtuvo que 42% de las muestras eran positivas a la presencia de anticuerpos de neosporosis y un 2,8% eran sospechoso (10).

El lugar más cercano de estudio realizado de *Neospora caninum* en la provincia de Chimborazo fue en el cantón Chambo, tomando como referencia un criadero donde se analizó a 36 vacas productoras, obteniéndose una prevalencia del 27.78 % teniendo un número total de 10 casos positivos a *Neospora* lo mismo que influye en el rendimiento productivo del hato (9).

Un factor que predispone para que exista la presencia del parásito y se facilite su ciclo es la presencia de perros no desparasitados y por la ingesta de desechos de fetos y placentas de los abortos de los bovinos que no han sido manipulados y eliminados correctamente, esto se debe a que existe un déficit de conocimientos de los productores de cómo realizar este control (16).

Sin embargo a nivel cantonal aún no se han realizado investigaciones que determine la presencia de *Neospora caninum* en hatos ganaderos del sector es por ello que radica la importancia de esta investigación ya que servirá de línea base para futuras investigaciones y la toma de decisiones.

1.3 Hipótesis

H0: Mediante la presente investigación no se evidenciará la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos del cantón Guamote.

H1: Mediante la presente investigación se evidenciará la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos del cantón Guamote.

Mediante el análisis del diseño estadístico chi- cuadrado de la presente investigación se pudo identificar que se acepta la hipótesis alternativa ya que se evidenció la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos del cantón Guamote.

1.4 Objetivos de la investigación

1.4.1 Objetivo General

Determinar la prevalencia de *Neospora Caninum* en bovinos en el cantón Guamote Provincia de Chimborazo mediante prueba serológica.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Emplear la prueba de ELISA para determinar la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos del cantón Guamote.
- Identificar la relación entre la prevalencia de *Neospora caninum* y la edad, raza y ubicación geográfica del hato ganadero.
- Generar un plan sanitario para prevenir y controlar la Neosporosis en bovinos del cantón Guamote.

CAPITULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 *Neospora caninum*

2.1.1 Etiología

Neospora caninum, es un protozoo intracelular obligado, la misma que crea una vacuola parasitófora. Es formador de quistes tisulares y su periodo es indirecto (17); por medio de microscopía electrónica se reconocen organelos peculiares de aquel *phylum* tales como: micronemas, roptrias y gránulos densos. La *N. caninum* es morfológicamente parecido a *Toxoplasma gondii* (18), perjudicando a las principales especies de ganado, animales de compañía y animales salvajes (17).

Antes de 1988, *N. caninum* era confundido con *Toxoplasma gondii* por su enorme similitud morfológica a pesar de que Neospora y Toxoplasma son parásitos muy relacionados estructuralmente, genéticamente e inmunológicamente, éstos muestran diferencias en relación a su biología (13).

2.1.2 Clasificación taxonómica de *Neospora caninum*

Tabla 1: Clasificación taxonómica de Neospora caninum

Reino	Protista
Subreino	Protozoa
Phylum	Apicomplexa
Clase	Esporozoa
Orden	Eucoccoccida
Familia	Sarcocystidae
Subfamilia	Toxoplasmatinae
Género	<i>Neospora</i>
Especie	<i>Caninum</i>

Fuente: (17)

2.1.3 Clasificación de *Neospora caninum*

- **De acuerdo con su localización**

Es un endoparásito situado en el intestino de los perros (hospedero definitiva) y en los vacunos (hospedero intermediario) está ubicado en los pulmones, hígado, placenta, cerebro y los músculos (19).

- **De acuerdo con su comportamiento**

El hospedero definitivo (perro) desaloja en sus heces ooquistes inmaduros, estos a su vez maduran en un tiempo de 1 a 3 días siendo periódico, en otras palabras, que no cumple todo su ciclo dentro del hospedero (20).

- **De acuerdo con el rango del hospedero**

Parasita tanto al perro como a los vacunos, ovinos, equinos y caprinos, lo que se conoce como un organismo eurígeno.

- **De acuerdo con el ciclo de vida**

Demanda de un hospedero intermediario como son los vacunos, pero también en los equinos o caprinos u ovinos siendo heterógeno (21).

- **De acuerdo con el tipo de producción**

Realiza un ciclo sexual (gametogonia) en el hospedero definitivo y un ciclo de reproducción asexual (esquizogonia) en el hospedero intermediario siendo hetero genético (22).

2.1.4 Ciclo de vida de *N. caninum*

El periodo de vida de *N. caninum* es indirecto, debido a que incluye tanto a un hospedador intermediario (alberga el estadio inmaduro de un parásito) como a un hospedador definitivo (aquel que aloja el estadio maduro de un parásito, en el cual hay reproducción sexual) (23).

La *N. caninum* tiene como hospedero definitivo al canino como el perro doméstico (*Canis lupus familiaris*), también caninos silvestres como el coyote (*Canis latrans*), el lobo gris (*Canis lupus*) y el dingo australiano (*Canis lupus dingo*)(24). El hospedero definitivo consigue la infección por medio del consumo de tejidos con taquizoitos o quistes de *Neospora caninum* (25), como se observa en la Figura 1 y 2.

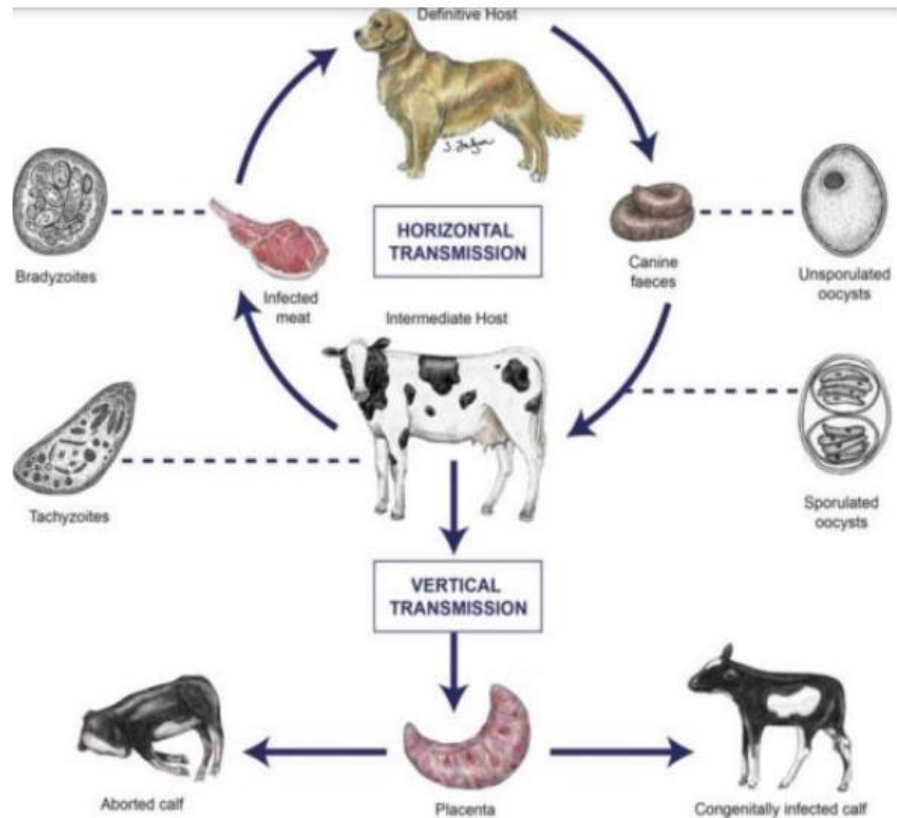


Figura 1. Ciclo de vida *Neospora caninum*
Fuente: (24)

Los bradizoitos contenidos dentro de los quistes se convierten a taquizoitos por medio de reproducción asexual. Éstos se diseminan de manera sistémica enquistándose primordialmente en tejido nervioso y músculos. Algunos de estos taquizoitos viajan por sangre y traspasan la placenta hasta llegar a los fetos a lo largo de la gestación, provocando de esta forma la transmisión transplacentaria o vertical (26). En el hospedero definitivo sucede la reproducción sexual a nivel intestinal ocasionando ooquistes, los que son diseminados hacia los alrededores a través de las heces, a partir de los 5 a 7 días posteriores a la ingestión de los tejidos infectados (27).

Tabla 2. Ciclo biológico en el hospedero intermediario

Hospedero Intermediario	Se contagia por el consumo de agua o alimento contaminado con ooquistes esporulados.
Intestino	Se transforman en taquizoítos, los que se propagan hacia otras células del hospedero por medio de la sangre y se enquistan en tejidos con apariencia de bradizoítos.
Gestación	Los taquizoítos alcanzan el feto provocando la vía de transmisión vertical, la que se destaca por crear aborto tanto en vacas lecheras como de carne. Los abortos pueden ser producidos desde los 3 meses de gestación hasta su término, siendo la mayor parte entre los 5 y 6 meses.
Placenta o fetos abortados	En quistes tisulares, los bradizoítos son consumidos por perros, llegando hasta el sistema gastrointestinal donde maduran y empiezan la eliminación de ooquistes hacia el ambiente, llegando a completar el periodo de transmisión horizontal.

Fuente: (28)

La evacuación de estos ooquistes tiende a ser de uno a numerosos días. Estos ooquistes no son rápidamente infectantes, tienen que padecer de una esporulación que acostumbra llevarse a cabo dentro de 24 a 72 horas luego de eliminados como se observa en la tabla 2 (28,29).

N. caninum es una coccidiosis con una amplia variedad de huéspedes. En general, su estructura y ciclo de vida son similares a los de *T. gondii*, con dos diferencias importantes:

- Las neoplasias son principalmente enfermedades del ganado, los perros y los depredadores relacionados, son el principal huésped de *N. caninum*.

- La toxoplasmosis es una enfermedad que afecta principalmente a humanos, ovejas y cabras, la familia *Felidae* (felinos) es el único huésped definitivo de *T. gondii* (30,31).

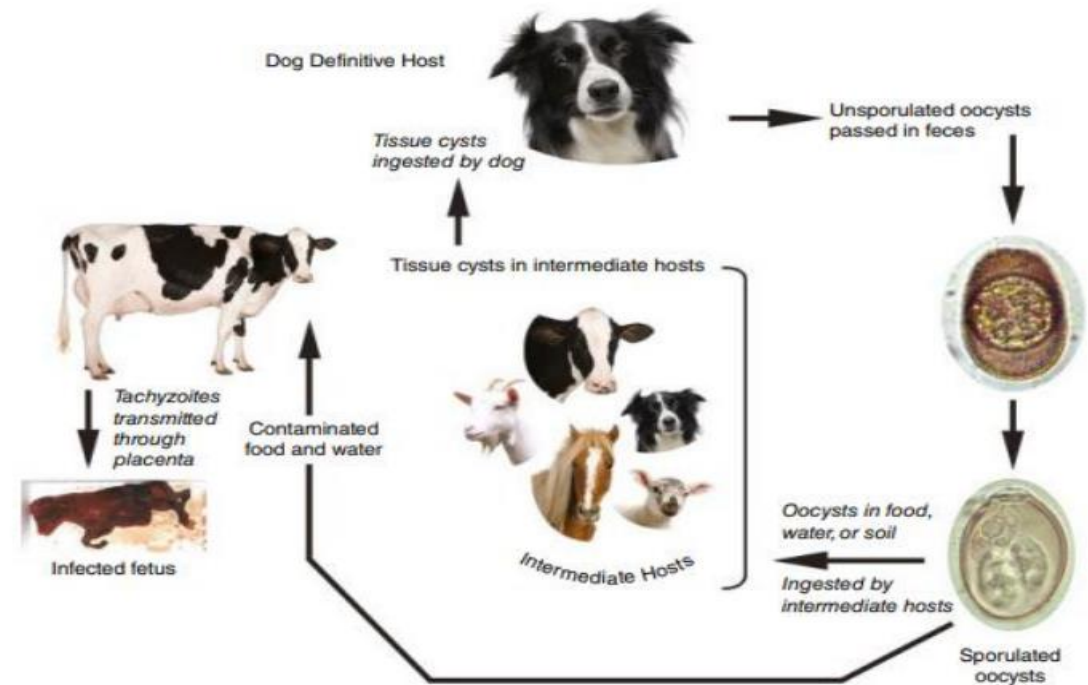


Figura 2. Ciclo de vida de *Neospora* y especies domesticas que pueden ser infectadas

Fuente: (25)

2.2 Morfología de *N. caninum*

La *N. caninum* tiene 3 estadios infectantes como son los taquizoítos, quistes tisulares con bradizoítos en su interior y oocistos (32).

2.2.1 Taquizoítos

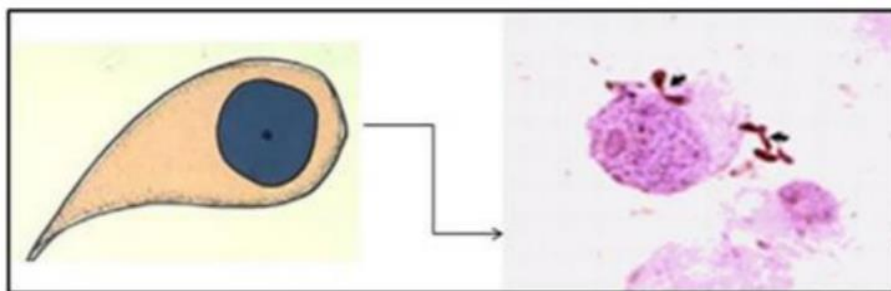


Figura 3. Taquizoíto de *N. caninum*

Fuente: (33)

Los taquizoítos y los quistes tisulares son los estadios que se encuentran en los huéspedes intermedios y se presentan de forma intracelular (33). El tamaño del

taquizoíto es de aproximadamente $6 \times 2 \mu\text{m}$ y de largo $1 \times 5 \mu\text{m}$ de ancho, pueden tener forma de medialuna o globular. Están presentes en las células nerviosas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, células musculares, células renales y células hepáticas como lo indica la figura 3. Al igual que los bradizoítos, se encuentran principalmente en el tejido nervioso del feto, la placenta y la madre (34).

2.2.2 Quistes tisulares

Los quistes tisulares suelen tener forma redonda u ovalada, de hasta $107 \mu\text{m}$ de longitud, y se encuentran principalmente en el sistema nervioso central. Los quistes de tejido tienen paredes de hasta $4 \mu\text{m}$ de espesor y los quistes cerrados tienen un tamaño de $7 \text{ a } 8 \times 2 \mu\text{m}$. El tejido extra nervioso, especialmente el músculo, puede contener quistes tisulares como se muestra en la figura 4 (35).

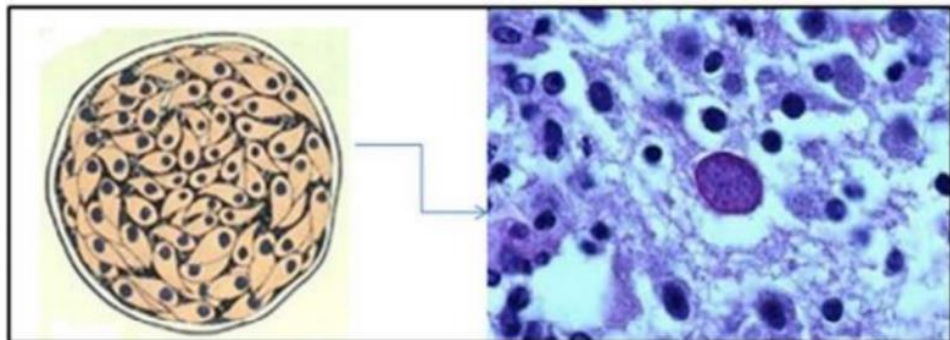


Figura 4. Quiste tisular o bradozoito de N. caninum

Fuente: (35)

2.2.3 Ooquiste

Los ooquistes, forma infectante para los hospedadores intermediarios, son liberados con la materia fecal del perro (hospedero definitivo) sin esporular, midiendo precisamente de $10 \text{ a } 11 \mu\text{m}$ de diámetro presentando una manera esférica. Esta etapa se ajusta a la etapa sexual del periodo (36) y en el instante en que esporulan, precisamente cerca de los tres días post liberación, se convierten en infectivos (37). Su tamaño incrementa solo un poco y pasan a tener dentro suyo dos esporoquistes que llegan a medir cerca de $8,4 \times 6,1 \mu\text{m}$ y un cuerpo residual. Cada esporoquiste va a tener 4 esporozoítos los cuales miden cerca de $6,5 \times 2,0 \mu\text{m}$, presentando una manera más alargada (38). Los ooquistes, son la etapa de resistencia del parásito, logrando subsistir por meses o años en el ambiente como se observa en la figura 5 (39).

