



Determinación de la prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo de la neosporosis bovina de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto de vinculación BruTryp, proveniente de 5 provincias de Ecuador, mediante la aplicación del kit ELISA-Neospora 2/strip

Analuisa Cadena, Brandon Stiben

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de Integración Curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario

Dr. Ron Román, Jorge Washington MSc.

31 de agosto del 2023



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Certificación:

Certifico que el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo de la neosporosis bovina de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto de vinculación BruTryp, proveniente de 5 provincias de Ecuador, mediante la aplicación del kit ELISA-Neospora 2/strip**, fue realizado por el señor: **Analuisa Cadena, Brandon Stiben**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 31 de agosto del 2023



JORGE WASHINGTON
RON ROMAN

Dr. Ron Román, Jorge Washington MSc.

C. C 1709505125

Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos



Tesis_Analisa_Brandon_VF.-1.docx

Scan details

Scan time:
August 31th, 2023 at 19:58 UTC

Total Pages:
66

Total Words:
16500

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
● Identical	1.5%	248
● Minor Changes	0.7%	108
● Paraphrased	0%	0
● Omitted Words	3.2%	523

AI Content Detection



Text coverage
● AI text
● Human text



JORGE WASHINGTON
RON ROMAN

Dr. Ron Román, Jorge Washington, MSc.

C. C: 1709505125



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría:

Yo, **Analuisa Cadena, Brandon Stiben**, con cédula de ciudadanía No.1722297247, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo de la neosporosis bovina de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto de vinculación BruTryp, proveniente de 5 provincias de Ecuador, mediante la aplicación del kit ELISA-Neospora 2/strip**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 31 de agosto del 2023


.....
Analuisa Cadena, Brandon Stiben
C.C. 1722297247



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Autorización de Publicación:

Yo, **Analuisa Cadena, Brandon Stiben**, con cédula de ciudadanía No. 1722297247 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo de la neosporosis bovina de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto de vinculación BruTryp, proveniente de 5 provincias de Ecuador, mediante la aplicación del kit ELISA-Neospora 2/strip en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.**

Sangolquí, 31 de agosto del 2023


.....
Analuisa Cadena, Brandon Stiben
C.C. 1722297247

Dedicatoria

A mi madre, Marcela, por su inmenso amor, constante apoyo y sacrificio incondicional, por siempre creer en mí, por estar a mi lado en todo momento, por darme el empujón necesario para seguir cada día adelante y superarnos juntos, aquí el reflejo del hombre que tú educaste, esto es por y para ti mamá.

A mi padre, Medardo, quien me apoyó en todo momento durante el transcurso de mi formación académica, gracias papá por inculcarme que, el estudio, la crianza con amor y el ejemplo son el mejor legado que se le puede dejar a un hijo.

A mis abuelitos, mamita Glorita y papito Hectitor, por ser el ejemplo de la perseverancia, esfuerzo, amor y sacrificio, gracias por quererme como a un hijo más y por alentarme siempre.

A todos los miembros de mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento, hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

Finalmente, quiero dedicar esta tesis a Mishell, “Negra”, gracias por apoyarme cuando más lo necesitaba, por extender tu mano, tu cariño en momentos difíciles y por el amor brindado cada día, siempre te llevo en mi corazón.

Brandon Analuisa Cadena

Agradecimientos

Quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento al Dr. Jorge Ron Román, principal colaborador durante todo este proceso, quien, con su dirección, conocimiento y enseñanza permitió el desarrollo de este trabajo.

A la Universidad de Liège y la Academia de Investigación y Enseñanza Superior ARES de Bélgica por brindarme las herramientas y recursos para el desarrollo de este proyecto, a través del proyecto de vinculación con la sociedad “Establecimiento de una plataforma en apoyo a la formación y la sensibilización, al diagnóstico y al desarrollo de una estrategia de control de la brucelosis y de la tripanosomosis en Ecuador -Brutryp”

Al personal del laboratorio de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal, en especial a la Ing. Michelle Yugcha por su paciencia y apoyo técnico durante la realización de este trabajo.

Al Ing. Bryan Coello y a la Ing. Mishell Álvarez, ex tesisistas del proyecto de vinculación BruTryp de la ESPE, por su apoyo y conocimiento al solventar mis dudas durante en el desarrollo de este trabajo.

Y por supuesto, mi profundo agradecimiento a la Carrera Agropecuaria IASA I de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, sus autoridades y docentes, por permitirme concluir con una etapa de mi vida, gracias por la paciencia, orientación y guiarme en el desarrollo de esta investigación.

Brandon Analuisa Cadena

Índice de contenidos

Carátula	1
Certificación	2
Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de Autoría	4
Autorización de Publicación	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos	7
Índice de contenidos	8
Índice de tablas.....	14
Índice de figuras.....	16
Resumen	17
Abstract.....	18
CAPITULO I	19
INTRODUCCIÓN	19
Antecedentes	19
Justificación.....	20
Objetivos	21
Objetivo general.....	21
Objetivos específicos	21
Hipótesis	22
Hipótesis nula	22
Hipótesis de investigación.....	22
CAPITULO II	23
REVISIÓN DE LITERATURA	23
Definición de neosporosis bovina	23

Historia de la neosporosis	23
Etiología	24
Taxonomía de <i>Neospora caninum</i>	24
Estadíos parasitarios	24
Taquizoitos	25
Quiste celular.....	25
Ooquistes.....	25
No esporulados	26
Esporulados	26
Ciclo biológico	26
Fase sexual	27
Fase asexual	27
Vías de transmisión.....	28
Transmisión vertical	28
Transmisión horizontal.....	29
Signos clínicos	30
Patogenia	30
Métodos de diagnóstico.....	31
Pruebas de laboratorio	31
Técnicas de laboratorio	31
Técnicas directas.....	31
Histopatología.....	31
Inmunohistoquímica (IHQ).....	32
Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	32
Aislamiento In Vitro.....	33
Técnicas indirectas	33