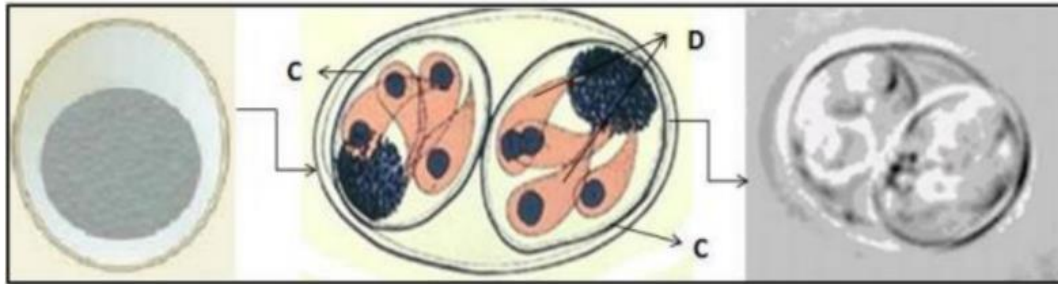


Figura 5. A) Ooquiste sin esporular, B) ooquiste esporulado contiene dos esporocistos, C) cada uno de ellos contiene cuatro esporozoitos
Fuente: (40)

2.3 Neospora bovina

2.3.1 Definición

La Neosporosis bovina es una patología parasitaria producida por el protozoo apicomplejo *Neospora caninum* (41) que perjudica a bovinos y otros animales como caninos, ovinos, caprinos, ciervos y equinos (42). Se perfila en el planeta como una fundamental patología reproductiva culpables de altas pérdidas económicas y productivas (43).

2.4 Epidemiología

La Neospora fue referida en el año 1984 por Bjerkas en Noruega como el causante del síndrome neuromuscular en perros, siendo un parásito intracelular obligado (37). En el año de 1988, en Estados Unidos, el microorganismo fue aislado de la misma especie recibiendo el nombre de *Neospora caninum* asignado por Dubey.

Hasta ese momento la enfermedad era confundida con toxoplasmosis (44) y se describe por primera vez a *N. caninum* como una enfermedad de consideración mundial (45), puesto que fue encontrado una de las principales causas del abortos en las vacas, que se traducen en enormes pérdidas económicas en la producción.

Distintos estudios aseguran además que la patología perjudica a la producción láctea; con una reducción de leche en los animales enfermos (2).

2.5 Neospora caninum

Es un parásito intracelular que puede matar de manera rápida las células del huésped como resultado de la multiplicación activa de los taquizoitos, produciendo necrosis,

hinchazón no supurativa y granulomas en los tejidos afectados (45,46). *Neospora caninum* es conocida por ser un parásito obligado que ocasiona afecciones en la salud del ganado y en canes ya que provoca abortos (47).

2.6 Hospedador

El perro se ha establecido como el huésped definitivo de *Neospora*, en la mayoría de los casos perjudica a los animales inferiores de 12 meses, llevándolos a un cuadro inicial de miositis y más adelante a una parálisis ascendente, que acaba por terminar con la vida del animal; en los perros mayores se encuentra rara vez una manera clínica de la patología, pero cuando se muestra se otorga una ataxia progresiva, lo que transporta al perro a una muerte súbita (48).

2.7 *Neospora caninum* en el ambiente

Estas son eliminadas a través de las heces de los perros y esporulan en el ambiente 24 horas después de la expulsión, momento en el que se convierten en dos esporos quistes cada uno con cuatro esporozoitos que contaminan el pasto, la comida y el agua de bebida. La transmisión oral dependerá de la viabilidad del ooquiste en el ambiente (49).

2.8 Factores de riesgo

Las manifestaciones de la infección por *Neospora* parecen ser de carácter multifactorial o multicausal, a más de ello se mencionan probables factores como la presencia de otros agentes infecciosos (50). La seropositividad de la enfermedad está relacionada al tipo de rebaño, la edad de los animales, raza, el país, región de descendencia, cantidad de animales y factores propios del hato (51) y las consecuencias directas de las propias infecciones (52).

2.8.1 Raza

Caetano da Silva en el 2004 menciona que en los diversos estudios realizados no se encuentra asociación con la raza, se ha observado en Suecia una asociación significativa entre la infección con *Neospora* y varias razas lecheras (53).

Asimismo, se ha evidenciado que la inseminación de vacas lecheras seropositivas con ganado de carne, en particular de la raza Limousin, reduce el riesgo de aborto (54).

2.8.2 Aptitud y manejo del rebaño

Las tasas de infección son generalmente más altas en las granjas lecheras que en las ganaderas de carne porque el manejo intensivo de las granjas y las condiciones de hacinamiento promueven el aborto (55).

En España, los rebaños lecheros tienen una seroprevalencia mucho mayor que los rebaños de carne, esto es debido principalmente a diferencias de manejo ya que el ganado de carne se encuentra en los montes y en densidades muy bajas (56).

En general, la causa del aborto espontáneo en animales de carne es menos conocida que en las vacas lecheras debido a la dificultad de extraer tejido del aborto (57), esto es porque el daño a los tejidos fetales de los animales de engorde es más severo que el daño a los tejidos fetales de las vacas lecheras (58).

2.8.3 Edad

El aborto puede ocurrir en vacas de cualquier edad (59). En algunos rebaños, se ha demostrado un aumento en la seroprevalencia relacionado con la edad, lo que indica que la transmisión horizontal continúa., esto se asocia con una mayor exposición de los animales a *Neospora* a lo largo de su vida (60).

Un estudio realizado en España, determina que la prevalencia relacionada con la edad posiblemente es debido a la baja tasa de reemplazo y está asociada a una mayor exposición al parásito (61).

La transmisión vertical parece ser más eficiente en animales jóvenes y disminuye con la edad (1) (35). El análisis de seroprevalencia específico por edad proporciona información valiosa sobre la vía de transmisión de la enfermedad en un rebaño (31).

2.8.4 País o región de procedencia.

La prevalencia de la infección por *Neospora* en el ganado, varía según el país y la región que se requiera estudiar (62), sin embargo, estudios han observado una mayor probabilidad de infección por *Neospora* en áreas con mayor densidad de ganado (53), además, la prevalencia varía significativamente de un país a otro (63).

2.8.5 Clima

Se ha demostrado que el clima, especialmente las altas temperaturas, tiene un efecto negativo sobre la fertilidad de los bovinos (2), pero los estudios sobre los efectos

del clima en los fetos son muy limitados y escasos. Estudios han determinado que la época estacional está asociada con la pérdida del feto antes de los 90 días de gestación (64). Otros estudios han determinado una relación entre factores climáticos como el tiempo de lluvia y la temperatura (61).

2.9 Transmisión

La principal vía de transmisión en el ganado es a través de la placenta. Más del 80% de las vacas seropositivas transmiten la enfermedad a sus crías y se presta poca atención a las infecciones puerperales (65). El ganado bovino tiene dos rutas de transmisión de enfermedades: horizontal y vertical (66). La *Neospora caninum* se transfiere por vía post-natal (horizontalmente) por ingestión de agua o alimentos contaminados con ooquistes, también se puede transmitir de la madre al feto a través de la placenta (transmisión vertical) (67). Este último modo de transmisión contribuye significativamente a la persistencia de la enfermedad en el rebaño porque las vacas pueden estar infectadas de por vida, transmitiendo la enfermedad de generación en generación de forma continua o intermitente.

Según su origen, la transmisión transplacentaria, puede ser exógena o endógena (68).

2.9.1 Transmisión vertical-transplacentaria, endógena o congénita

Esto ocurre cuando una vaca previamente infectada está preñada y las condiciones de preñez como la producción de hormonas (progesterona) y los cambios inmunológicos favorecen la reactivación de los parásitos ya presentes en sus tejidos (taquizoítos y quistes de bradizoítos) (contagio de madre a hijo) (68). Esta vía de transmisión es considerada la más fuerte e importante en el ganado bovino ya que puede persistir por generaciones, permitiendo que el parásito persista en el rebaño por muchos años sin la intervención del huésped oficial (perro). Los perros contraen el parásito al consumir la placenta de fetos infectados abortados y huéspedes intermediarios, lo que ocurre más comúnmente cuando las vacas infectadas tienen fetos abortados (66).

2.9.2 Transmisión horizontal-transplacentaria exógena o postnatal

Esto ocurre cuando las vacas consumen alimentos o agua contaminados con ooquistes de *Neospora*, que se excretan en las heces de los perros infectados y

posteriormente, forman esporas infecciosas. Los ovocitos en el intestino se dividen y se convierten en células sexuales (taquizoítos) que ingresan al torrente sanguíneo (parásitos) y se vuelven inactivos en varios tejidos bovinos (31). La denominada exógena se refiere a las madres gestantes que sufren una primo-infección a partir de la ingestión de agua o alimento contaminados con ooquistes (transmisión horizontal), que van a estar expuestas al mismo tiempo y que pueden producir un brote de abortos epidémicos (69). Experimentalmente, se han visto otras fuentes de transmisión de la infección en el ganado bovino cuya consideración natural es baja. En este sentido, se demostró la transmisión del parásito tras la alimentación de leche o calostro contaminada con taquizoítos (70) y se ha descubierto ADN del parásito en semen de ganado bovino(71), lo que produciría una posible transmisión venérea del parásito a novillas (72) para que ello sucediese, la concentración de taquizoítos en semen tendría que ser alta (73).

Una vía de infección que resulta muy poco probable es la transferencia de embriones, siendo así un método recomendado para controlar la transmisión transplacentaria endógena (74).

2.10 Patogenia

La patología es dependiente en sí del equilibrio entre la aptitud del taquizoíto para el ingreso en los tejidos, de esta forma como de la respuesta del hospedador, para evadir la multiplicación de este parásito. Los taquizoítos, tienen una especial afición por las células del SNC, endoteliales, músculo-esqueléticas y cardíacas. Al producirse la multiplicación, se destruyen las células causando respuesta inflamatoria sin secreciones purulentas y necrosis en focos (75). Una vez en los tejidos, inicia la multiplicación por endodiogenia lo que crea la devastación de las células produciendo necrosis focales y respuestas inflamatorias no purulentas compuestas por linfocitos, macrófagos y células plasmáticas, siendo estas las lesiones fundamentales de la enfermedad; por otro lado, la multiplicación puede crear la formación de quistes tisulares que podrán estar presentes toda la vida del animal (76).

La *Neospora caninum* tiene tropismo por los vasos sanguíneos de la placenta y el epitelio corio fetal, lo que causa una hinchazón, vasculitis y degeneración con

necrosis difusa del lecho placentario (77). Los que ordenan el daño de la infección (animal infectado de forma congénita o muerte fetal), son los mecanismos inmuno-hormonales que se muestran a través del período gestante en la madre (73). La estimulación de quistes tisulares de una infección latente está concomitante a un considerable mecanismo de transmisión vertical más que aun desarrollo que tenga como resultado el aborto (32).

Los distintos mecanismos hormonales e inmunes de la madre a lo largo de la gestación así también de esta forma como el avance del sistema inmune del feto, determinarán si la infección va a producir la desaparición fetal, el nacimiento de un animal congénitamente contagiado o libre de contagio; se cree que hay un tiempo entre 3 a 4 semanas entre la infección fetal y el aborto (78). La finalización de la gestación además puede acabar con el nacimiento de un ternero, que, de ser hembra, va a transmitir la patología a su descendencia o va a tener compromiso de abortar en sus subsecuentes preñeces (79).

2.11 Signos clínicos

2.11.1 Signos clínicos en bovinos adultos

Se inicia por parásitos en la sangre de la madre, por reactivación de la infección primaria o infección persistente durante la gestación (42). En los bovinos adultos se manifiesta con el aborto o en su defecto con el nacimiento de terneros que padecen de alteraciones neuromusculares. Después de producido el aborto no hay retención de placenta, las vacas entran en celo normal y la fertilidad no se ve afectada (80).

Si ocurre una infección en el ganado al principio de la gestación, es muy probable que sea abortado porque no tienen resistencia inmunitaria. Si la infección sucede más tarde, alcanza a sobrevivir a la infección y nacen con una infección subyacente, pero asintomáticos (8). El aborto puede ser espontáneo, endémico (5-10% por año) o epidémico (>10% por año), pudiendo ser a partir de los 3 meses hasta término de gestación (81). Sin embargo, la mayoría de las vacas abortan entre los 5 y 6 meses de gestación (42).

El aborto se puede provocar, tanto en vacas como en vaconas, aunque no se ha diagnosticado en animales superiores de 11 años, se ignora la presencia de relación

entre la receptividad a la infección y la edad. Entre el 5% y 6% de estos bovinos tienen la posibilidad de abortar nuevamente, produciéndose la reiteración del aborto a lo largo de la gestación siguiente o en posteriores (82). Con respecto al feto de acuerdo con la etapa de la gestación en la que se infecte, puede morir en el útero, reabsorberse, momificarse, sufrir autólisis, nacer vivo y morir inmediatamente o nacer clínicamente normal, pero con la enfermedad (83). Las vacas infectadas reducen la producción de leche durante la primera lactancia, alrededor de 1 litro por vaca por día (9).

2.11.2 Signos clínicos en terneros

Los signos clínicos más frecuentes en los terneros infectados aparecen a los 4-5 días o hasta 2 semanas después del nacimiento (42), el desarrollo de los signos neurológicos, se da usualmente cuando la vía de infección es la transplacentaria exógena (78).

Bajo peso al nacer, terneros débiles o incapacidad para aumentar de peso, al examen neurológico se revela ataxia (caminar descoordinado), disminución del reflejo patelar (84) y pérdida de la propiocepción hasta parálisis completa, asimetría de los ojos y exoftalmia (protrusión del ojo), momificación o muerte fetal (85). Aunque es poco frecuente los defectos congénitos también está descrita: La escoliosis, hidrocefalia y médula espinal bífida (86).

2.11.3 Signos clínicos en el perro

La Neosporosis es más frecuente en perros inmunosuprimidos, muy viejos y jóvenes (87). Se conoce que la enfermedad se puede desarrollar a cualquier edad (59), la forma más común de contagio es la congénita y su signología clínica aparece después del nacimiento o después de unas semanas (88). Estudios experimentales demuestran que *N. caninum* puede causar muerte fetal temprana, momificación, reabsorción y nacimiento de cachorros débiles (30).

Por otro lado, los caninos adultos expresan la enfermedad después de la reactivación de infecciones crónicas. Por tal motivo es adecuado dividir la signología en función de la edad (88).

2.12 Lesiones

Las lesiones que se observan son inflamación del cerebro, medula espinal y SNC. En el caso del cerebro la inflamación se divide multifocalmente, presentando zonas de atrofia y necrosis, además cuadros de meningitis y gliosis focal asociado a cuadros de malacia alrededor de los quistes tisulares y meningo encefalomiелitis no supurativa multifocal (49).

2.12.1 Lesiones en vacas

Se observan lesiones de necrosis en miocardio, hígado, músculo esquelético y lengua. A nivel de la placenta se produce un proceso inflamatorio agudo con necrosis focal, lo cual afecta la interfase materno-fetal. En el corazón, por lo general provoca una miocarditis que puede cambiar desde focal a difusa y está conformada por linfocitos, macrófagos y células plasmáticas en menor número que se ubican entre las fibras musculares que tienen la posibilidad de exhibir signos de degeneración y también necrosis con posterior calcificación (89). El hígado manifiesta una hepatitis no purulenta definida por una necrosis de los hepatocitos asociada a un infiltrado de linfocitos y macrófagos organizados de manera difusa, aunque más intensamente en los espacios porta (28). En los ganglios linfáticos solamente se observa una hiperplasia reactiva, con presencia de folículos linfoides prominentes (90).

2.12.2 Lesiones en terneros y fetos

En los terneros se presentan: Hepatitis, necrosis muscular, encefalomiелitis neumonía, miocarditis, relatos esporádicos de infección ocular, dermatitis ulcerativa y úlcera de mucosa oral, en cuanto a las lesiones macroscópicas son: Granulomas en vísceras, áreas de hemorragia, necrosis multifocal de los órganos afectados, estrías blanquecinas en los músculos (principalmente del diafragma) y megaesófago, en los casos más severos puede haber hipotrofia y fibrosis muscular (27). Los fetos abortados resultan momificados en algunas ocasiones autolíticos, macroscópicamente se registran daños en los cotiledones de la placenta, que presentan focos blanquecinos y edema, acompañado microscópicamente de placentitis no supurativa (81).

2.13 Muestras para el diagnóstico de laboratorio

Las muestras a tomar para ejecutar el diagnóstico en el laboratorio cuando existe la sospecha de presencia de *Neospora caninum* en un hato bovino son en el suero del feto, suero de la madre, placenta y feto completo, muestras de médula, cerebro, hígado, corazón, músculo esquelético y placenta los mismos que deben estar fijados en alcohol o formol al 10% (91).

2.14 Diagnóstico

Para realizar el diagnóstico de *N. caninum* no solo es importante tener el conocimiento del resultado de la prueba diagnóstica, sino también de conocer la historia clínica y la epidemiología del animal (92).

La infección por *Neospora caninum* puede ser demostrada mediante el uso de diferentes pruebas como son las pruebas directas que encuentran la presencia del protozooario en distintos tejidos o sangre (93) y las pruebas indirectas o serológicas que encuentran la presencia de anticuerpos en plasma, suero o leche, siendo estas las más utilizadas en bovinos vivos (94,95).

2.14.1 Métodos directos

- **Inmunohistoquímica o IHQ**

Es un procedimiento muy efectivo para reconocer el parásito (taquizoítos o bradizoítos) en tejidos fetales (96). La inmunohistoquímica para *Neospora* es efectivo al usar fragmentos de cerebro fetal, aunque el parásito puede estar presente en riñón, músculo esquelético y pulmón (97). Lo negativo de este método es que posee una sensibilidad considerada baja (26).

- **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

El diagnóstico mediante técnicas moleculares como la PCR tiene la ventaja de ser una técnica con sensibilidad y especificidad elevada la misma que tiene la idoneidad o la capacidad de amplificar el ADN de *Neospora caninum* en tejidos de animales adultos, y fetos abortados (98,99). Donde los tejidos corporales del feto abortado y el cerebro son las muestras que con mayor frecuencia se utilizan (100), pero también

se utiliza en leche, placenta, líquido amniótico, materia fecal de perros y en muestras tomadas del medio ambiente como el agua y comida (101).

Por otra parte, las desventajas que implica son los costos, contar con un equipo especializado, experiencia-entrenamiento del profesional y sobre todo la baja eficiencia de la técnica en muestras con cierto grado de autólisis (102), esto quiere decir la dificultad para obtener fetos abortados en buen estado o a su vez tejidos que solo se pueden obtener posmortem (98).

- **Cultivo celular**

Esta técnica no es siempre exitosa, a través del cultivo celular se realiza el aislamiento de taquizoítos de *Neospora caninum*, dado a que la autólisis fetal lleva a la muerte del protozooario (102), en esta técnica el material de elección es el cerebro (81). Es aconsejable aislar bradizoítos en tejido nervioso de bovinos congénitamente infectadas debido a que son más resistentes que los taquizoítos (26).

2.14.2 Métodos indirectos o serológicos

Entre los métodos indirectos más utilizados para la detección de anticuerpos son los de Inmunofluorescencia indirecta (IFAT), ELISA y Test de aglutinación. Estando algunos de estos test disponibles de forma comercial (45,59).

- **Inmunofluorescencia indirecta (IFI)**

La IFI fue la primera técnica utilizada para detectar anticuerpos anti-*Neospora caninum* en el suero (28). Para la ejecución de esta prueba se usan taquizoítos enteros los mismos que van colocados en un portaobjetos como antígeno que se enfrenta al suero problema (87). El resultado se considera positivo cuando hay fluorescencia alrededor de toda la membrana externa del taquizoíto, sin intermitencias (102).

Es una técnica subjetiva ya que se basa en la interpretación visual del resultado a más de ello es una técnica que requiere entrenamiento y experiencia por parte del operador (87). Para encontrar anticuerpos en sueros la dilución es de 1:200 (103) y para pequeños rumiantes 1:50 (104).

- **ELISA Indirecto**

La técnica ELISA se fundamenta en la detección de anticuerpos. La sencillez y rapidez de su realización y la fácil interpretación de los resultados, la capacidad de automatización y el bajo costo económico son ventajas que se consideran al momento de realizar análisis y con un número elevado de muestras. Estas pruebas utilizan distintos tipos de antígenos: taquizoítos sonicados, taquizoítos fijados con formalina, partículas Iscoms, estos test pueden ser indirectos y de competición, generalmente se implementa esta técnica cuando las muestras son en gran cantidad es decir a nivel de rodeo (105), obteniéndose una respuesta rápida (48).

Esta prueba es la más utilizada para detectar o cuantificar tanto anticuerpos como antígenos en diferentes fluidos como leche u orina en pequeños volúmenes de muestra, Álvarez-García y colaboradores en el año de 2003 llevaron a cabo un estudio con 458 bovinos tanto infectados como no infectados para cotejar y estimar la especificidad y sensibilidad de ELISA comerciales. Dentro de los cuales la mayoría de los kits comerciales tuvieron una alta especificidad y sensibilidad (>95%), generando de esta manera validez a los ELISA comerciales y de la misma manera genero confianza a investigadores que realizan estudios epidemiológicos basándose en estas pruebas diagnósticas (83).

En la prueba de ELISA indirecto, el antígeno se junta al fondo del pocillo de la microplaca y seguidamente se añade un anticuerpo específico del antígeno. Posteriormente se une al primer anticuerpo un anticuerpo secundario conjugado con una enzima u otra molécula de detección (75).

En todas las pruebas que emplean marcadores, primero hay que adsorber o unir los anticuerpos o los antígenos a una superficie de la que no deben desprenderse, llamada fase sólida, y el proceso de adsorción o fijación se llama “tapizado”. En el caso del ELISA, la fase sólida puede ser una placa de poliestireno, típicamente de 96 pocillos con el fondo plano. Tras haber tapizado y lavado, se añade por duplicado, es decir, en dos pocillos, la muestra problema, que será antígeno vírico, si la placa está tapizada con anticuerpos, o suero si lo está con antígeno vírico (107).

Tras la incubación a la temperatura adecuada para favorecer la unión Ag-Ac, generalmente a 37°C, se lava con cuidado, para eliminar los reactivos que no hayan quedado fijados a la fase sólida. Se continúan añadiendo reactivos, incubando y lavando tantas veces como requiera el protocolo de cada tipo concreto de ELISA. El penúltimo reactivo suele ser el “conjugado”, que son anticuerpos unidos a una enzima, es decir “marcados”, para tras la incubación y lavado correspondiente, añadir el sustrato de la enzima (108).

Las enzimas más utilizadas son la peroxidasa, la fosfatasa alcalina y la luciferasa. En todos los casos se va a producir una reacción coloreada o no, cuya intensidad depende de la cantidad de enzima presente en el pocillo, lo que se cuantifica con el instrumento correspondiente. No debemos olvidarnos de poner controles positivos y negativos (109).

- **Test de aglutinación directa (DAT)**

Es altamente específico y sensible, sencillo de usar en diferentes muestras a la vez ya que no requiere equipos especiales. Se puede usar para cualquier especie animal sin ningún tipo de modificación (100).

- **Immunoblot (Western blot)**

Este test se puede utilizar para distinguir las etapas de infección, dado que reconoce diferentes proteínas antigénicas de *Neospora caninum* mediante IgA, IgE, IgG y IgM, siendo este test muy específico (78) establecieron que este test era eficaz cuando la muestra de sangre estaba degradada. Habitualmente se utiliza para el diagnóstico de aborto por medio de fluidos fetales, siendo más específica que la IFI (22).

2.15 Tratamiento

Actualmente no existe método eficaz para contrarlar la Neosporosis, se han probado varios agentes antimicrobianos in vitro o in vivo en ratones, pero no hay fármaco conocido que se puede utilizar para eliminar la infección por *N. caninum* en bovinos adultos (110).

Lindsay et al., 1996 realizó estudios en los cuales utilizó las sulfonamidas como son las Sulfadiazina, Sulfadimetoxina, Sulfaguanidina, Sulfametazina,

Sulfamenzamina, de la misma manera se usaron Ionóforos, Metronidazol, Tetraciclinas como las Eritromicina , Tilosina y Lincomicina (111,112). El problema es el descarte de leche debido a lo prolongado de los tratamientos (111).

2.15.1 Control y Prevención

Hoy en día no existen métodos eficientes de control y prevención, por lo que es necesario llevar a cabo nuevas investigaciones sobre *Neospora caninum* (15).

- **Prevención transmisión transplacentaria endógena (vertical)**
- Disminuir el número de vacas lecheras infectadas en el hato utilizando como reemplazo únicamente vacas seronegativas
- Las vacas seropositivas pueden ser conservadas en el hato ya que éstas serán transportadas al rastro sin procrear (para engorda) (113)
- Realizar transferencia de embriones a vacas de gran valor genético seropositiva
- Trasladar y eliminar prontamente placentas, fetos abortados y becerros muertos
- Revisar el estado de la infección a través de pruebas serológicas a becerros y reemplazos habitualmente
- Estimar la posibilidad de eliminar a las vacas seropositivas (114)

- **Prevención transmisión transplacentaria exógena (horizontal)**
- Prevenir el ingreso de perros u otros cánidos a las instalaciones para evitar que éstos consuman placentas infectadas y fetos, lamidos por la hembra abortada o entrar en contacto con otras vacas (42)
- Controlar la contaminación de heces de perros a los alimentos (pienso, concentrado, ensilaje, pastos, etc. y agua
- Reducir fauna nociva como roedores silvestres (115)
- Muestreo serológico a los perros de la finca para informar el descarte o tratamiento de ellos
- Manejar los partos en cuartos de parición y no en potreros al aire libre.
- El descarte correcto de las placentas y fetos abortados

- Reducción del número de vacas infectadas por medio del descarte selectivo (77).

2.15.2 Vacunación

El mejor abordaje sanitario es la vacunación, pero hasta el momento no se ha podido encontrar una vacuna efectiva para suprimir al parásito (*Neospora caninum*) del organismo o prevenir que la infección sea transferida a las crías durante la preñez del animal infectado (116).

- **Vacunas vivas**

Se basan en el uso de cepas menos virulentas del parásito (las que no generan aborto), consiste en exponer al organismo al patógeno para que el sistema inmune genere lo que se conoce como una respuesta inmune de memoria, esto quiere decir en el momento en que se encuentre de nuevo con el parásito (117,118), pero este mantenga una cepa de las más virulentas, pueda responder rápida y correctamente, esto tiene un peligro que es provocar una reversión de la virulencia, esto es que una cepa que no era peligrosa se modifique y lo sea (119).

- **Vacunas a subunidad**

El organismo no se expone al parásito por completo, sino que se le muestran determinadas moléculas que lo forman para que genere la respuesta inmune de memoria (120). La ventaja es que no hay peligro de reversión de la enfermedad ya que no se utiliza el parásito completo, pero por el contrario el efecto de estas vacunas es más bajo. Por lo que los investigadores fue combinar este método de vacunas a subunidad con coadyuvantes (121).

- **Vacunas a subunidad con coadyuvantes.**

Esta vacuna contiene proteínas de *Neospora caninum* unido a otra de origen vegetal procedente de una planta modelo (*Arabidopsis thaliana*), la misma que es utilizada como adyuvante y se vacunaron ratones preñadas para testear la respuesta, comprobando que la vacunación con esta combinación de proteínas es efectiva (121).

Donde la carga parasitaria es la misma, pero con la diferencia de que nacen menos crías infectadas, eso quiere decir que de algún modo la vacuna inhibe y reduce la transmisión vertical (122,123). Por consiguiente, el próximo paso es probar en

vacas, trabajo que ya se está llevando a cabo. Esto marca la diferencia respecto a las vacunas veterinarias tradicionales, las mismas que no permiten distinguir un animal sano y que fue vacunado de uno que fue vacunado y se infectó (124).

- **Vacunas de ADN**

Las vacunas de ADN constituyen una promesa contra *Neospora caninum*, la misma que se basada en la inmunización con un plásmido que posee la información genética de uno o varios genes que codifican proteínas inmunogénicas del parásito. Los resultados probaron que la vacuna protegió a lo largo del desafío experimental (124).

2.16 Respuesta Inmune

2.16.1 Respuesta inmune celular

La IMC (inmunidad mediada por células) ejerce un papel notable en infecciones de *Neospora caninum* debido a que se trata de un organismo intracelular, contemplando que la respuesta inmune asociada con la protección es sobre todo de tipo Th1, mediado por IL-12, con la producción de interferón gamma (INF- γ), IL-2, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la disposición de células NK también productoras de INF- γ (2), la respuesta inmune protectora en la enfermedad de neosporosis está determinada por citoquinas proinflamatorias y respuestas de tipo Th1. La protección de INF- γ se observó en vacas normalmente infectadas, donde los altos niveles de INF- γ se asociaron con la inhibición de la transmisión innata y, por el contrario, en fetos con niveles de INF- γ bajos, las lesiones más severas fueron después de la infección experimental (12). La respuesta de IMC asociada con la recurrencia parasitaria y la gestación es más intensa en las etapas temprana y finales y más débil en el segundo trimestre de gestación (15).

2.16.2 Respuesta inmune humoral

Los anticuerpos indican la exposición y los niveles del sistema inmunitario a un antígeno, el alto nivel de anticuerpo refleja la actividad y replicación en este caso de *Neospora* en el hospedador. Altos niveles de anticuerpos están relacionados durante la gestación con el aborto cuya investigación es útil en el diagnóstico y análisis Epidemiológicos. Poco se sabe sobre los efectos protectores de los

anticuerpos, sin embargo, previenen la infección por taquizoítos de las células huésped (125).

A diferencia de *T. gondii*, estimula la respuesta inmune protectora tras la primera exposición al parásito y la aparición de anticuerpos protectores, en *Neospora* no se desarrolla tal respuesta protectora o se desarrolla en menor medida (2).

La respuesta inmune humoral parece ser principalmente en bovinos y fetos tipo IgG2 y niveles de anticuerpos en hembras gestantes varían, aumentando a mediados de la gestación y asociado con la presencia de aborto durante este periodo (126). La respuesta humoral del feto viene de la madre porque no hay transferencia de anticuerpos contra *Neospora* vía transplacentaria. Fetos infectados detectados anticuerpos IgM e IgG a partir del sexto mes de gestación (127).

2.16.3 Respuesta inmune en hembras gestantes

En hembras gestantes la respuesta inmune puede alterar su capacidad para controlar la infección y, por otro lado, la respuesta inmune que produce la madre para combatir la infección puede ser dañina para la gestación (2). De hecho, durante la gestación parece haber una tendencia hacia una respuesta inmune de tipo Th2, que se correlaciona con una mejor implantación y mantenimiento del embrión en las primeras etapas, gracias a la supresión de respuestas localizadas a la inflamación (127) ; sin embargo, esta predisposición a respuestas de tipo Th2, que protegen al feto, puede promover la infección primaria y la persistencia de la transmisión fetal vertical (128).