Test de inmunofluorescencia indirecta (IFAT).....	33
Ensayo inmunoenzimático (ELISA).....	34
Ensayo inmunoenzimático indirecto (iELISA).....	35
Microaglutinación.....	36
Microscopía óptica.....	37
Diagnóstico diferencial	37
Virus de la diarrea viral bovina (DVB)	37
Brucelosis	38
Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR).....	38
Leptospirosis.....	39
Otros patógenos causantes de aborto	39
Control y tratamiento	41
Tratamiento.....	41
Quimioterapia	42
Estrategias de control	42
Medidas profilácticas	43
Vacunación	43
Inmunidad	44
Inmunidad mediada por anticuerpos	44
Inmunidad mediada por células	44
Resistencia a la enfermedad.....	45
Respuesta inmune	45
Pérdidas económicas en la ganadería.....	45
Pérdidas económicas en hatos de leche.....	45
Pérdidas económicas en hatos de carne	47
Prevalencia y situación actual de la neosporosis bovina	47

Situación en Latinoamérica	47
Investigaciones de neosporosis bovina en Ecuador	48
CAPITULO III.....	50
METODOLOGÍA.....	50
Trabajo de campo	50
Determinación del tamaño de la muestra y submuestreo	50
Selección de animales.....	52
Estratificación y submuestreo.....	52
Aleatorización.....	53
Caracterización de los predios	53
Toma de muestras sanguíneas	54
Recolección de información zootécnica y aplicación de encuesta epidemiológica.....	55
Georreferenciación de los predios	55
Materiales, reactivos y equipos.....	56
Materiales de laboratorio.....	56
Equipos.....	57
Reactivos	57
Trabajo de laboratorio	57
Obtención de sueros	58
Ensayo inmunoenzimático indirecto (iELISA)	58
Interpretación de resultados	59
Análisis estadístico.....	60
Diseño no experimental.....	60
Operacionalización de variables.....	61
Variables	61
Variables dependientes.....	61

Variables independientes.....	61
Datos de prevalencia.....	62
Factores de riesgo.....	63
Fórmulas:	63
CAPITULO IV	65
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65
Estadística descriptiva de muestras analizadas pertenecientes a 5 provincias del Ecuador.....	65
Distribución de animales muestreados y positivos por provincia, tamaño de UPA y sexo...	65
Distribución de los animales muestreados por especie	67
Distribución de los animales muestreados por edad y sexo.....	69
Distribución de los animales muestreados por cantón	72
Prevalencia de neosporosis bovina	73
Prevalencia general de neosporosis bovina	73
Prevalencia de neosporosis bovina en las muestras de la Carrera Agropecuaria IASA1	74
Prevalencia de neosporosis bovina por provincia	76
Prevalencia de neosporosis bovina por provincia y número de fincas	78
Prevalencia de neosporosis bovina por tamaño UPA	79
Prevalencia de neosporosis bovina por sexo, tamaño de finca y provincia.....	80
Prevalencia por sexo	80
Prevalencia por tamaño de UPA y sexo	81
Prevalencia por especie	82
Prevalencia por edad.....	84
Factores de riesgo asociados a la enfermedad	86
Georreferenciación de fincas ganaderas de las 5 provincias en estudio.....	87
CAPITULO V	88
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	88

Conclusiones.....	88
Recomendaciones.....	89
Bibliografía	90

Índice de tablas

Tabla 1 <i>Prevalencia y detección de Neospora caninum en fetos en Latinoamérica</i>	48
Tabla 2 <i>Constantes incluidas en el cálculo de la submuestra</i>	51
Tabla 3 <i>Tabla resumen del número mínimo de muestras necesarias por provincia</i>	52
Tabla 4 <i>Tabla de selección de muestras pertenecientes al banco de biológicos por provincias</i>	52
Tabla 5 <i>Clasificación del tamaño de fincas según el número de animales existentes</i>	54
Tabla 6 <i>Porcentaje de muestreo en fincas en base al número total de bovinos</i>	54
Tabla 7 <i>Parámetros para la correcta interpretación de la prueba iELISA</i>	59
Tabla 8 <i>Operacionalización de variables dentro del estudio</i>	61
Tabla 9 <i>Distribución de animales muestreados por provincia, sexo y tamaño de UPA</i>	66
Tabla 10 <i>Distribución de animales muestreados por provincia, especie y UPA</i>	67
Tabla 11 <i>Distribución de animales estudiados por especies</i>	68
Tabla 12 <i>Distribución de las muestras por UPA, edad y sexo</i>	70
Tabla 13 <i>Distribución de animales comprendidos en el estudio por edad y sexo</i>	71
Tabla 14 <i>Distribución de muestras analizadas por provincia y cantón</i>	72
Tabla 15 <i>Prevalencia general del estudio de neosporosis bovina</i>	73
Tabla 16 <i>Prevalencia de neosporosis bovina en muestras de la Carrera Agropecuaria</i>	74
Tabla 17 <i>Prevalencia general de neosporosis bovina por provincias</i>	76
Tabla 18 <i>Prevalencia de neosporosis bovina por provincias y número de fincas analizadas</i>	78
Tabla 19 <i>Prevalencia de neosporosis bovina por tamaño de UPA</i>	79
Tabla 20 <i>Prevalencia de neosporosis bovina por sexo</i>	80
Tabla 21 <i>Prevalencia de neosporosis bovina por tamaño de UPA y sexo</i>	81
Tabla 22 <i>Prevalencia de neosporosis bovina por tamaño de UPA, sexo y provincia</i>	82
Tabla 23 <i>Prevalencia general de neosporosis bovina por especie</i>	82
Tabla 24 <i>Prevalencia de neosporosis bovina por edad</i>	84
Tabla 25 <i>Muestras positivas a neosporosis bovina por provincia y por edad</i>	85

Tabla 26 *Factores de riesgo asociados a la positividad de neosporosis bovina en fincas.....86*

Índice de figuras

Figura 1 <i>Estadíos parasitarios de Neospora caninum</i>	26
Figura 2 <i>Ciclo de vida de Neospora caninum</i>	28
Figura 3 <i>Vías de transmisión de la enfermedad</i>	29
Figura 4 <i>Técnica iELISA para la detección de anticuerpos contra Neospora caninum</i>	36
Figura 5 <i>Mapa de georreferenciación de las provincias en estudio</i>	56
Figura 6 <i>Diseño de placa mantenida durante los ensayos</i>	60
Figura 7 <i>Mapa de distribución de las 5 provincias en estudio</i>	87

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la prevalencia y factores de riesgo asociados a neosporosis bovina de 5 provincias del país: Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana, en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas), para esto, se contó con muestras de sueros sanguíneos bovinos, obtenidas previamente dentro del proyecto de vinculación con la sociedad BruTryp. La neosporosis bovina, es una de las principales causas de aborto en los bovinos, que ocurren entre el primer y segundo tercio de gestación, generando grandes pérdidas tanto en explotaciones lecheras como cárnicas. Se analizaron 165 muestras de sueros sanguíneos bovinos provenientes de: 27 fincas de Manabí, 3 fincas de Santo Domingo de los Tsáchilas, 41 fincas de Pichincha, 10 fincas de Napo y 8 fincas de Orellana, sin distinción de sexo, edad, ni raza; a la cuales se aplicó la prueba iELISA para la detección de anticuerpos frente a *Neospora caninum*. Los resultados obtenidos en esta investigación indicaron que, en 32 fincas, de las cinco provincias en estudio, la prevalencia total de la enfermedad fue del 27,3% (45/165) y, a nivel de finca, se encontró valores de prevalencia para los 3 estratos de muestreo, en fincas medianas, grandes y pequeñas, con valores de 45%, 34,29% y 14,29% respectivamente. Por último, como parte de esta investigación, se determinaron los factores de riesgo asociados a la neosporosis bovina mediante la medida epidemiológica de Riesgo Relativo (RR) en donde la presencia de perros en las fincas se asoció con la enfermedad (RR=3,19) y un porcentaje de Riesgo Atribuible (RA) del 37%.

Palabras clave: BOVINOS, NEOSPOROSIS BOVINA, iELISA, NEOSPORA CANINUM.

Abstract

The objective of this research was to determine the prevalence and risk factors associated with bovine neosporosis in 5 provinces of the country: Manabí, Santo Domingo de los Tsachilas, Pichincha, Napo and Orellana, in cattle farms (large, medium and small), for this purpose, samples of bovine blood sera were used, previously obtained within the linkage project with the BruTryp society. Bovine neosporosis is one of the main causes of abortion in cattle, occurring between the first second and trimester of gestation, generating great losses both in milk and meat farms. We analyzed 165 samples of bovine blood sera from 27 farms in Manabí, 3 farms in Santo Domingo de los Tsachilas, 41 farms in Pichincha, 10 farms in Napo and 8 farms in Orellana, without distinction of sex, age or breed, to which we applied the iELISA test for the detection of antibodies against *Neospora caninum*. The results obtained in this research indicated that, in 32 farms of the five provinces under study, the total prevalence of the disease was 27.3% (45/165) and, at the farm level, prevalence values were found for the 3 sampling strata, in medium, large and small farms, with values of 45%, 34.29% and 14.29%, respectively. Finally, as part of this research, the risk factors associated with bovine neosporosis were determined through the epidemiological measure of Relative Risk (RR), where the presence of dogs on the farms was associated with the disease (RR=3.19) and a percentage of Attributable Risk (AR) of 37%.

Keywords: CATTLE, BOVINE NEOSPOROSIS, iELISA, *NEOSPORA CANINUM*.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

En la actualidad la ganadería bovina es una actividad de gran importancia para el Ecuador, representa el 11,94% del PIB total, los derivados de la misma, como son los lácteos y carnes, forman parte de los alimentos que componen la política de soberanía alimentaria, Corporación Financiera Nacional, (CFN 2021). No obstante, la industria ganadera enfrenta importantes desafíos reproductivos; los signos de las enfermedades reproductivas suelen aparecer en cualquier periodo de gestación del bovino, existen muchos patógenos que pueden provocar abortos, reabsorción de embriones y momificación del feto. Los principales agentes patógenos registrados en el país que afectan la gestación en las vacas son: *Brucella abortus*, *Neospora caninum*, *Leptospira interrogans*, el Pestivirus de la familia *Flaviviridae* causante de la diarrea viral bovina (DVB) y el herpes virus bovino tipo 1 (BoHV-1) causante de la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) (Ordóñez, 2018).

La mayoría de las enfermedades que afectan al aparato reproductor son causa del mal manejo que se da en los hatos ganaderos, poco interés en los calendarios de vacunación, falta de seguimiento clínico durante toda la gestación bovina, y el escaso control sobre los vectores que son portadores de las enfermedades.

Los efectos que ocasionan estas enfermedades reproductivas en el periodo de gestación de los bovinos son muy graves, como son los abortos que conllevan a la pérdida de la cría en desarrollo, otro impacto negativo que generan las enfermedades es el crecimiento lento del hato y un periodo de lactancia que sobrepasa los días adecuados en los que debe estar el bovino, consecuentemente existe un déficit del ingreso económico en la explotación ganadera generando más gastos de producción.

De las enfermedades anteriormente definidas, en este trabajo se describirá a la neosporosis bovina, su prevalencia, distribución geográfica y factores de riesgo asociados a la misma; esta enfermedad causa abortos en vacas gestantes entre el segundo y último tercio de gestación, es decir entre el quinto y séptimo mes de gestación, por lo cual es de suma importancia dar a conocer la situación actual de la enfermedad en el país, conjuntamente tratar de mejorar las medidas profilácticas y el manejo reproductivo para poder enfrentar la enfermedad dentro de las explotaciones ganaderas tanto de leche como de carne.

Justificación

La actividad ganadera constituye un rubro muy importante en la economía de la población rural del país, ya que, en muchas ocasiones, es la única fuente de ingresos de las familias pertenecientes a este sector. El correcto manejo de los sistemas de producción y el movimiento de los animales ha demostrado el incremento de enfermedades en los bovinos, viéndose afectados los hatos lecheros, cárnicos y mixtos.

Neospora caninum, es uno de los agentes infecciosos que con frecuencia se reporta como causante de abortos, momificaciones fetales y reabsorciones embrionarias en la ganadería. Los problemas infecciosos que interrumpen la gestación ocasionan cuantiosas pérdidas en los hatos ganaderos, pérdidas económicas por reducción de leche y el incremento de la tasa de mortalidad y descarte. La neosporosis bovina es considerada como una enfermedad que no tiene cura, pese a que diversos estudios mencionan que se puede realizar tratamientos con retrovirales o antibióticos, sin embargo, resultan demasiado costosos por lo que no se han implementado como una alternativa para tratar la enfermedad (Sáenz, 2008).