Por tanto, se acepta que el aborto neonatal puede representar, entre otras causas, una alteración de la respuesta de tipo Th2 a favor de un aumento de la respuesta inmune de tipo Th1 durante la gestación siendo sensible a *N. caninum* (2). En cambio, cuando los animales se infectan por primera vez durante la gestación a los 140 días 159-169 días o durante el segundo trimestre la inmunidad adquirida no es suficiente para evitar la transmisión vertical o un posible aborto espontáneo. Asimismo, los animales infectados antes de la gestación no tienen suficiente inmunidad protectora en la primera exposición al parásito (129).

2.17 Impacto económico de la enfermedad

La Neosporosis es considerada como una de las enfermedades parasitarias que causa grandes pérdidas económicas al sector ganadero a nivel mundial (130). Ya que la enfermedad provoca pérdidas económicas directas como problemas reproductivos, muertes embrionarias y al nacimiento, abortos, reabsorciones e infertilidad (131).

Pérdidas económicas indirectas como por el gasto o costos que se derivan de los servicios veterinarios, el costo de los tratamientos, repeticiones en la inseminación o cruza, aumento en el tiempo de lactancia, menor producción láctea, costos de reemplazo en los casos de eliminación de las vacas enfermas. La Neosporosis bovina se perfila en el Ecuador y el mundo como una importante enfermedad reproductiva causante de elevadas pérdidas económicas y productivas, habiéndose estimado pérdidas superiores a 80 millones de dólares anuales en Argentina. En un hato ganadero típico de la Provincia de Chimborazo se expresan en cientos de dólares por cada aborto y en miles de dólares anuales (132).

- El ganado puede desarrollar enfermedades crónicas o nuevas infecciones durante la gestación, causando esterilidad y reabsorción, debido al tiempo transcurrido entre la muerte del feto y el tiempo de expulsión de los residuos fetales (133).
- Pérdida del ternero: Se diagnostica en el caso de muerte neonatal, que es probable que contribuya a la muerte fetal temprana, así como a la causa del bajo valor reproductivo de la descendencia después del aborto.
- La disminución diaria de la producción de leche en el rebaño, por aumento del período de parto, por disminución de la frecuencia de lactación, posiblemente prolongación del período de lactación y aumento de los días secos (83).
- Reducir el número de reemplazos, ya que las vacas infectadas pueden permanecer en este estado durante varios años, contaminando a la mayoría de sus crías. Esto ocurre en fincas dedicadas a la cría de terneros, lo que significa menos terneros, por lo que se reducen los reemplazos (41).

- Aumento de la producción de leche: la productividad de las vacas lecheras aumenta con la edad, el desprendimiento de vacas antes de la lactancia afecta la pérdida neta y la baja fertilidad es la causa más común de descarte.
- Pérdida indirecta, incluidos los servicios veterinarios y las instalaciones para el diagnóstico y posterior tratamiento, derivadas de la presencia de la enfermedad (131).

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación Geográfica y características generales

El cantón Guamote se encuentra en la parte central del callejón interandino entre las coordenadas UTM 754905.380 9786299.910, cuya cabecera cantonal se encuentra a 50 km de la ciudad de Riobamba. Está limitado al norte por los cantones Riobamba y Colta, al oeste y sudoeste con el cantón Pallatanga, al sur con Alausí y al este con la provincia de Morona Santiago (Figura 6).

La superficie total de Guamote es de 1.221,8 km², que es el 18,5% de la superficie total de la Provincia de Chimborazo. La altitud del territorio del cantón varía entre los 2.600 y los 4.500 metros sobre el nivel del mar. La temperatura promedio es de 12 grados centígrados, siendo conocido por su clima frío. La parroquia Palmira se encuentra a una -2.08333 de latitud y -78.7167 de longitud. La parroquia Cebadas está localizada a una latitud de -1.909 y longitud de -78.64400 (134).

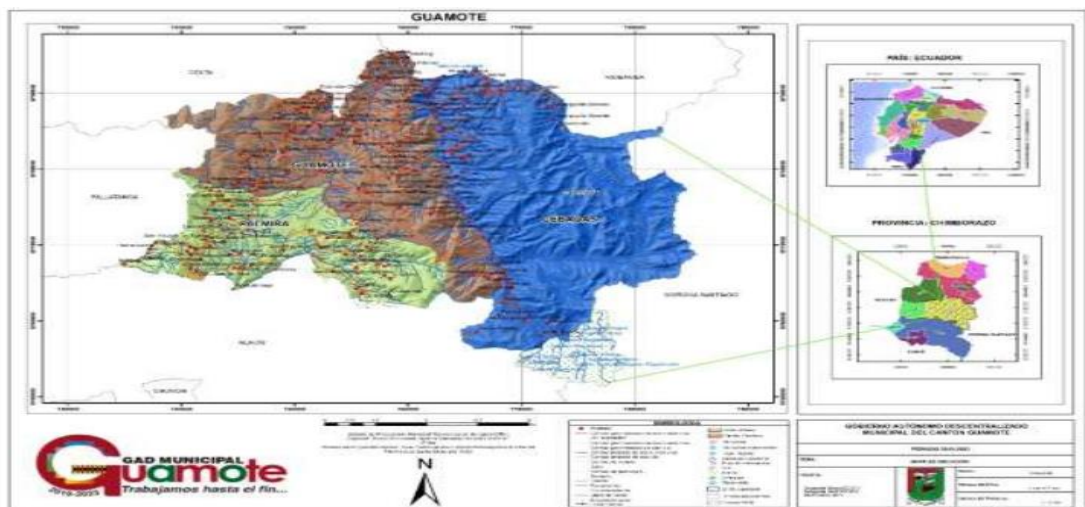


Figura 6. Mapa de ubicación cantón Guamote

Fuente: (134)

3.2 Materiales y equipos

3.2.1 Material biológico

Un total de 184 animales en producción de hatos bovinos del cantón Guamote (Cebadas, Matriz y Palmira).

3.2.2 Material para la extracción de muestras

- Guantes desechables
- Marcadores
- Overol
- Botas
- Material de sujeción (sogas)
- Nariguera
- Gasas
- Alcohol
- Jeringuillas desechables de 10 ml
- Agujas desechables calibre G 20
- Cooler
- Tubos eppendorf

3.2.3 Material para el transporte de muestras

- Cooler
- Hielo

3.2.4 Material para el laboratorio

- Guantes
- Mandil
- Kit para la detección de Anticuerpos frente a *Neospora caninum*
- Pipetas de precisión
- Puntas de pipetas amarillas universales de 200 μ l
- Puntas de pipetas transparentes de 0.5 a 10 μ l
- Tubos de dilución de 5 ml
- Canoas para reactivos

- Agua destilada
- Rollo de papel de cocina absorbentes
- Fomix A4
- Cinta scotch

3.2.5 Reactivos

- Placa tapizada con Antígeno de *N. caninum*
- Control positivo
- Control negativo
- Conjugado
- Diluyente de la muestra
- Substrato TMB n °12
- Solución de frenado n °3
- Solución de lavado concentrada (10x)

3.2.6 Materiales para la recopilación de información

- Hojas de registro
- Cámara

3.2.7 Equipos

- Equipo de Elisa
- Incubadora
- Computadora

3.3 Variables

3.3.1 Variables dependientes

Prevalencia de *Neospora caninum*

- Positivo (POS)
- Negativo (NEG)
- Sospechoso (SOSP)

3.3.2 Variables independientes

Edad: Se tomó de diferentes edades, basándose en registros y dentición de los animales agrupándose en categorías de 2 años, 3 años, 4 años, 5 años y 6 años.

Raza: Se recolectó en una hoja de campo todos los datos relacionados con la raza.

- Holstein Mestizo (HM)
- Jersey (J)
- Brown Swiss (BS)

Altura (m.s.n.m.): Para determinar esta variable se georreferenció la ubicación de los predios muestreados en coordenadas UTM (X, Y, Z), donde el valor de Z corresponde a la altura medido en metros sobre el nivel del mar.

3.4 Población y muestra

Se seleccionaron los predios ganaderos donde los propietarios estaban interesados y presentaban viabilidad logística y posesión de registros de los diferentes hatos en estudio. El total de la población bovina de los predios seleccionados fue de 352 animales, considerándose un nivel de confianza del 95%, siendo su valor tabular 1,96 con un error estimado de 0.05. El valor de p (42 %) se tomó como referencia el estudio diagnóstico realizado en Ecuador sobre la incidencia de *Neospora caninum*. El número de bovinos a muestrear fue determinado mediante la siguiente fórmula estadística:

$$n = t^2(pq)N/Nd^2 + t^2(pq)$$

Donde:

N= Población

n= Tamaño de la muestra

p= Probabilidad estimada de ocurrencia de la variable

q= Probabilidad estimada de no ocurrencia de la variable

t= Nivel de confianza

d= Proporción del error

Mediante esta fórmula, se obtuvo un tamaño de muestra de 184 animales, los que fueron distribuidos de la siguiente manera: parroquia Matriz 66 animales (36%), parroquia Cebadas 61 animales (33%) y Palmira 57 animales (31%).

3.5 Obtención de muestras

La toma de muestras se inició en el mes de julio y culminaron en agosto del 2022, con la ayuda de un brete, cabos de sujeción y nariguera se procedió a inmovilizar el animal, para luego limpiar el área de trabajo con gasa y alcohol. Cuando el área se encontró completamente limpia se procedió a realizar una punción en la vena yugular del bovino con una aguja de calibre G 20 y una jeringuilla de 10 ml. Se aseguró de que la punción con la aguja sea en el lugar correcto de la vena y con una inclinación aproximadamente de 30° con dirección del bisel hacia la cabeza.

La recolección de muestra sanguínea fue de 5 ml, con esta cantidad se procedió a expandir el embolo de la jeringa en toda su capacidad para permitir la separación del suero del hematocrito.

Después de un determinado tiempo se logró visualizar la separación de la sangre, el suero en la parte superior y el hematocrito en el fondo. Se obtuvo un suero libre de hemolisis y contaminación. Posteriormente se los depositó en tubos Eppendor debidamente rotulados y congelados para una mejor conservación de las muestras.

La rotulación de las muestras se realizó al término de la extracción de sangre de cada animal, en donde se especificaron con letra legible datos como la fecha de toma de muestra, nombre de la hacienda o propietario y el número de muestra del animal.

Posteriormente, las muestras fueron retirados de congelación y almacenadas en un cooler con pilas refrigerantes y gradillas para evitar el exceso de movimiento y mal manejo de las muestras. El almacenamiento fue de 5 a 8 ° C y más adelante fueron trasladadas al laboratorio de microbiología ubicada en la Clínica Veterinaria de la Universidad Técnica de Cotopaxi en Salache para su posterior análisis en la prueba de ELISA indirecta.

3.6 Prevalencia en el cantón Guamote

Para determinar la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos distribuidos en diferentes predios del cantón Guamote, en el periodo comprendido entre julio-agosto del 2022 se aplicó la siguiente fórmula:

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

$$p = \frac{28}{184} \times 100$$

$$p = 15.22\%$$

3.7 Tipo de investigación

El presente estudio es de tipo cuantitativo con alcance exploratorio, lo que permitirá recolectar información y reconocer las características comunes en el manejo sanitario y de salud reproductiva de los diferentes hatos en investigación.

En lo referente a las variables de interés se utilizó una investigación descriptiva que permitirá identificar las posibles causas del problema y se termina con una investigación correlacional utilizando chi-cuadrado para determinar si las variables en estudio muestran relación con la presencia de la enfermedad.

3.8 Método

Las muestras de sangre fueron tomadas de la vena yugular de cada animal, durante el período Julio - agosto de 2022. Los resultados de seropositividad se obtuvieron mediante pruebas de inmunología de ELISA indirecto, con estos resultados utilizando la fórmula de la prevalencia se realizó los respectivos cálculos para determinar la prevalencia de *Neospora caninum* en el cantón Guamote.

3.8.1 Procedimiento de la prueba de ELISA indirecta con el kit IDEXX

Neospora

Según el manual de indicaciones del Kit IDEXX Neospora el procedimiento a seguir es el siguiente: Se dejó que los reactivos adquirieran una temperatura de entre 18-26 °C antes de usarlas, seguidamente se dispensó 90 µl de diluyente de la muestra en cada pocillo, se dispenso 10 µl de control negativo no diluido en dos pocillos al igual se dispenso 10 µl de control positivo no diluido en dos pocillos que al final serán los pocillos de control. Posterior a ello se dispenso 10 µl de la muestra no diluida en los pocillos, se procedió a mezclar los contenidos de los micropocillos

removiendo suavemente la placa, se cubrió la placa y se llevó a incubar 1 hora (± 5 min) a $+ 37^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3^{\circ}\text{C}$).

Pasado este tiempo se eliminó el contenido del líquido de cada pocillo y se lavó cada pocillo con aproximadamente 300 μl de solución de lavado 3 veces evitando que las placas se sequen entre los lavados y antes de añadir el reactivo siguiente. Después del lavado final se eliminó el fluido del lavado residual de cada placa golpeándola sobre material absorbente.

Se dispense 100 μl de Conjugado en cada pocillo, seguidamente se cubrió la placa y se lo llevo a incubar 1 hora (± 5 min) a $+ 37^{\circ}\text{C}$ ($\pm 3^{\circ}\text{C}$). Pasado este tiempo se eliminó el contenido del líquido de cada pocillo y se lavó cada pocillo con aproximadamente 300 μl de solución de lavado 3 veces, se dispense 100 μl de Substrato TMB n°12 en cada pocillo y se trasladó a la incubadora por 15 minutos (± 1 min) a $18-26^{\circ}\text{C}$ posterior de a ello se dispense 100 μl de Solución de Frenado n°3 en cada pocillo para finalmente leer los resultados en el Software xChekPlus en base a la tabla 3.

Tabla 3. Interpretación de los resultados de Elisa según el kit IDEXX Neospora

Negativo	Dudoso	Positivo
$M/P \% < 30$	$30 \leq M/P \% < 40$	$M/P \% \geq 40$

Fuente: (50)

3.9 Análisis estadístico

Una vez procesadas las muestras se tabularon y se analizaron mediante estadística descriptiva y el uso de tablas facilitando así la interpretación de los resultados, al tratarse de una investigación descriptiva en Microsoft Excel se realizó la prueba de chi- cuadrado para identificar la relación existente entre las variables de estudio con la presencia de la enfermedad. A más de ello su utilizó el programa estadístico G STAT.

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Prevalencia de *Neospora caninum* en el cantón Guamote

En la tabla 4 se observa que de un total de 184 muestras sanguíneas de hembras bovinas sometidas a la prueba de ELISA indirecta se obtuvo 4 casos sospechosos con un porcentaje de 2,17%, 152 casos negativos que representa un 82,61% y 28 casos positivos que representa una prevalencia de *Neospora caninum* en el cantón Guamote del 15,22 %.

Tabla 4. Prevalencia de Neospora caninum en el cantón Guamote

	<i>N° de muestras</i>	<i>% de seroprevalencia</i>
Casos negativos	152	82,61%
Casos positivos	28	15,22%
Casos sospechosos	4	2,17%
TOTAL	184	100%

Varios estudios han obtenido porcentajes de prevalencia en rangos similares o cercanos a nuestro estudio como lo manifiesta (49) en su investigación realizada en la parroquia Ignacio Flores de Latacunga encontrando una prevalencia del 12%, de la misma manera (71) en su investigación muestreando 347 animales de raza Brown Swiss obtuvo una prevalencia de 13,2% en una empresa ganadera de la sierra central del Perú.

Sin embargo, existen otros estudios que han encontrado porcentajes de prevalencia superiores a nuestro estudio como lo manifiesta (135) quien encontró una prevalencia del 27,1% en su análisis realizado en fincas de las provincias de Pichincha, Bolívar y Santo Domingo de los Tsáchilas, a su vez (136) al analizar 265

muestras de sueros de vacas mayores de 2 años en Chachapoyas-Perú, encontró una prevalencia del 40,4% distribuidas en 24 ganaderías y de la misma manera (137) encontró una prevalencia de 51,64% en su investigación realizada en el cantón Tulcán, los mismos que son superiores a los resultados obtenidos en este estudio.