Las enfermedades que afectan el sistema reproductivo son un problema que se desarrolla con el tiempo, la falta de control y seguimiento de los animales movilizados introducidos en nuevas fincas y el desinterés por los vectores que transportan patógenos, contribuyen al crecimiento y propagación de enfermedades reproductivas en el rebaño a nivel

nacional. Se estima que las enfermedades de carácter reproductivo afectan al 70% del ganado vacuno del mundo (Escobar y Vargas, 2011).

La importancia de la presente investigación radica en determinar la prevalencia de la neosporosis bovina mediante la prueba diagnóstica ELISA de 5 provincias del Ecuador: Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana; en base a muestras de sueros sanguíneos obtenidos dentro del proyecto de vinculación BruTryp. La información disponible acerca de esta enfermedad es encontrada en su gran mayoría en tesis universitarias (Sáenz, 2008).

Por citar algunos estudios tenemos, en la región amazónica, en el cantón Morona el estudio realizado por Chacha (2022) determinó un 14,9 % de prevalencia, mientras que, en la región sierra el estudio de Escobar y Vargas (2011), indican la prevalencia de *N. caninum* en las provincias de Sto. Domingo de los Tsáchilas, Pichincha y Bolívar son del 28,2%, 27,8% y 24% respectivamente, Asipuela (2015) en el cantón Cayambe determino un 61% de prevalencia. Demostrando así la evidente presencia de este patógeno en el país y la poca atención que se le ha dado al mismo.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la prevalencia y factores de riesgo de la neosporosis bovina, de una sub muestra del banco biológico del proyecto BruTryp, proveniente de 5 provincias del Ecuador.

Objetivos específicos

Establecer la prevalencia de neosporosis bovina de una sub muestra del banco de biológicos del proyecto de vinculación BruTryp de las provincias de Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana, mediante la aplicación del kit ELISA – Neospora 2/strip, de la casa comercial IDEXX

Crear con la herramienta ArcMap 10.2, mapas de distribución de neosporosis bovina, mediante la utilización de coordenadas GPS recolectadas en el proyecto BruTryp mediante la aplicación Epicollect5.

Determinación de los factores de riesgo asociados a la presencia de neospora mediante la interpretación de resultados de laboratorio y análisis de encuestas epidemiológicas aplicadas a productores agropecuarios, realizadas dentro del proyecto BruTryp.

Hipótesis

Hipótesis nula

La prevalencia de neosporosis en bovinos es nula o baja en la zona de muestreo constituida por las provincias de: Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana.

Hipótesis de investigación

La prevalencia de neosporosis en bovinos es media o alta en la zona de muestreo constituida por las provincias de: Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

Definición de neosporosis bovina

La neosporosis bovina es una enfermedad ocasionada por un parásito protozoo intracelular obligado, que se caracteriza por ser abortigénica, se considera de importancia mundial en las explotaciones bovinas tanto de carne como de leche, debido a las grandes pérdidas económicas que provoca (Moore *et al.*, 2005).

Esta enfermedad de origen parasitario, que afecta al aparato reproductor, es muy común dentro de la ganadería bovina, afecta principalmente a hembras gestantes y terneros recién nacidos, se la conoce también como neosporosis fetal o neosporosis abortiva. En animales gestantes ocasiona principalmente abortos, retención de placenta, reabsorción embrionaria y momificación fetal alrededor del quinto y séptimo mes de gestación (Sáenz, 2008). En animales recién nacidos, se presentan signos clínicos de ataxia neuromuscular, contractura articular, baja condición corporal o incapacidad para aumentar de peso, las extremidades anteriores o posteriores pueden estar flexionadas o hiperextendidas (Dubey *et al.*, 2007).

Historia de la neosporosis

Neospora caninum fue reportada por primera vez en Noruega en el año de 1984, presentándose como una enfermedad que afectaba directamente al sistema nervioso en caninos, específicamente en perros recién nacidos que presentaban parálisis congénita de sus extremidades posteriores, fue por esto que se confundió con *Toxoplasma gondii*, pero fue mediante un estudio serológico que se aseveró que no se trataba del mismo (Mainato, 2011). En 1988 mediante un estudio de tejidos de perros que presentaban signos de toxoplasmosis, Dubey, observó la presencia de un parásito que fue descrito como *Neospora* y su especie *caninum*, debido al interés sobre este parásito, Dubey elaboró la prueba de inmunofluorescencia indirecta como prueba de diagnóstico serológico para aseverar la

presencia del parásito (Bañales *et al.*, 2016). Thilsted y Dubey en 1989 al estar mucho más familiarizados con *Neospora caninum*, reportaron por primera vez la presencia del parásito en bovinos, asociada a la causa de aborto epidémico en bovinos de explotaciones lecheras de Nuevo México, (Vargas y Cortés, 2001), estos organismos fueron encontrados en cerebros de fetos producto de los abortos de este rebaño lechero (Mainato, 2011).

No fue hasta 1991 que Conrad y colaboradores, aislaron el parásito por primera vez. Luego, en 1998, Dubey aisló y catalogó el parásito en el Laboratorio de Enfermedades Protozoarias del departamento de agricultura de EEUU (USDA). Las propiedades antigénicas pueden distinguirlo de *Toxoplasma gondii* y llevar a la conclusión de que están relacionados filogenéticamente; por lo tanto, algunos investigadores todavía lo incluyen en el género *Toxoplasma* en la actualidad (López *et al.*, 2007).

Etiología

Taxonomía de *Neospora caninum*

Perteneciente al Phylum Apicomplexa y a la familia *Sarcocystidae*, *Neospora caninum* se caracteriza por la presencia de estructuras y organelos distribuidos sobre el polo anterior de estos parásitos, dichas estructuras están constituidas por anillos polares, conoide y microtúbulos internos. Los organelos están constituidos por roptrias y micronemas cuya principal función es la secreción, la misma que se asocia a la penetración en la célula que sirve de hospedadora mediante la secreción de su contenido a través del conoide.

Estudios filogenéticos ubican a *Neospora* en la familia *Toxoplasmatinae*, la misma que incluye a coccidios formadores de quistes como *Toxoplasma gondii*, *Hammondia* spp. y *Besnoitia* sp. (Echaide, 2000).

Estadíos parasitarios

Los estadíos parasitarios de *Neospora caninum* reportados son: taquizoítos, quiste tisular los mismos que están presentes en el huésped intermediario, ooquistes que se encuentran en el huésped definitivo.

Taquizoitos

Pueden llegar a medir de 3-7 μm de longitud, poseen entre 6-16 roptries establecidos en la parte superior del núcleo y poseen una forma ovoide, semilunar (Iza, 2020).

Los taquizoitos son capaces de infectar y multiplicarse de manera vertiginosa mediante endodiogénesis y en una amplia variedad de células, que pueden incluir neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miocitos, hepatocitos y células renales, siendo capaz de invadir al feto mediante transmisión vertical. Los taquizoitos al ser capaces de propagarse a través del cuerpo, pueden invadir las células de una gran variedad de órganos produciendo daños en los tejidos de los mismos.

Es importante considerar que sin importar la cantidad de taquizoitos presentes dentro del hospedador, siempre se va a presentar una reacción inflamatoria que causará un desorden nervioso, dado que los sitios en los que se aloja este parásito son el sistema nervioso central y la médula espinal, lo que se desencadenaría en una sintomatología netamente nerviosa (López *et al.*, 2007).

Quiste celular

Poseen una forma ovalada, midiendo aproximadamente 107 μm , completan su desarrollo dentro del hospedador intermediario, en su sistema nervioso central y en la retina; dentro de estas estructuras se encuentran los bradizoitos, mismos que pueden llegar a medir 7-8 x 2 μm , los cuales pueden llegar a activarse cuando se llega a deteriorar la inmunidad celular. La presencia de los quistes celulares puede pasar desapercibida infectando al hospedador por varios años sin llegar a presentar alguna manifestación clínica (Sáenz, 2008).

Ooquistes

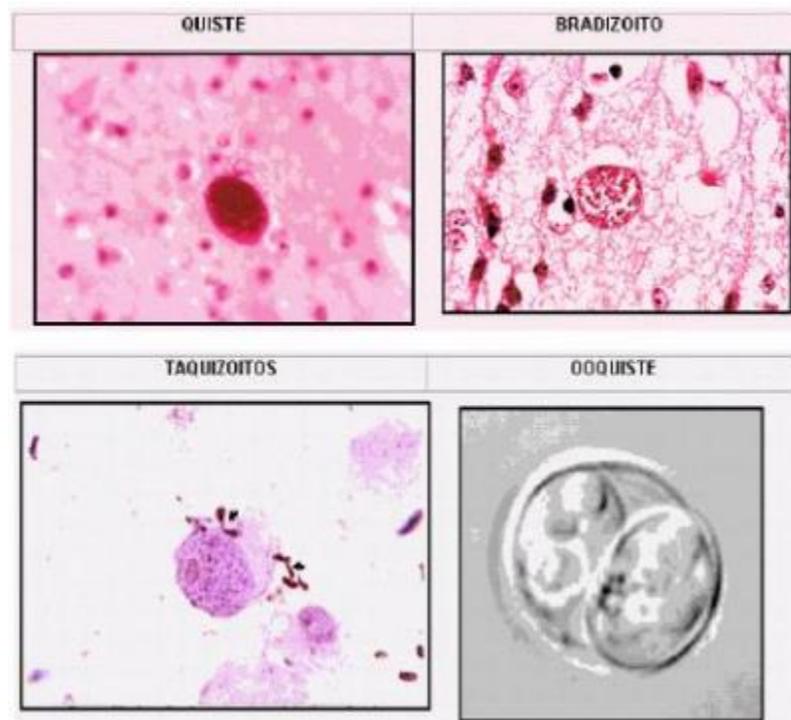
Pueden llegar a medir hasta 107 μm de diámetro siendo de forma ovalada o redonda, se encuentran en el sistema nervioso central; se dividen en dos tipos de ooquistes: los esporulados y los no esporulados.

No esporulados Son eliminados por los perros infectados, pueden llegar a medir entre 11,7 a 11,3 mm de diámetro (Dubey *et al.*, 2007).

Esporulados Se encuentran en las heces de los caninos, después de tres días al medio ambiente, se convierten en infecciosos, contienen dos esporo-quistes con cuatro esporozoitos, morfológicamente similares a los ooquistes de *T. gondii* y *Hammondia* en perros.

Figura 1

Estadíos parasitarios de Neospora caninum



Nota. Estadíos parasitarios de *Neospora caninum*. Recuperado de: (Pacheco y Lliguicota, 2020).

Ciclo biológico

Siendo el perro el hospedador definitivo del parásito, se convierte en el mismo cuando ingiere tejidos con quistes tisulares (músculo, placenta, fetos abortados), por agua contaminada con ooquistes esporulados o por transmisión vertical (hembras preñadas con infección crónica en el último tercio de la gestación a los cachorros y a través de la leche materna), (Pérez *et al.*,

2019). Por otro lado, los hospederos considerados como susceptibles o intermediarios se infectan ingiriendo forraje y agua contaminada con heces que contienen ooquistes de *Neospora caninum*. Después de la ingestión de esporozoitos, estos son eliminados en el tracto intestinal, al dividirse rápidamente son capaces de causar daño tisular, diseminando la infección hacia otros tejidos del hospedador. Al liberarse los esporozoitos en el aparato gastrointestinal del hospedador intermediario, estos son capaces de alcanzar tanto las vías sanguíneas como linfáticas y así poder acceder a los tejidos, sistema nervioso central y tejido muscular. Los ooquistes se encuentran solamente en el cerebro, médula espinal y retina. Los bradizoítos y ooquistes tisulares son resistentes a las soluciones ácidas de pepsina (Iza, 2020).