Los resultados que revelan porcentajes de prevalencia cercanos al 15,22% se debe a que la prevalencia esta favorecida por el tipo de manejo que se realiza como lo indica (71), donde se realiza una crianza extensiva y la introducción de animales nuevos es bastante limitada, pudiendo de esa forma restringirse el ingreso de animales infectados.

Mientras que aquellos porcentajes de prevalencia alejados o superiores de nuestros resultados son debido a que se realiza una crianza extensiva en donde existe la presencia de factores que contribuyen a la transmisibilidad o persistencia del parásito en los bovinos susceptibles como lo manifiesta (136), en donde indica que uno de los factores es la introducción de animales infectados, posiblemente debido al comercio clandestino de animales y a la presencia de perros infectados ya que en las ganaderías visitadas se observaron dos a tres perros como mínimo.

Sin embargo, en nuestro sector y en nuestro estudio el porcentaje de prevalencia es aún baja a comparación de otros sectores que ya han sido estudiados.

4.2 Presencia de *Neosporosis bovina* según la edad

En la tabla 5 se observa que, de un total de 184 animales muestreados, las hembras de 5 años tuvieron casos positivos más altos del 4,89% y 1 caso sospechosos que es el 0,54%, seguido por las hembras de 6 años con 4,35% de seropositividad y 1 caso de sospecha que es el 0,54% y los de 4 años con 3,26% de casos positivos y 1 caso en sospecha que es el 0,54%, a su vez las hembras de 3 y 2 años quienes tuvieron los casos positivos más bajos con 1,63% y 1,09% respectivamente y 1 caso sospechoso que representa el 0,54% en el caso de los animales de 2 años.

Tabla 5. Presencia de Neosporosis bovina según la edad

edad del bovino (años)	negativo		positivo		sospechoso		Total
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	
2	23	12,50%	2	1,09%	1	0,54%	26
3	31	16,85%	3	1,63%	0	0,00%	34
4	32	17,39%	6	3,26%	1	0,54%	39
5	36	19,57%	9	4,89%	1	0,54%	46
6	30	16,30%	8	4,35%	1	0,54%	39
Total	152	82,61%	28	15,22%	4	2,17%	184

Estadístico de la prueba: $\chi^2=4,97$ $v=8$ $p=0,95$ $\chi^2_{critico}=15,51$

Al realizar la estadística de chi-cuadrado con una probabilidad del 95% y un error del 5% no se encontraron diferencias significativas entre la edad y la enfermedad, concordando con lo mencionado por (49), quien estudió una muestra de 50 animales en la parroquia Ignacio Flores de Latacunga este estudio encontró una seropositividad más alta en animales de 2 y 6 años y las más bajas en bovinos de 4 y 7 años y no obtuvo diferencias significativas de acuerdo con las edades.

Otro estudio realizado por (9) al muestrear 36 animales en el cantón Chambo obtuvo la mayor seroprevalencia en animales mayores de 5 años y los casos positivos más bajos en animales de 3 a 5 años donde afirma que la variable edad y la prevalencia no guardan asociación alguna.

Al analizar los datos referentes a la edad en animales seropositivos a Neosporosis se puede evidenciar que en todos los grupos etarios analizados hay presencia del parásito, sin embargo, animales de mayor edad presentan usualmente una seroprevalencia más elevada, ya que han tenido mayor posibilidad de tener contacto con el parásito.

Por lo que en base a los resultados obtenidos en este estudio y corroborando con investigaciones anteriores se evidencia que no existe relación entre la presencia de la enfermedad y la edad.

4.3 Presencia de Neosporosis bovina según la raza

En la tabla 6 se observa que de los 184 animales muestreados se identificó que la raza Jersey tuvo 13 animales positivos que representa el 7.07% siendo la raza con más casos positivos, incluido 2 casos sospechosos con un porcentaje de 1,09%, seguida de la raza Holstein Freizan mestizo con 12 animales positivos siendo el 6.52% con presencia de 2 casos sospechosos que representa el 1,09% y al final encontramos la raza Brown Swis con 3 animales positivos lo que indica el 1.63% y no se encuentran casos sospechosos en esta raza.

Tabla 6. Presencia de Neosporosis bovina según la raza

Raza del bovino	negativo		positivo		sospechoso		Total
	Numero	Porcentaje	Numero	Porcentaje	Numero	Porcentaje	
Holstein freizan mestizo	56	30,43%	12	6,52%	2	1,09%	70
Jersey	78	42,39%	13	7,07%	2	1,09%	93
Brown Swis	18	9,78%	3	1,63%	0	0,00%	21
Total		82,61%		15,22%		2,17%	184

Estadístico de la prueba: $\chi^2=0,98$ $v=8$ $p= 0,95$ $\chi^2_{critico}=9,49$

Al realizar la estadística de chi-cuadrado con una probabilidad del 95% y un error del 5% no se encontraron diferencias significativas entre la raza y la enfermedad, concordando con lo mencionado por (49) en donde de 50 animales muestreados en la parroquia Ignacio Flores los de raza Holstein y Criolla obtuvieron mayor seropositivos del 6% y 1 caso sospechoso en la raza Holstein que representa el 2% indicando que no existe diferencias significativas entre la raza y la enfermedad.

Otro estudio realizado en el cantón Chambo por (9), al muestrear 36 hembras encontró que 6 animales fueron positivos de la raza Holstein lo que representa el 60% mientras que para las otras razas como Brown Swiss tuvo el 20 % y las F1 20 % con 2 animales respectivamente, no obstante, manifiesta que se debe tomar en

cuenta que los casos positivos son debido a la proporcionalidad tomada de las distintas razas, más no que el vacuno por ser de la raza Holstein tenga una mayor probabilidad de habitar al parásito. A su vez (138), al analizar 131 sueros de hembras bovinas procedentes de Cuenca, no encontró asociación estadística entre la raza y la presencia de la enfermedad.

Al analizar los datos de esta investigación referente a la raza en animales seropositivos a Neosporosis se puede evidenciar que el porcentaje de casos positivos se da por la cantidad de animales muestreados de cada una de las razas, más no porque sea una raza más susceptible que otra para contraer la enfermedad. Además, se observó que la infección está presente en la todas las razas estudiadas, por lo que en base a los resultados obtenidos en este estudio y corroborando con la literatura se evidencia que no existe relación entre la presencia de la enfermedad y la raza.

4.4 Presencia de *N caninum* según la altura (msnm)

En la tabla 7 se observa que de los 184 animales muestreados se identificó que mayores casos positivos se obtuvo a una altura de 2750 a 3000 msnm con 16 casos positivos que representa el 8,70% con 3 casos sospechosos con un porcentaje de 1,63% y 89 casos negativos con un porcentaje de 48,37%, a una altura mayor a 3000 msnm se obtuvo 12 casos seropositivos con un porcentaje de 6,52% con 1 caso en sospecha que representa el 0,54% y con 63 casos negativos con un porcentaje de 34,24%.

Tabla 7. Presencia de Neosporosis bovina según la altura

Altura	Negativo		Positivo		Sospechoso		Total
	Numero	Porcentaje	Numero	Porcentaje	Numero	Porcentaje	
2750-3000	89	48,37%	16	8,70%	3	1,63%	108
> 3000	63	34,24%	12	6,52%	1	0,54%	76
TOTAL	152	82,61%	28	15,22%	4	2,17%	184

Estadístico de la prueba: $\chi^2=0,21$ $v=8$ $p=0,95$ $\chi^2_{critico}=5.99$

Al realizar la estadística de chi-cuadrado con una probabilidad del 95% y un error del 5% no se encontraron diferencias significativas entre la altura y la enfermedad, concordando con (144) el mismo que menciona en su investigación que la ubicación geográfica de los hatos muestreados no son un factor influyente en la presentación de *N. caninum*, ya que los dos departamentos en estudio se encuentran en diferentes alturas y por tanto de diferentes temperaturas, pues los animales que viven a mayor y menor altura no tienen diferencias significativas para la exposición de los animales al parásito.

A su vez (145) afirma que la prevalencia de *N. caninum* está asociada más al tipo de explotación que con la ubicación geográfica no encontrando diferencias significativas en su estudio entre la ubicación y la presencia de la enfermedad.

Al analizar los datos de esta investigación referente a la altura se pudo evidenciar que los mayores casos positivos se reflejan debido a el número de animales muestreados a esa altura (2750-3000 msnm), más no porque dicha altura sea más susceptible para contraer la enfermedad, a más de ello se puede evidenciar que la enfermedad se encuentra presente en los dos rangos de altura en estudio, por tal motivo se deduce que el contacto de los animales con *N. caninum* en gran medida depende de otros factores como el manejo y no de variables externas a la producción como las ambientales.

4.5 Plan sanitario propuesto para prevenir y controlar la Neosporosis.

Uno de los objetivos de este trabajo fue desarrollar un programa sanitario para la prevención y control del parásito, por lo que a continuación se describe el plan que los ganaderos y productores deben poner en marcha para poder erradicar este protozoo de los rebaños.

- **Empleo de estrategias de educación en la población propensa**

Recolectar información sobre hábitos, costumbres, habilidades, creencias y actitudes de la comunidad que contribuyen a la continua propagación de la neosporosis bovina, realizar conferencias con los productores dando a conocer sobre los problemas que puede traer este parásito a las ganaderías y sobre todo el riesgo que conlleva a alimentar a los perros con despojos de viseras, carne cruda y

restos de placentas o abortos a perros provenientes de ganado bovino. Un estudio realizado en Junín-Perú (139) manifiesta que el manejo inadecuado del personal a cargo de los animales constituye un factor de riesgo para la presentación de casos positivos de neosporosis, las buenas prácticas en el manejo del personal incluyen que el mismo debe gozar de buena salud (con certificación médica anual), capacitaciones continuas para la mejora de su labor y de los animales a su cargo y como obtener un producto inocuo, de la misma manera (140) manifiesta en su investigación que el poco conocimiento de la enfermedad en el país y más aún del ciclo biológico del parásito se debe realizar capacitaciones a los ganaderos para que realicen buenas prácticas ganaderas y así poder controlar la enfermedad en su hatos.

- **Vigilancia Epidemiológica**

Diagnosticar al ganado y perros con serología positiva, recolectar información sobre casos de neospora bovina (distribución geográfica y comportamiento de la enfermedad en la región) mediante encuestas documentadas a los productores. Corroborando con un estudio realizado en Argentina (141) en el cual manifiesta que se debe realizar el diagnóstico de los bovinos que presenten serología positiva y aplicar encuestas a los productores en donde se exprese las medidas sanitarias realizadas, presencia de terneros con sinología neuromuscular y tenencia de perros en los hatos.

- **Control Transmisión Endógena (Vertical)**

Realizar notificaciones y cuarentena de vacas con antecedentes de aborto, para ello, cada animal abortado debe ser registrado previo diagnóstico serológico, en el caso de que los animales presenten serología positiva e historial de abortos reponerlos, no realizar reposición con hijas de vacas seropositivas, venta o eliminación de animales con historial de abortos y seropositivos, exámen diagnóstico de la leche mediante serología hasta 3 veces al año, aislamiento de terneros con síntomas neurológicos y controlar el estado del alimento por existencia de micotoxinas las mismas que podrían causar inmunodepresión reactivando de esta manera los casos de infección crónica, realizar transferencia de embriones para evitar la transmisión vertical.

A si lo corrobora (142) en donde manifiesta que para realizar un control de la transmisión horizontal se debe reducir el número de vacas lecheras infectadas en el hato mediante el reemplazo solamente con vacas seronegativas a más de ello indica que se debe remover y eliminar rápidamente fetos abortados, placentas y becerros muertos, de la misma manera (140) indica que la transferencia de embriones ha demostrado ser un método eficaz en la prevención de la transmisión vertical del *N. caninum* en bovinos, mediante el uso de donadoras y receptoras que sean seronegativas, este método sin duda exige de un mayor nivel de monitoreo de la enfermedad y de bioseguridad a nivel de las fincas o centrales de transferencia para generar o producir animales seronegativos a *Neospora caninum*.

- **Control Transmisión Exógena (Horizontal)**

Mejorar las instalaciones del predio como cercos, entradas a la sala de ordeño y comederos de animales, enterrar el material biológico procedente de partos o abortos y no permitir que los perros tengan acceso a consumirlo, evitar el contacto de perros con bovinos muertos, material fetal, placenta y calostro, preferir agua potable o de pozo para el consumo de las vacas ya que los canales o acequias son un factor de riesgo, poseer una ley de tenencia responsable de perros para el control de perros vagos, realizar exámenes serológicos a los perros sobre todo a aquellos animales que presentan signos neurológicos y realizar el control de animales que actúan como vectores mecánicos (roedores, aves de corral, perros y gatos).

Esta información es confirmada por (142) el mismo que indica que para prevenir la transmisión transplacentaria exógena (horizontal) hay que evitar el ingreso de perros u otros cánidos a las instalaciones para prevenir que éstos consuman fetos y placentas infectados y así minimizar la contaminación fecal con la posible presencia de ooquistes de *Neospora caninum* que contaminen el agua y alimento que consumen los bovinos y reducir la fauna nociva como roedores silvestres, de la misma manera lo detalla (143) que manifiesta que el control que se debe realizar para evitar la transmisión horizontal es limitar el acceso de los perros al alimento y agua que consume el ganado bovino para impedir la posible diseminación de ooquistes a través de la materia fecal. También es importante eliminar fetos

abortados y placentas para evitar la ingestión de posibles tejidos infectados con *N. caninum* por parte de los hospedadores definitivos.

4.6 Impactos

4.6.1 Sanitario

En humanos no se ha informado infección por *Neospora caninum*, pero en algunos casos pueden diagnosticarse erróneamente como infección por *Toxoplasma gondii*. Han existido informes de exposición humana a *Neospora caninum* por inmunofluorescencia indirecta; sin embargo, se necesitan más pruebas para determinar el alcance de la exposición y las posibles reacciones cruzadas que podrían afectar estas interacciones.

4.6.2 Social

El Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Guamote no posee ordenanzas que regule la protección, tenencia y control de caninos, por tal motivo la situación de los perros abandonados en las calles es dramática ya que tampoco hay proyectos ni normativas futuras. Otra debilidad del cantón es que no existen campañas de esterilización y desparasitación, por lo que no se puede controlar la tasa de concepción de estos.

El impacto social positivo que se busca con esta investigación es generar información para que los pequeños productores del cantón eviten que los animales positivos a neosporosis sean utilizados para la reproducción y que posteriormente se transmita la enfermedad verticalmente.

4.6.3 Ambiental

Los perros pueden infectarse con el parásito al ingerir tejidos bovinos infectados como fetos abortados, placenta, calostro o leche. Una vez cumplido su ciclo digestivo, eliminan ooquistes por las heces, contaminando así los pastos, forraje, agua de bebida y alimento almacenado para el ganado.

Para no tener un impacto ambiental por la presencia de un aborto, el feto y la placenta deben ser removidos (quemados con cal apagada o enterrados profundamente) y su manipulación debe realizarse con guantes, ya que pueden existir enfermedades que pueden transmitirse a los humanos.

4.6.4 Técnico

La presencia de neosporosis puede verse influenciada por diversas prácticas de manejo, como la alimentación, el saneamiento, la higiene, el manejo de los animales, los criterios de selección y el reemplazo que se practican comúnmente en el hato. Mediante esta investigación, al realizar los análisis por medio de la prueba de ELISA indirecta en los bovinos ase beneficiara a los pequeños productores del sector y a la salud de los rebaños.

4.6.5 Económico

Para que no existan pérdidas económicas afectando a los ganaderos debido a los abortos, intervalos muy largos entre partos, baja producción láctea y repeticiones de celo debido a la presencia de *N. caninum* ya que esta es una enfermedad que causa daños a nivel reproductivo.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Mediante la utilización de la prueba de Elisa indirecta con una especificidad y sensibilidad de la prueba del 99 al 100%, se pudo evidenciar la detección de anticuerpos de *Neospora caninum* presente en los diferentes hatos en estudio, encontrando un 15,22% de casos seropositivos, 82,61% de casos seronegativos y un de 2,17% de casos sospechosos.
- Al realizar el análisis estadístico de chi-cuadrado se comprobó que la raza de los bovinos (Holstein mestizo, Jersey y Brown Swiss), la edad (1 a 6 años) y la altura (2750-3000 msnm y >3000 msnm) no determinan la prevalencia de *Neospora caninum* puesto que estadísticamente las variables en estudio no presentan diferencias significativas, es decir, las variables no presentan una relación con la presencia de la enfermedad.
- Mediante la búsqueda de información se realizó un plan básico a seguir por los ganaderos del cantón Guamate para controlar y prevenir la *Neospora caninum* misma que alberga recomendaciones desde la capacitación a los ganaderos, vigilancia epidemiológica, control de la transmisión vertical y control de la transmisión horizontal para evitar de esta manera la propagación de este protozoo.

5.2 RECOMENDACIONES

- Continuar investigando la prevalencia de *Neospora caninum* en otras zonas ganaderas, y así obtener datos reales sobre la enfermedad para futuros debates nacionales, que abran paso a la generación de políticas públicas para regular la fauna urbana y rural y garantizar la salud animal.
- Se recomienda realizar pruebas periódicas de los hatos en producción, incluso a las vacas que no producen, para prevenir la propagación de la enfermedad.
- Se recomienda la aplicación del ELISA para la aproximación diagnóstica en bovinos, ya que es una herramienta útil para la monitorización y control de la enfermedad en los rodeos, ya que permite la detección de los animales infectados, lo que ayuda a la toma de decisiones respecto de su permanencia o introducción en el rodeo de hembras destinadas a reproducción.
- Se recomienda a las autoridades parroquiales, cantonales, provinciales y a nivel nacional que se designe presupuesto para que se hagan estudios con una población mayor y se incluyan nuevas variables de estudio como el sexo y factores de riesgo asociadas a la enfermedad.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anderson M, Blanchard P, Barr B, Dubey J, Hoffman R, Conrad P. Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* [Internet]. 1991 [cited 2021 Aug 27];198(2):241–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2004983/>
2. Pabón M. Estudio de la neosporosis en vacuno lechero en Cataluña. Univ Barcelona. 2007;
3. Vargas J, Cortés J. Neospora caninum, ¿Una Zoonosis Potencial? *Rev Salud Anim.* 2001;3(1):89–93.
4. Bañales P, Delucchi L, Easton C, Piaggio J. Inia Tacuarembó enfermedades que afectan rproduccion en bovinos. enfermedades que afect a bov neosporosis. 2015
5. Calandra P, Di Matía J, Cano D, Odriozola E, García J, Späth E, et al. Neosporosis epidémica y endémica: descripción de dos eventos en bovinos para cría. *Rev Argent Microbiol* [Internet]. 2014 Oct 1 [cited 2021 Aug 27];46(4):315–9. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-argentina-microbiologia-372-articulo-neosporosis-epidemica-endemica-descripcion-dos-S0325754114700896>
6. Piaggio J, Delucchi L, Bañales P, Easton DC. Universidad de la República Facultad de Veterinaria Programa de Educación Continua. Actual en neosporosis. 2007;
7. Rodríguez Am. Transmisión horizontal y vertical de neospora caninum en tres sistemas de cría bovina. *biomass chem eng.* 2015;49(23–6):1–15.
8. Déborah C. Neosporosis [Internet]. 2021 [cited 2021 Sep 1]. Available from: http://planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R98/R98_36.
9. Feijoo J. Prevalencia de Neospora caninum en un hato de producción lechera

en el Criadero Santa Catalina en el cantón Chambo. 2020

10. Morales E. Neosporosis bovina: control y prevención. Sitio Argentino Prod Anim [Internet]. 2016 [cited 2021 Aug 20];1–2. Available from: www.produccion-animal.com.ar
11. Sarmiento, S. y Naulaguari L. neosporosis bovina. Laminitis Bovina. 2019. 17 p.
12. Quispe Morocco MN. Seroprevalencia de Neospora caninum en vacunos brown swiss en el distrito de caracoto - puno”. univ nac del altiplano [internet]. 2017 [cited 2021 aug 20]; available from: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/unap/4217>
13. Oña W. Determinación de neospora caninum en el cantón cayambe: relación canina – bovino. 2018 [cited 2021 aug 20];12–3. available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/11984/1/t-uce-0014-033-2016.pdf%0ahttp://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6910>
14. De Cría S, Rodríguez B, Martín A. Transmisión horizontal y vertical de neospora caninum en tres. 2015;
15. Yucaza M. Determinación de Neospora caninum en el cantón Mejía. Univ cent del Ecuador. 2015;
16. Antonio J, Hirose M, Mata Villegas AE. Neosporosis como causa de abortos en el ganado bovino [Internet]. 1996 [cited 2021 Aug 20]. Available from: <https://fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol7/CVv7c3.pdf>
17. Álvarez DM, 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. Repos tesis. 2016;
18. Moore A, Odeón DP, Venturini AC, Campero MC; Revista Argentina de Microbiología. Rev Argent Microbiol [Internet]. 2005 [cited 2022 Aug 2];37:217–28. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=213016800011>
19. Kula D, Gökpınar S. Seroprevalence of Neospora caninum and Besnoitia besnoiti in Cattle in Oğuzlar Region. Turkiye parazitolojii Derg [Internet]. 2021 Jun 7 [cited 2022 Aug 2];45(2):108–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34103286/>
20. Nasir A, Lanyon SR, Schares G, Anderson ML, Reichel MP. Seroprevalence of Neospora caninum and Besnoitia besnoiti in South Australian beef and dairy cattle. Vet Parasitol [Internet]. 2012 May 25 [cited 2022 Aug 2];186(3–4):480–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22138306/>
21. Hall CA, Reichel MP, Ellis JT. Prevalence of Neospora caninum infection in Australian (NSW) dairy cattle estimated by a newly validated ELISA for milk. Vet Parasitol [Internet]. 2006 Nov 30 [cited 2022 Aug 2];142(1–2):173–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16876950/>

22. Mehlhorn H. *Neospora caninum*. In: Encyclopedia of Parasitology [Internet]. 2016 [cited 2022 Aug 2]. p. 1888–90. Available from: <https://www.monografias.com/trabajos30/neospora-caninum/neospora-caninum>
23. Bernadó Fonz AL. Estado actual de la neosporosis en España. *Repos Univ Zaragoza*. 2016;1–33.
24. Risco Castillo V, Ortega Mora Aurora Fernández García M. Identificación y caracterización de antígenos específicos del estadio de bradizoíto de *Neospora caninum*; memoria para optar al grado de doctor presentada por bajo la dirección de los doctores. 2008
25. López P, Giangreco J, Guerrero S; Neosporosis canina: la enfermedad y sus factores de riesgo. *Repos tesis*. 2019;
26. Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol*. 1996 Dec 2;67(1–2):1–59.
27. Ruíz N, Casas E, Suárez F, Díaz D, Fernández V. Frecuencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* en canes con signos clínicos de afección neuromuscular frequency of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs with clinical signs of neuromuscular disease. *rev inv vet Perú*. 2012;23(4):441–7.
28. Patitucci A, Pérez J, Israel F, Rozas A. Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* en dos rebaños lecheros de la IX Región de Chile. *Arch Med Vet* [Internet]. 2000 [cited 2022 Aug 2];32(2):209–14. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2000000200008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
29. Hecker Y, Scientific N, Caffarena D, Campero C. Situación de la neosporosis en un establecimiento lechero de la provincia de Córdoba. 2009;(December).
30. Lyon C. Update on the Diagnosis and Management of *Neospora caninum* Infections in Dogs [Internet]. Vol. 25, *Topics in Companion Animal Medicine*. Top Companion Anim Med; 2010 [cited 2022 Aug 2]. p. 170–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20937501/>
31. Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(2):323–67.
32. Moreno S. Aislamiento, caracterización morfológica y preliminar molecular de *Neospora Caninum* de fetos bovinos abortados de Cundinamarca y Cesar [Internet]. 2019 [cited 2022 Aug 2]. Available from: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/76589>
33. Dubey J, Sreekumar C, Knickman E, Miska B, Vianna B, Kwok H, et al. Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. *Int J Parasitol*. 2004 Sep 1;34(10):1157–67.
34. Performance R. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. Trop Subtrop

- Agroecosystems [Internet]. 2006 [cited 2022 Aug 2];1(6):117–22. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93920942025>
35. Dubey J, Barr B, Barta J, Bjerkås I, Björkman C, Blagburn B, et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int J Parasitol*. 2002 Jul 1;32(8):929–46.
 36. Manuel J, Herrera S. “Frecuencia de anticuerpos de *Neospora caninum* en perros pastores de camélidos sudamericanos en Huaytará, Huancavelica.” Univ Peru CayetanoHeredia. 2022;
 37. José J, Carrasco O. Repercusión de la neosporosis bovina en la producción. *rev mex agroecosistemas*. 2019;6(2):16–8.
 38. Almería S. *Neospora caninum* and Wildlife . *ISRN Parasitol*. 2013 Jun 24;2013:1–23.
 39. Silva C, Machado P. Canine neosporosis: perspectives on pathogenesis and management. *Vet Med Res Reports [Internet]*. 2016 Apr [cited 2022 Aug 2];7:59. Available from: [/pmc/articles/PMC6055790/](http://pmc/articles/PMC6055790/)
 40. Macias M, Ramírez M. Estatus sanitario de *Neospora caninum* en ganaderías bovinas de centros de investigación de Agrosavia. Univ la Salle [Internet]. 2018 [cited 2022 Aug 2]; Available from: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinariaM.
 41. Pereyra R, Suarez H, Cardoso N, Gual I, Martínez M, Capozzo V, et al. Prevalencia sérica de *Neospora caninum* y factores de riesgo asociados a su transmisión en tambos de la provincia de Salta, Argentina. *Rev Argent Microbiol*. 2021 Apr 1;53(2):145–53.
 42. Inia. Neosporosis bovina: signos clínicos, diagnóstico, prevención y control instituto de investigaciones agropecuarias inia remehue 20 leche. minist agric [internet]. 2018 [cited 2022 aug 2]; available from: <http://www.actualidadganadera>.
 43. 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. *Rev la Fac Med Vet y Zootec [Internet]*. 2019 Sep 1 [cited 2022 Aug 2];66(3):197–207. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-29522019000300197&lng=en&nrm=iso&tlng=es
 44. Campero LM, Moreno-Gonzalo J, Venturini MC, Moré G, Dellarupe A, Rambeaud M, et al. An Ibero-American inter-laboratory trial to evaluate serological tests for the detection of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle. 2017 [cited 2022 Aug 2]; Available from: <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1401-x>
 45. Lindsay S, Dubey P, Duncan B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol*. 1999;82:327–33.

46. Gädicke P, Junod T, López-Martin J, Ortega R, Monti G. Enfermedades abortigénicas en lecherías de la Provincia de Ñuble: prevalencia y análisis espacial. *Arch Med Vet.* 2016;48(1):19–28.
47. Ansari-Lari M. Bovine neosporosis in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Prev Vet Med.* 2020 Mar 1;176:104913.
48. López V, Gustavo; Restrepo J, Berta N; Restrepo I, Marcos; Lotero C MAME, Victoria E; Chica, Andrés; Cano, Jonathan; Giraldo J. Study to demonstrate the presence of neospora caninum in bovines of the property san pedro in the fredonia. *rev ces med vet y zootec [internet].* 2007;2, pp(núm. 1, enero-juni):7–20. available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321428097001>
49. Iza P. Prevalencia de Neosporosis en Bovino en el Cantón Latacunga Parroquia Ignacio Flores. Universidad Técnica De Cotopaxi Facultad. 2020. 8–24 p.
50. Corbellini LG, Pescador CA, Frantz F, Wunder E, Steffen D, Smith DR, et al. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to Neospora caninum infection: importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. *Vet J [Internet].* 2006 Jul [cited 2022 Aug 2];172(1):114–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16772136/>
51. De Souza G, Amatti Z, Garcia V, Costa R, Minutti F, Martins A, et al. Neospora caninum infection and reproductive problems in dairy cows from Brazil: A case-control study. *Vet Parasitol Reg Stud Reports.* 2022 Feb 1;28:100683.
52. Fávero F, Da Silva S, Campigotto G, Machado G, Daniel de Barros L, Garcia JL, et al. Risk factors for Neospora caninum infection in dairy cattle and their possible cause-effect relation for disease. *Microb Pathog.* 2017 Sep 1;110:202–7.
53. Bartels M, Arnaiz-Seco I, Ruiz-Santa-Quitera A, Björkman C, Frössling J, Von Blumröder D, et al. Supranational comparison of Neospora caninum seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden. *Vet Parasitol [Internet].* 2006 Apr 15 [cited 2022 Aug 2];137(1–2):17–27. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16417972/>
54. López-Gatius F, García-Ispuerto I, Santolaria P, Yániz J, Nogareda C, López-Béjar M. Screening for high fertility in high-producing dairy cows. *Theriogenology [Internet].* 2006 May [cited 2022 Aug 2];65(8):1678–89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16256186/>
55. Sanderson W, Gay M, Baszler V. Neospora caninum seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Vet Parasitol.* 2000 Jun 10;90(1–2):15–24.
56. Nogareda C. Estudio de neosporosis en tanque a granel y muestras individuales de leche y su relación con el manejo de la granja y la calidad de

- la leche [Internet]. ReseachGatePaper. 2011 [cited 2022 Aug 2]. Available from:
https://www.researchgate.net/publication/287323577_Study_of_neosporosis_in_bulk_tank_and_individual_milk_samples_and_their_relationship_with_farm_management_and_milk_quality
57. Zhang H, Lee G, Yu L, Kawano S, Huang P, Liao M, et al. Identification of the cross-reactive and species-specific antigens between *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* tachyzoites by a proteomics approach. *Parasitol Res* [Internet]. 2011 Sep 2 [cited 2022 Aug 2];109(3):899–911. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-011-2332-5>
 58. De Meerschman F, Rettignera C, Focant C, Boreux R, Pinset C, Leclipteux T, et al. Use of a serum-free medium to produce in vitro *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* tachyzoites on Vero cells. *Vet Res* [Internet]. 2002 Mar 1 [cited 2022 Aug 2];33(2):159–68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2002004>
 59. Dubey J. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* [Internet]. 2003 [cited 2022 Aug 2];41(1):1. Available from: </pmc/articles/PMC2717477/>
 60. Gondim P, McAllister M, Pitt C, Zemlicka E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol*. 2004 Feb 1;34(2):159–61.
 61. Bartels M, Van Schaik G, Veldhuisen P, Van Den Borne P, Wouda W, Dijkstra T. Effect of *Neospora caninum*-serostatus on culling, reproductive performance and milk production in Dutch dairy herds with and without a history of *Neospora caninum*-associated abortion epidemics. 2007 [cited 2022 Aug 2]; Available from: www.elsevier.com/locate/prevetmed
 62. Serna D. Estudio serológico sobre neosporosis en bovinos con problemas reproductivos en Montería, Córdoba, Colombia. *Rev MVZ Córdoba* [Internet]. 2007 Jan 1 [cited 2022 Aug 2];12(1):929–33. Available from: <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/437>
 63. West M, Pomroy E, Collett G, Hill I, Ridler L, Kenyon R, et al. A possible role for *Neospora caninum* in ovine abortion in New Zealand. *Small Rumin Res*. 2006 Mar 1;62(1–2):135–8.
 64. López-Gatius F, Ló Pez-Béjar M, Murugavel K, Pabó N M, Ferrer D, Almeriáalmeriá S. *Neospora*-associated Abortion Episode over a 1-Year Period in a Dairy Herd in North-east Spain. *Dep Anim Prod Univ Lleida, Lleida, Spain* [Internet]. 2004 [cited 2022 Aug 2]; Available from: www.blackwell-synergy.com
 65. Hipra. Neosporosis bovina. Información sobre enfermedades animales [Internet]. 2017 [cited 2022 Aug 2]. Available from: <https://www.hipra.com/portal/es/hipra/knowledge/bgdetail/bovine-neosporosis/bovine-neosporosis>