Fase sexual

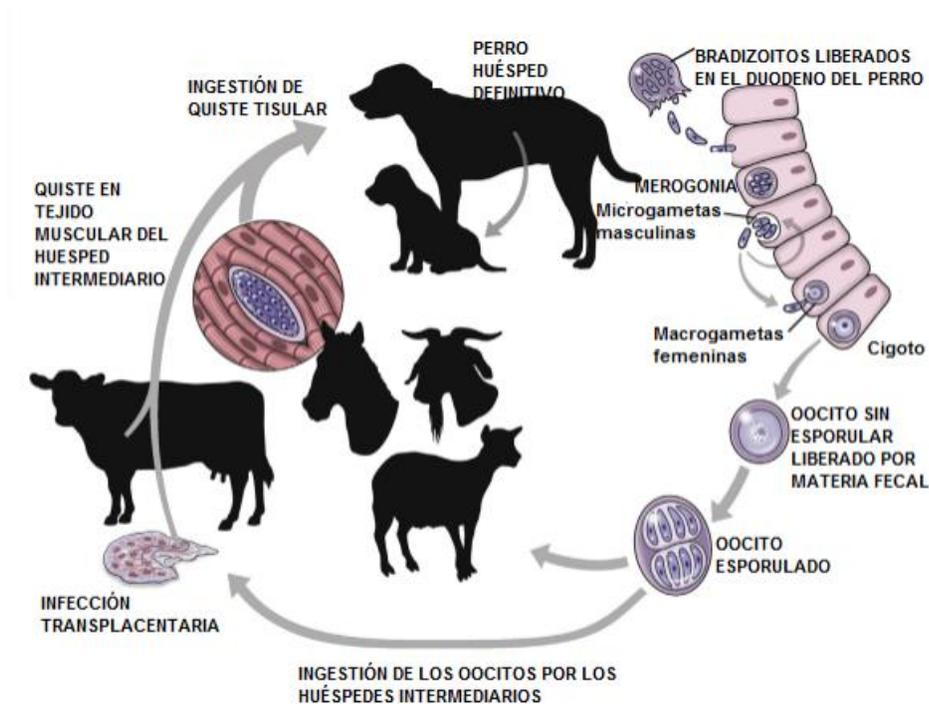
La liberación de los ooquistes esporulados, ocurre en el tracto gastrointestinal del hospedador definitivo como son el perro y el coyote, estos llegan a medir de 10 a 11 μm , (Sáenz, 2008).

Fase asexual

Posterior a la fase sexual dentro del hospedador intermediario, se presenta en forma de taquizoíto, forma infectiva y bradizoítos de forma latente. Al ser un endoparásito; neospora se encuentra ubicado en el intestino de perros y de ganado bovino. Estudios realizados han demostrado que pueden llegar a desarrollarse también en el hígado, pulmón, cerebro, placenta y músculos (Moore *et al.*, 2005).

Figura 2

Ciclo de vida de Neospora caninum



Nota. Esquema explicativo sobre el ciclo biológico de *Neospora caninum*. Tomada de Canine and Feline Infectious Diseases (p. 12), Recuperado de: (López G. *et al.*, 2007).

Vías de transmisión

En el caso de los hospederos definitivos, estos pueden adquirir la infección mediante la ingestión de tejidos que contengan quistes de *N. caninum* y de manera transplacentaria, la misma que se manifiesta con una gran variedad de signos, atacando en mayor parte a las extremidades en forma de parálisis ascendente o hiperextensión.

Transmisión vertical

A la transmisión vertical se le atribuye la perpetuación de la infección dentro del hato, las vacas que están infectadas de manera crónica, el feto es infectado como consecuencia del recrudecimiento de la infección latente, esto debido a la inmunodepresión que genera la gestación, la parasitemia consecuente da lugar a las formas infectantes del parásito para invadir la placenta y en diferentes tejidos fetales, producto de esto las crías nacen infectadas,

pero clínicamente sanas, llevando la enfermedad a su progenie, aunque la pérdida del feto también se puede presentar (Martínez *et al.*, 2018).

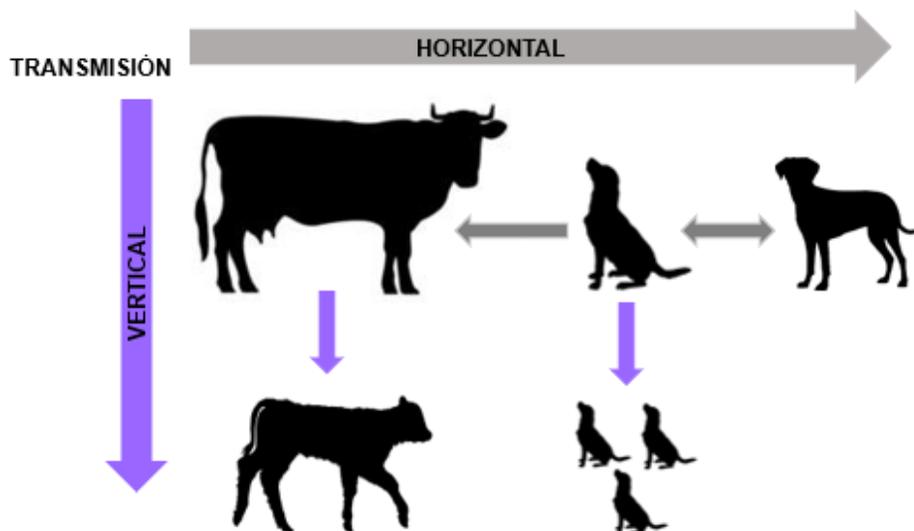
Transmisión horizontal

El perro es el principal factor de diseminación de la enfermedad, ya que, él se encarga de contaminar, mediante su materia fecal, las pasturas que sirven de alimento para los bovinos y al ingerir dichos focos de contaminación son infectados con la enfermedad.

Estudios realizados demuestran que no se produce transmisión entre bovinos que se encuentran en el hato, es decir, no existe contagio a través de las mucosas ni secreciones de animales infectados; sin embargo, mediante infecciones experimentales, se ha evidenciado transmisión a través de la leche, por medio de la alimentación en terneros recién nacidos con calostro contaminado con taquizoítos de *N. caninum*, los resultados demostraron que terneros considerados sanos adquirieron la infección, misma que se pudo constatar mediante la prueba de PCR tomada de material procedente del cerebro del ternero (Mainato, 2011).