66. Serrano M. Neospora caninum part 2 Peru 2008. 2008;24:9–14.
67. Ferrero A, Fernández G, Cagnoli I. Diagnóstico de fallas reproductivas en un rodeo de cría. 2017
68. Salinas E. Neosporosis bovina: control y prevención. sitio argentino prod anim [internet]. 2016 [cited 2022 aug 2]; available from: www.produccion-animal.com.ar
69. Senasa. Neosporidiosis: recomendaciones para su control y prevención | [Internet]. 2022 [cited 2022 Aug 2]. Available from: <http://www.senasa.gob.ar/senasa-comunica/noticias/neosporidiosis-recomendaciones-para-su-control-y-prevencion>
70. Venturini C, Venturini L. Reunión de la academia de agronomía y veterinaria actualización en neosporosis bovina balcarce 2006. Reun la Acad Agron y Vet. 2006;1–5.
71. Puray N. Prevalencia de neospora caninum en bovinos de una empresa ganadera de la sierra central del Perú. investig vet del Perú, rivep [internet]. 2006 [cited 2022 aug 2];17:189–94. available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371838845018>
72. Sante R, Serrano-Martínez E. Neosporosis en alpacas de la provincia de Huaytará, Huancavelica, Perú. Rev Investig Vet del Perú. 2018;29(4):1456–62.
73. Montiel T. Neosporosis bovina en ranchos ganaderos de la zona norte del estado de veracruz, México. 2011 [cited 2022 Aug 2];13(3):469–79. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93920942025>
74. Schwab E, Geary G, Baillargeon P, Schwab J, Fecteau G. Association of Bola drb3 and dqa1 alleles with susceptibility to Neospora caninum and reproductive outcome in Quebec Holstein cattle. Vet Parasitol. 2009 Oct 28;165(1–2):136–40.
75. Gualan A, Alexander F, Martines C, Belen M. Determinación de la Incidencia de Neospora caninum en Bovinos en el Trópico Húmedo (Provincia Sucumbíos - Shushufindi). 2021;
76. Zambrano J. Neospora caninum en bovinos, evaluación serológica [Internet]. 2017 [cited 2022 Aug 2]. Available from: <https://encolombia.com/veterinaria/publi/acovez/ac261/acovez26101evaluacion/>
77. Renata S, Salaberry S, Liria, Okuda H, Figueiredo De Castro Nassar A, Ribeiro De Castro J, et al. Prevalence of Neospora caninum antibodies in sheep flocks of Uberlândia county, MG Prevalência de anticorpos anti-Neospora caninum em rebanhos de ovinos do município de Uberlândia, MG. Rev Bras Parasitol Vet [Internet]. 2010 [cited 2022 Aug 2];148–51. Available from: www.cbpv.com.br/rbpv
78. Macchi M. Estudio epidemiológico de la neosporosis bovina del rodeo

- lechero en el Uruguay. Repos tesis. 2019;
79. Llano B, Guimarães S, Soares M, Polo G, da Silva AC. Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* infection in cattle from the eastern Antioquia, Colombia. *Vet Anim Sci.* 2018 Dec 1;6:69–74.
 80. Medina M. Transmisión vertical/horizontal de *neospora caninum* en un hato infectado naturalmente [internet]. universidad de colima. 2008 [cited 2022 Aug 3]. Available from: <http://docplayer.es/30476447-Universidad-de-colima-programa-interinstitucional-en-ciencias-pecuarias.html>
 81. Nathann C. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro [Internet]. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* versión impresa ISSN 1609-9117. 2004 [cited 2022 Aug 3]. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172004000100010
 82. Thurmond MC, Anderson ML, Blanchard PC. Secular and seasonal trends of *Neospora* abortion in California dairy cows. *J Parasitol.* 1995;81(3):364–7.
 83. Echaide I. La neosporosis bovina Volver a: Enfermedades de la reproducción. *Jorn sobre enfermedades emergentes del Bov fav unrc, Río Cuarto* [Internet]. 2000 [cited 2022 Aug 3]; Available from: www.produccion-animal.com.ar
 84. Reichel P, McAllister M, Pomroy E, Campero C, Ortega-Mora M, Ellis T. Control options for *Neospora caninum* – is there anything new or are we going backwards? *Parasitology* [Internet]. 2014 [cited 2022 Aug 3];141(11):1455–70. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/abs/control-options-for-neospora-caninum-is-there-anything-new-or-are-we-going-backwards/42DB363AD7666F06474402B6691AB10B>
 85. Gondim P, Mineo R, Schares G. Importance of serological cross-reactivity among *Toxoplasma gondii*, *Hammondia* spp., *Neospora* spp., *Sarcocystis* spp. and *Besnoitia besnoiti*. *Parasitology.* 2017;144(7):851–68.
 86. Kul O, Kabakci N, Yildiz K, Öcal N, Kalender H, Ilkme NA. *Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle: The first clinical neosporosis report in Turkey. *Vet Parasitol.* 2009 Jan 22;159(1):69–72.
 87. Gos L, Manazza JA, Späth EJA, Pardini L, Fiorentino MA, Unzaga JM, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats from two Argentinean provinces. *Open Vet J* [Internet]. 2017 Nov 7 [cited 2022 Aug 3];7(4):319–22. Available from: <https://www.ajol.info/index.php/ovj/article/view/163144>
 88. Ismael A., Ayelen; Giangreco, Sergio; Guerrero I. Diagnóstico de neosporosis en un canino adulto a partir de un síndrome convulsivo. 2018;1–25. Available from:

<https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/handle/123456789/1770>

89. Fredes F. Neospora. 2002. Actualización en neosporosis. [Internet]. 2007. Available from: https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/20256/1/F_VET_PiaggioJ_2007_Act.Neosporosis.PDF
90. Álvarez-García G, Collantes-Fernández E, Costas E, Rebordosa X, Ortega-Mora L. Neosporosis bovina en Argentina. *Vet Res.* 2003;34(3):341–52.
91. Mainato M. Neosporosis bovina. Univ Cuenca [Internet]. 2019;73. Available from: <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6879%0Ahttps://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3051/1/mv168.pdf>
92. Moreno B, Collantes-Fernández E, Villa A, Navarro A, Regidor-Cerrillo J, Ortega-Mora LM. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. *Vet Parasitol.* 2012 Jun 8;187(1–2):312–8.
93. Dubey J. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol.* 1999 Aug 1;84(3–4):349–67.
94. Dubey J. Neosporosis en bovinos [internet]. Neosporosis en bovinos. 2003 [cited 2022 Aug 3]. Available from: <https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=145700#>
95. Alvarez-García G, García-Culebras A, Gutiérrez-Expósito D, Navarro-Lozano V, Pastor-Fernández I, Ortega-Mora L. Serological diagnosis of bovine neosporosis: A comparative study of commercially available ELISA tests. *Vet Parasitol.* 2013 Nov 15;198(1–2):85–95.
96. Trees J, McAllister M, Guy S, McGarry W, Smith RF, Williams L. *Neospora caninum*: oocyst challenge of pregnant cows. *Vet Parasitol.* 2002 Oct 16;109(1–2):147–54.
97. Gädickea P, Monti G. Aspectos epidemiológicos y de análisis del síndrome de aborto bovino. *Arch Med Vet* [Internet]. 2008 [cited 2022 Aug 3];40(3):223–34. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2008000300002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
98. Yao L, Yang N, Liu Q, Wang M, Zhang W, Qian WF, et al. Detection of *Neospora caninum* in aborted bovine fetuses and dam blood samples by nested PCR and ELISA and seroprevalence in Beijing and Tianjin, China. *Parasitology* [Internet]. 2009 Sep [cited 2022 Aug 3];136(11):1251–6. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/abs/detection-of-neospora-caninum-in-aborted-bovine-fetuses-and-dam-blood-samples-by-nested-pcr-and-elisa-and-seroprevalence-in-beijing-and-tianjin-china/BAC7B775D74D02EA04E425A0A8D3851F>

99. González-Warleta M, Castro-Hermida JA, Regidor-Cerrillo J, Benavides J, Álvarez-García G, Fuertes M, et al. Neospora caninum infection as a cause of reproductive failure in a sheep flock. *Vet Res* [Internet]. 2014 Aug 26 [cited 2022 Aug 3];45(1):1–9. Available from: <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13567-014-0088-5>
100. Kengradomkij C, Inpankaew T, Kamyngkird K, Wongpanit K, Wongnakphet S, Mitchell TJ, et al. Seroprevalence and risk factors associated with exposure of water buffalo (*Bubalus bubalis*) to *Neospora caninum* in northeast Thailand. *Vet Parasitol*. 2015 Jan 15;207(1–2):156–60.
101. Dubey J, Schares G, Ortega-Mora LM. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2007 Apr [cited 2022 Aug 2];20(2):323. Available from: </pmc/articles/PMC1865591/>
102. Dubey J, Schares G. Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet Parasitol*. 2006 Aug 31;140(1–2):1–34.
103. Maley SW, Buxton D, Thomson KM, Schriefer CES, Innes EA. Serological analysis of calves experimentally infected with *Neospora caninum*: a 1-year study. *Vet Parasitol*. 2001 Mar 5;96(1):1–9.
104. Jolley R, McAllister M, McGuire M, Wills A. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. *Vet Parasitol*. 1999 Apr 12;82(3):251–7.
105. Ortega-Mora M, Fernández-García A, Gómez-Bautista M. Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives. *Acta Parasitol*. 2006;51(1):1–14.
106. Cuestas A. Análisis productivo y reproductivo del hato lechero de la Hacienda Tapalapa en Santa Bárbara, Honduras utilizando el programa VAMPP® [Internet]. Zamorano. 2002 [cited 2022 Aug 3]. Available from: <https://bdigital.zamorano.edu/items/9d46fb3a-b63a-444a-846c-f29c6886e860>
107. Dubey P, Thulliez P. Prevalence of Antibodies to *Neospora caninum* in Wild Animals. *J Parasitol* [Internet]. 2005 Oct 1 [cited 2022 Aug 3];91(5):1217–8. Available from: <https://meridian.allenpress.com/journal-of-parasitology/article/91/5/1217/5587/Prevalence-of-Antibodies-to-Neospora-caninum-in>
108. Dubey JP, Buxton D, Wouda W. Pathogenesis of Bovine Neosporosis. *J Comp Pathol*. 2006 May 1;134(4):267–89.
109. Son L, Character S. Actualización De La Patogénesis Viral En. 2013;1–5.
110. Silva C. Enfermedades infecciosas que causan abortos en bovinos con enfoque en rodeos lecheros de Uruguay [Internet]. Universidad de Uruguay. 2019 [cited 2022 Aug 3]. Available from: <https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/handle/123456789/2693>

111. Ferreira L, Flores F, Driemeier D, Melo O, Lemos A. Doença das mucosas associada à dermatite generalizada em bovinos, Mato Grosso do Sul. *Pesqui Veterinária Bras* [Internet]. 2008 [cited 2022 Aug 3];28(6):285–92. Available from: <http://www.scielo.br/j/pvb/a/4ctmxxxys9snbcqxtbjyyyc/abstract/?lang=pt>
112. Kirkbride CA. Etiologic agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagnostic Investig* [Internet]. 1992 Jun 25 [cited 2022 Aug 3];4(2):175–80. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/104063879200400210>
113. Martinez A. Vista de Actualización de la neosporosis bovina [Internet]. 2012 [cited 2022 Aug 3]. Available from: <https://revista.jdc.edu.co/index.php/conexagro/article/view/340/361>
114. Zerna J. Incidencia de neospora caninum en ganado bovino lechero, en la provincia punata departamento cochabamba. *univ mayor san simón*. 2021;
115. Romero J. Neosporosis bovina, Descripción. 2006.
116. Davison C, Guy S, McGarry W, Guy F, Williams L, Kelly F, et al. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. *Res Vet Sci*. 2001 Apr 1;70(2):163–8.
117. Morales E. Neosporosis Bovina : Control Y Prevención. *Sitio Argentino Prod Anim* [Internet]. 2016;74:1–5. Available from: https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/191-Neosporosis_bovina.pdf
118. Reichel P, Ellis T. If control of *Neospora caninum* infection is technically feasible does it make economic sense? *Vet Parasitol*. 2006 Nov 30;142(1–2):23–34.
119. Infobae. Prueban con éxito una vacuna contra una enfermedad infecciosa que afecta al ganado bovino - Infobae [Internet]. 2022 [cited 2022 Aug 3]. Available from: <https://www.infobae.com/salud/ciencia/2019/11/25/prueban-con-exito-una-vacuna-contra-una-enfermedad-infecciosa-que-afecta-al-ganado-bovino/>
120. Horcajo P. Vacunas para la neosporosis bovina: estado actual y aspectos clave para su desarrollo - *SaluVet Innova* [Internet]. 2016 [cited 2022 Aug 3]. Available from: <https://saluVetInnova.com/blog/vacunas-para-la-neosporosis-bovina-estado-actual-y-aspectos-clave-para-su-desarrollo/>
121. Bengoa-Luoni A, Corigliano G, Sánchez-López E, Albarracín R, Legarralde A, Ganuza A, et al. The potential of a DIVA-like recombinant vaccine composed by rNcSAG1 and rAtHsp81.2 against vertical transmission in a mouse model of congenital neosporosis. *Acta Trop*. 2019 Oct 1;198.
122. Yanina P. Avances en el desarrollo de vacunas contra la neosporosis bovina

- [Internet]. 2012 [cited 2022 Aug 3]. Available from: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412012000300014#ref
123. Innes A. The host-parasite relationship in pregnant cattle infected with *Neospora caninum*. *Parasitology* [Internet]. 2007 Dec [cited 2022 Aug 3];134(13):1903–10. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/abs/host-parasite-relationship-in-pregnant-cattle-infected-with-neospora-caninum/36A33FB5E0A978CD96384BA1320FEDE7>
 124. Piaggio J. Enfermedades que afectan la reproducción bovina. 2011;1–26.
 125. Almeria S, De Marez T, Dawson H, Araujo R, Dubey JP, Gasbarre LC. Cytokine gene expression in dams and foetuses after experimental *Neospora caninum* infection of heifers at 110 days of gestation. *Parasite Immunol* [Internet]. 2003 Jul 1 [cited 2022 Aug 3];25(7):383–92. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-3024.2003.00645.x>
 126. Schock A, Innes EA, Yamane I, Latham SM, Wastling JM. Genetic and biological diversity among isolates of *Neospora caninum*. *Parasitology* [Internet]. 2001 [cited 2022 Aug 3];123(Pt 1):13–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11467779/>
 127. Puray, N;Chavez A. Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de una empresa ganadera de la sierra central del Perú [Internet]. 2006 [cited 2022 Aug 3]. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172006000200018
 128. Romero J. View of Neosporosis Bovina (*Neospora Caninum*) Descripción Impacto Económico y Estrategias para su Control [Internet]. 2006 [cited 2022 Aug 3]. Available from: <https://www.revistas.una.ac.cr/index.php/veterinaria/article/view/4756/4579>
 129. Barragán, I. Aspectos inmunopatológicos de la neosporosis bovina. [Internet]. 2006 [cited junio 2006]. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/896/89610207.pdf>
 130. Salas, J. Impacto económico de neosporosis en sistemas productivos lecheros de bovinos en regiones del sur (biobío, araucanía, los ríos, los lagos) de Chile. [Internet]. 2017. Available from: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/144996/Impacto-economico-de-Neosporosis-en-sistemas-productivos-lecheros-de-bovinos-en-regiones-del-sur>
 131. Romero, J. *Neospora Caninum*) Descripción. Impacto Económico y Estrategias para su Control. [Internet]. 2006. Available from: https://redib.org/Record/oai_articulo2526567-neosporosis-bovina-neospora-caninum-descripci%C3%B3n-impacto-econ%C3%B3mico-y-estrategias-para-su-control