Figura 3

Vías de transmisión de la enfermedad



Nota. Tipos de transmisión de *N. caninum* en bovinos. Autoría propia

Signos clínicos

La enfermedad se puede apreciar en abortos de tres a cinco meses de edad, cuando una vaca transmite la enfermedad a su cría mediante la transmisión vertical. En el feto abortado se observa claramente una encefalomiелitis protozoaria multifocal, la misma que puede ubicarse en la materia gris del cordón espinal; por el contrario, la encefalitis focal, se caracteriza por necrosis e inflamación no purulenta, lo que puede ser observado mayormente en abortos epidémicos (Parasitxpert, 2021).

En el caso de no existir aborto, los terneros parasitados pueden nacer aparentemente sanos, pero persistentemente infectados, cuando el ternero llega a cumplir los dos meses de edad se observan signos característicos de la enfermedad como: poca ganancia de peso, inapetencia, baja crónica de peso, sus miembros traseros presentan ataxia trastorno motor que se caracteriza por una falta de coordinación en la realización de movimientos voluntarios que altera su velocidad y precisión, disminución del reflejo rotuliano, pérdida de propiocepción e incluso la posición de los ojos se presenta de manera asimétrica (López *et al.*, 2007).

Patogenia

La patología es dependiente de la aptitud del taquizoíto para el ingreso en los tejidos, de esta forma, se genera la respuesta del hospedador para evadir la multiplicación de este parásito. Los taquizoítos, tienen una especial afición por las células del sistema nervioso central (SNC), endoteliales, músculo-esqueléticas y cardíacas. Al producirse la multiplicación, se destruyen las células causando respuesta inflamatoria sin secreciones purulentas y necrosis en focos. 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 (Dubey *et al.*, 2007).

Métodos de diagnóstico

Pruebas de laboratorio

Hoy en día, se dispone de varias técnicas de diagnóstico para la detección de la infección por *N. caninum*. En los casos de aborto por neosporosis en bovinos, la histopatología y la inmunohistoquímica (IHC) con tejidos de fetos abortados se consideran las pruebas definitivas. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) también se utiliza para la determinación de ácidos nucleicos específicos de parásitos en muestras de animales abortados, como cerebros y placenta (Román *et al.*, 2022). Sin embargo, los altos costos, los requisitos de equipos especiales y la necesidad de personas capacitadas al aplicar IHC y/o PCR restringen su uso a gran escala.

La detección serológica utilizando diferentes anticuerpos (inmunoglobulinas G y M) se utiliza con frecuencia para el diagnóstico de la infección por *N. caninum* en diferentes animales. Se han utilizado numerosas pruebas serológicas contra *N. caninum*, incluida la prueba de anticuerpos de fluorescencia indirecta (IFAT), el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y la transferencia de Western. Estas pruebas se consideran pruebas de diagnóstico eficientes para la detección de anticuerpos contra *N. caninum*, ya sea en animales de campo o de experimentación, cuando se utilizan antígenos potentes y específicos. Además, la detección de anticuerpos específicos en sueros de animales infectados se utiliza con frecuencia para detectar infecciones agudas, subagudas o crónicas. La detección basada en IgM e IgG son enfoques útiles para el diagnóstico y control de *Neospora caninum* debido a su capacidad para diferenciar entre infección aguda y crónica, respectivamente.

Técnicas de laboratorio

Técnicas directas

Histopatología

El diagnóstico de *Neospora caninum* se lo hace preferencialmente y de manera profunda por estudios histopatológicos, de tejidos bovinos fetales, estos tejidos, incluyendo el

análisis histológico del sistema nervioso central; pueden ser teñidos con hematoxilina-eosina, donde se puede ver claramente un infiltrado mononuclear en el epicardio, miocardio y en el endocardio mismo que presenta necrosis multifocal. Una vez que se encuentra la lesión histológica, se identifica las formas parasitarias existentes por inmunohistoquímica o por serología positiva de la madre o a su vez del feto.

Este método de diagnóstico puede ser considerado altamente específico pero la limitante del mismo es su desarrollo muy laborioso y su análisis poco sensible (Briano *et al.*, 2021).

Inmunohistoquímica (IHQ)

Considerada una técnica diagnóstica vigente, y complementaria a la histopatología, la inmunohistoquímica permite la identificación de *Neospora caninum* de manera altamente específica, se debe tener en cuenta también que posee una sensibilidad baja y esto se debe a los escasos parásitos presentes en tejidos autolíticos. La aplicación de esta técnica permite la observación de taquizoítos del parásito, en forma de racimo y estos se asocian directamente a los focos inflamatorios en el cerebro del animal parasitado.

En el caso de obtener un resultado negativo esto no significa que el feto no haya sido parasitado por *Neospora caninum* ya que la síntesis de anticuerpos presentes en el feto depende del tiempo de gestación en el que se encuentre, nivel y tiempo de exposición entre la infección y el aborto (Mainato, 2011) .

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Neospora caninum es un parásito protozoario apicomplejo considerado una de las principales causas de aborto en el ganado. La detección de ADN específico del parásito por PCR es un método altamente sensible para identificar la presencia de *N. caninum* en una variedad de tejidos. La PCR se ha utilizado ampliamente para la detección de ADN de una amplia variedad de patógenos, incluidos muchos tipos diferentes de parásitos. El conocimiento previo y las experiencias adquiridas a través del desarrollo de PCR para *Toxoplasma gondii* han

ayudado al rápido desarrollo de protocolos para *Neospora caninum*, que ahora se utilizan para investigar numerosos aspectos de la biología de este taxón. Las muestras que han servido de base para esta prueba han sido tejidos fecales, líquido amniótico, ooquistes presentes en heces de perros y coyotes infectados, e incluso en fluidos de hospederos intermediarios como sangre leche y semen (Mainato, 2011).

Un problema que ha plagado y obstaculizado positivamente la introducción de la PCR como técnica de diagnóstico de rutina ha sido el fenómeno de resultados falsos positivos y negativos que son relativamente comunes en la PCR. Un área de investigación actual es la generación de controles internos (o PCR MIMICS) para *N. caninum*. Una PCR que incorpore un PCR MIMIC ayudará a corroborar un resultado negativo en una situación de diagnóstico (Reyes, 2016).