132. Tapia, F. Estudio de la neosporosis en bovinos de la provincia de Chimborazo, Ecuador. [Internet]. 2022. [cited junio 2022]. Available from: <https://revistaalfa.org/index.php/revistaalfa/article/view/176/469>
133. Montenegro, S. Situación actual de Neospora caninum en bovinos y su impacto a nivel reproductivo y económico. [Internet].2016. Available from: <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/handle/unicolmayor/1803>.
134. Cartografía Básica IEE.Canton Guamote. [Internet]. 2013-2019. Available from: <http://contratosocialecuador.org/images/publicaciones/CCE/DC-Guamote.pdf>
135. Escobar, 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].2011. Available from: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/10396/TESIS-%20PUCE-Vargas%20Ramos%20Karla.pdf;sequence=1>
136. Quevedo, J. Neosporosis en bovinos lecheros en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. [Internet].2003. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v14n1/a06v14n1.pdf>
137. Cruz M. Identificación del parásito Neospora caninum en bovinos por medio del método de Elisa, las haciendas ganaderas del cantón Tulcán en la provincia de Carchi. [Internet].2011. Available from: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/2807/8/UDLA-ECTMVZ-2011-11.pdf>
138. Bernardi, C. Cueva, M. Prevalencia de anticuerpos a Neospora caninum en hatos de bovinos lecheros en tres parroquias del cantón Cuenca, Ecuador. [Internet].2015. Available from: https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/23839/1/Actas_Producci%C3%B3n%20Animal_32.pdf
139. Arauco, F. Seroprevalencia y factores de riesgo de neosporosis bovina en el valle del Mantaro-Región Junín, Perú. [Internet] 2018. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n4/a39v29n4.pdf>
140. Parrado, S. Prevención de la Neosporosis Bovina en Colombia. [Internet].2016. Available from: file:///C:/Users/DrSystemPc/Downloads/sergruizojs,+Gestor_a+de+la+revista,+49-55+Articulo+Neospora+Zoociencia.pdf
141. Senasa. Neosporidiosis: recomendaciones para su control y prevención. [Internet] 2022. Available from: <http://www.senasa.gov.ar/senasa-comunica/noticias/neosporidiosis-recomendaciones-para-su-control-y-prevencion>
142. Morales, E. Neosporosis bovina: control y prevención. [Internet] 2016. Available from: <https://www.produccion->

- animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/191-Neosporosis_bovina.pdf
143. Lagomarsino H, et. al. Control de la neosporosis en un tambo comercial y primer aislamiento de *Neospora caninum* en bovinos. [Internet] 2016. Available from: https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/201-neosporosis-en-un-tambo.pdf
144. Macias, D. Estatus sanitario de *Neospora caninum* en ganaderías bovinas de centros de investigación de Agrosavia. [Internet] 2018. Available from: https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1354&context=medicina_veterinaria
145. Fort, M. *Neospora caninum*: Estudio seroepidemiológico en bovinos de la provincia de La Pampa. [Internet] 2003. Available from: <https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-publi52.pdf>
-

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1. Predios Muestreados del cantón Guamote



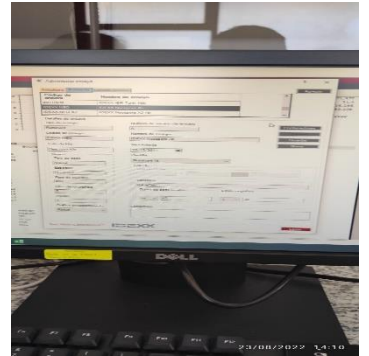
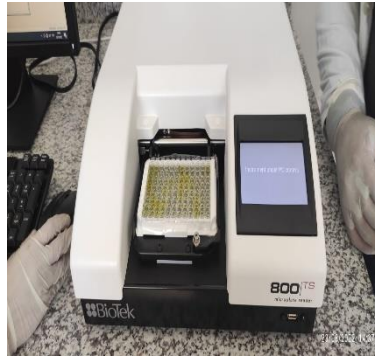
Anexo 2. Recolección de muestras y obtención de suero



Anexo 3. Kit *Neospora caninum* y preparación de las muestras



Anexo 4. Muestras en incubadora, prueba de ELISA indirecto



Anexo 5. Resultados obtenidos

IDEXX Laboratories, Inc.
One IDEXX Drive
Westbrook, ME 04092
USA
23/8/2022

Test With Confidence™ IDEXX DEXX

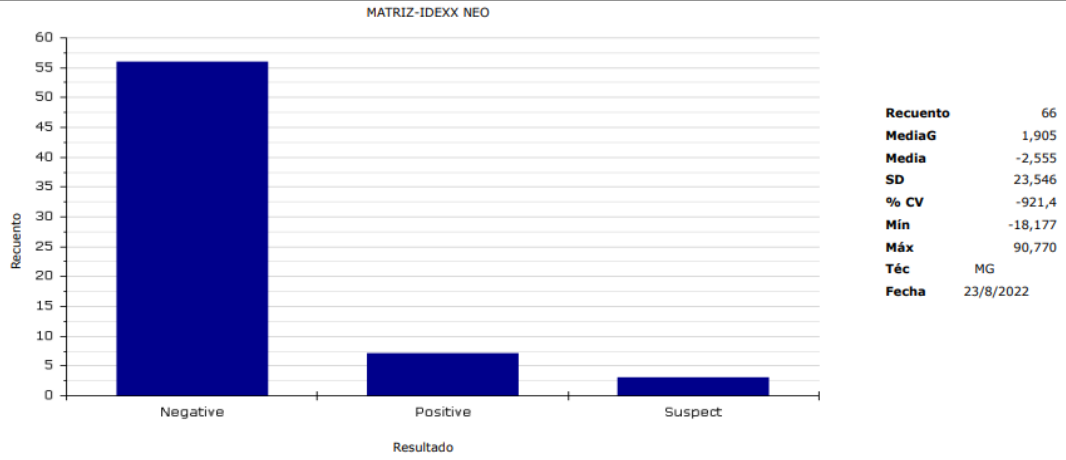
Reporte de análisis de casos

Caso		CEBADAS - 23/8/2022-001			
		IDEXX NEO - 23/8/2022 - MG			
	Pocillo	O.D.	% de valor	Resultado	
31	B9	0,108	-15,310	Neg	61
32	C9	0,117	-14,388	Neg	1,615
33	D9	0,116	-14,491	Neg	-5,054
34	E9	0,113	-14,798	Neg	24,106
35	F9	0,157	-10,292	Neg	-477,0
36	G9	0,674	42,652	Pos	-17,870
37	H9	0,097	-16,436	Neg	110,958
38	A10	0,115	-14,593	Neg	MG
39	B10	0,250	-0,768	Neg	23/8/2022
40	C10	0,102	-15,924	Neg	
41	D10	0,859	61,598	Pos	
42	E10	0,182	-7,732	Neg	
43	F10	0,104	-15,719	Neg	
44	G10	0,112	-14,900	Neg	
45	H10	0,116	-14,491	Neg	
46	A11	0,285	2,816	Neg	
47	B11	0,155	-10,497	Neg	
48	C11	0,128	-13,262	Neg	
49	D11	0,111	-15,003	Neg	
50	E11	0,117	-14,388	Neg	
51	F11	0,145	-11,521	Neg	
52	G11	0,150	-11,009	Neg	
53	H11	0,111	-15,003	Neg	
54	A12	0,182	-7,732	Neg	
55	B12	1,341	110,958	Pos	
56	C12	0,161	-9,882	Neg	
57	D12	0,144	-11,623	Neg	
58	E12	0,158	-10,189	Neg	
59	F12	0,138	-12,238	Neg	
60	G12	0,676	42,857	Pos	
61	H12	0,158	-10,189	Neg	

% de valor

MediaA	-5,054
MediaG	1,615
SD	24,106
% CV	-477,0
Mín	-17,870
Máx	110,958

Reporte de análisis de casos

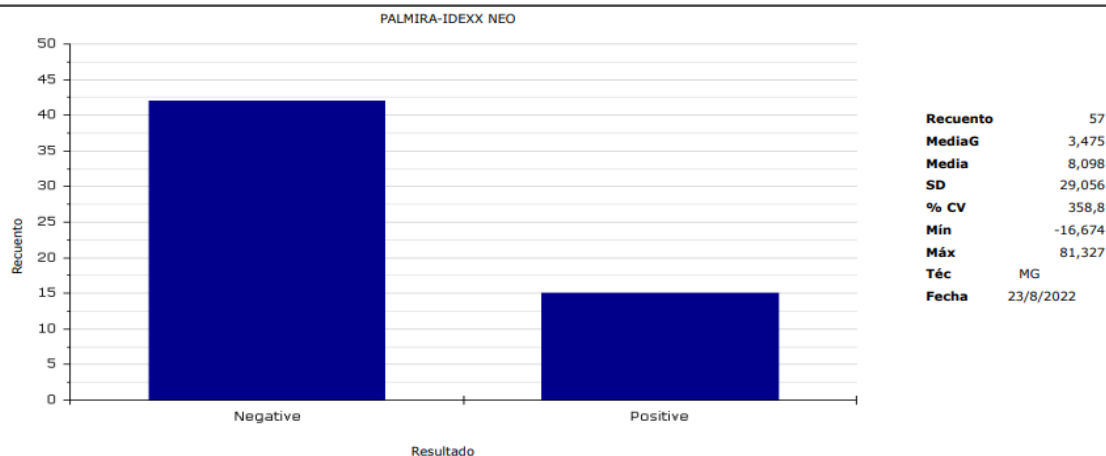


Caso MATRIZ - 23/8/2022-001
 IDEXX NEO - 23/8/2022 - MG

	Pocillo	O.D.	% de valor	Resultado
Neg	A1	0,218		
Neg	B1	0,302		
Pos	C1	1,411		
Pos	D1	1,460		
1	F8	0,142	-10,038	Neg
2	G8	0,106	-13,101	Neg
3	H8	0,068	-16,333	Neg
4	A9	0,099	-13,696	Neg
5	B9	0,086	-14,802	Neg
6	C9	0,994	62,442	Pos
7	D9	0,153	-9,103	Neg
8	E9	0,136	-10,549	Neg
9	F9	0,129	-11,144	Neg
10	G9	0,126	-11,399	Neg
11	H9	0,097	-13,866	Neg
12	A10	0,097	-13,866	Neg
13	B10	0,134	-10,719	Neg
14	C10	0,139	-10,293	Neg
15	D10	0,131	-10,974	Neg
16	E10	0,744	41,174	Pos
17	F10	0,787	44,832	Pos
18	G10	0,770	43,386	Pos
19	H10	0,701	37,516	Sosp
20	A11	0,138	-10,379	Neg
21	B11	0,158	-8,677	Neg
22	C11	0,128	-11,229	Neg
23	D11	0,133	-10,804	Neg
24	E11	0,181	-6,721	Neg
25	F11	0,124	-11,570	Neg
26	G11	0,159	-8,592	Neg
27	H11	0,092	-14,292	Neg
28	A12	1,327	90,770	Pos
29	B12	0,133	-10,804	Neg
30	C12	0,090	-14,462	Neg

	Pocillo	O.D.	% de valor	Resultado
31	D12	0,113	-12,505	Neg
32	E12	0,103	-13,356	Neg
33	F12	0,170	-7,656	Neg
34	G12	0,117	-12,165	Neg
35	H12	0,126	-11,399	Neg
Neg	A1	0,209		
Neg	B1	0,306		
Pos	C1	1,230		
Pos	D1	1,238		
36	E1	0,080	-18,177	Neg
37	F1	0,117	-14,388	Neg
38	G1	0,106	-15,515	Neg
39	H1	0,117	-14,388	Neg
40	A2	0,110	-15,105	Neg
41	B2	0,084	-17,768	Neg
42	C2	0,104	-15,719	Neg
43	D2	0,096	-16,539	Neg
44	E2	0,092	-16,948	Neg
45	F2	0,096	-16,539	Neg
46	G2	0,113	-14,798	Neg
47	H2	0,099	-16,231	Neg
48	A3	0,519	26,779	Neg
49	B3	0,112	-14,900	Neg
50	C3	0,100	-16,129	Neg
51	D3	0,575	32,514	Sosp
52	E3	0,087	-17,460	Neg
53	F3	0,992	75,218	Pos
54	G3	0,095	-16,641	Neg
55	H3	0,098	-16,334	Neg
56	A4	0,123	-13,774	Neg
57	B4	1,006	76,651	Pos
58	C4	0,121	-13,978	Neg
59	D4	0,135	-12,545	Neg
60	E4	0,109	-15,207	Neg
61	F4	0,107	-15,412	Neg
62	G4	0,112	-14,900	Neg
63	H4	0,109	-15,207	Neg
64	A5	0,144	-11,623	Neg
65	B5	0,594	34,460	Sosp
66	C5	0,124	-13,671	Neg
% de valor				
MediaA		-2,555		
MediaG		1,905		
SD		23,546		
% CV		-921,4		
Mín		-18,177		
Máx		90,770		

Reporte de análisis de casos



Caso PALMIRA - 23/8/2022-001

IDEXX NEO - 23/8/2022 - MG

	Pocillo	O.D.	% de valor	Resultado
Neg	A1	0,218		
Neg	B1	0,302		
Pos	C1	1,411		
Pos	D1	1,460		
1	E1	0,101	-13,526	Neg
2	F1	0,095	-14,037	Neg
3	G1	0,491	19,651	Neg
4	H1	0,084	-14,972	Neg
5	A2	0,974	60,740	Pos
6	B2	0,084	-14,972	Neg
7	C2	0,113	-12,505	Neg
8	D2	0,093	-14,207	Neg
9	E2	0,811	46,874	Pos
10	F2	0,839	49,256	Pos
11	G2	0,133	-10,804	Neg
12	H2	0,865	51,467	Pos
13	A3	0,096	-13,952	Neg
14	B3	0,102	-13,441	Neg
15	C3	0,158	-8,677	Neg
16	D3	0,083	-15,057	Neg
17	E3	0,074	-15,823	Neg
18	F3	0,960	59,549	Pos
19	G3	1,006	63,462	Pos
20	H3	0,110	-12,761	Neg
21	A4	0,095	-14,037	Neg
22	B4	0,081	-15,228	Neg
23	C4	0,137	-10,464	Neg
24	D4	0,831	48,575	Pos
25	E4	0,074	-15,823	Neg
26	F4	1,106	71,969	Pos
27	G4	0,067	-16,419	Neg
28	H4	1,063	68,311	Pos
29	A5	0,079	-15,398	Neg
30	B5	0,083	-15,057	Neg

	Pocillo	O.D.	% de valor	Resultado
31	C5	1,171	77,499	Pos
32	D5	0,064	-16,674	Neg
33	E5	0,108	-12,931	Neg
34	F5	0,082	-15,142	Neg
35	G5	0,080	-15,313	Neg
36	H5	0,096	-13,952	Neg
37	A6	0,081	-15,228	Neg
38	B6	0,115	-12,335	Neg
39	C6	0,071	-16,078	Neg
40	D6	0,138	-10,379	Neg
41	E6	0,072	-15,993	Neg
42	F6	0,142	-10,038	Neg
43	G6	0,110	-12,761	Neg
44	H6	0,078	-15,483	Neg
45	A7	1,174	77,754	Pos
46	B7	1,053	67,461	Pos
47	C7	0,908	55,125	Pos
48	D7	1,100	71,459	Pos
49	E7	0,479	18,630	Neg
50	F7	0,079	-15,398	Neg
51	G7	0,077	-15,568	Neg
52	H7	0,075	-15,738	Neg
53	A8	0,076	-15,653	Neg
54	B8	1,216	81,327	Pos
55	C8	0,518	21,948	Neg
56	D8	0,101	-13,526	Neg
57	E8	0,094	-14,122	Neg

% de valor

MediaA	8,098
MediaG	3,475
SD	29,056
% CV	358,8
Mín	-16,674
Máx	81,327