Aislamiento In Vitro

Como se menciona anteriormente el primer aislamiento in vitro de *Neospora caninum* fue realizado por Dubey en 1998, en donde se cultivó inicialmente al protozoario en monocitos y células endoteliales de la aorta pulmonar y después mediante un ensayo de infección experimental realizado en caninos. Este tipo de aislamiento permite realizar la caracterización del parásito, que es usado para el análisis de estudios epidemiológicos regionales (Moreno, 2019).

Técnicas indirectas

Test de inmunofluorescencia indirecta (IFAT)

El diagnóstico de abortos asociados con neosporosis se ha basado principalmente en la detección de lesiones características, combinada con la demostración inmunohistoquímica de *N. caninum* en tejidos fetales y la detección de anticuerpos específicos por IFAT. El método inmunohistoquímico es laborioso y debido a que solo unos pocos parásitos de *N. caninum* pueden estar presentes en los tejidos, el método se considera relativamente insensible.

La IFAT se considera un ensayo específico y sensible para detectar anticuerpos contra *N. caninum* en fluidos fetales, pero existe cierta controversia con respecto al título mínimo para una respuesta específica. Encontrar anticuerpos específicos contra *N. caninum* no es prueba de que la neosporosis sea la razón del aborto, pero en presencia de lesiones fetales significativas compatibles con *N. caninum* y ausencia de otras enfermedades, la serología positiva confirma la causa del aborto como neosporosis (Slotved *et al.*, 1999).

Ensayo inmunoenzimático (ELISA)

La prueba ELISA, cuyo significado es el acrónimo en inglés para enzimoanálisis de adsorción, un examen de laboratorio comúnmente usado para detectar anticuerpos en la sangre; el ELISA, se ha establecido ampliamente para el diagnóstico de neosporosis, ya que, es fácil de aplicar y permite una determinación rápida de los niveles de anticuerpos en líquidos como la leche y el suero de muestras sanguíneas. El ensayo inmunoenzimático se ha utilizado comúnmente para analizar un gran número de muestras. Por otro lado, la reducción de la reactividad cruzada entre la familia *Sarcocystidae*, especialmente *T. gondii* y *Sarcocystis* spp. se ha considerado un criterio importante para desarrollar métodos serológicos para la neosporosis. La misma se basa en la proteína recombinante que presenta mayores niveles de sensibilidad y especificidad basadas en lisados de taquizoítos. En un ensayo ELISA, el antígeno se inmoviliza en una superficie sólida. Esto se hace directamente o mediante el uso de un anticuerpo de captura inmovilizado en la superficie. Luego, el antígeno se une con un anticuerpo de detección conjugado con una molécula susceptible de detección, como una enzima o un fluoróforo (Mainato, 2011).

El principio de un ELISA se basa en la unión específica entre un anticuerpo y un antígeno. Esta especificidad proviene de la estructura tridimensional única del paratopo del anticuerpo y el epítipo del antígeno, estas dos regiones encajan como una cerradura y una llave, a través de interacciones no covalentes, basadas en carga y/o hidrofóbicas (Guzmán, 2004).

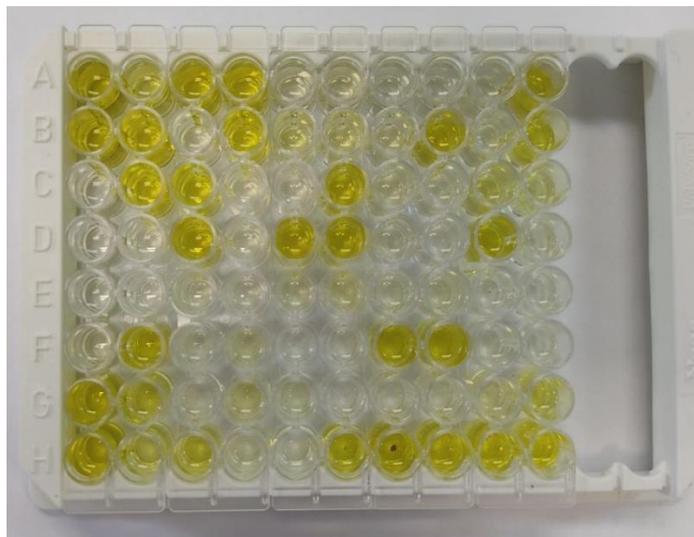
El propósito clínico de la prueba ELISA es detectar un anticuerpo o antígeno de un fluido biológico como sangre (suero), orina o saliva. Cuando se usa la prueba ELISA para detectar la presencia de un anticuerpo, se determina si el animal ha estado expuesto a un antígeno específico (Asanza y Cunalata, 2021). Sin embargo, es difícil evaluar una infección actual con este método, debido a que, el cuerpo retiene anticuerpos durante mucho tiempo después de la infección. Alternativamente, se puede usar una cantidad elevada de anticuerpo para indicar una respuesta inmune activa al patógeno.

Ensayo inmunoenzimático indirecto (iELISA)

En la prueba de ELISA indirecto, el antígeno se pega al fondo del pocillo de la placa y seguidamente se añade un anticuerpo específico (Ac) del antígeno (Ag). Posteriormente se une al primer anticuerpo un anticuerpo secundario conjugado con una enzima u otra molécula de detección, tras la incubación a la temperatura adecuada para favorecer la unión Ac-Ag, generalmente a 37°C, se lava con cuidado, para eliminar los reactivos que no hayan quedado fijados a la fase sólida. Se procede a la adición de los siguientes reactivos, llevando a la incubadora y haciendo los lavados de las placas tantas veces como requiera el protocolo de iELISA. Se añade el conjugado, que no es más que anticuerpos unidos a enzimas, es decir que se encuentran marcados, para que posterior a la incubación y lavado correspondiente, se pueda añadir el sustrato de la enzima, de éstas las más utilizadas son la peroxidasa, la fosfatasa alcalina y la luciferasa. En todos los casos se va a producir una reacción de tinción, cuya intensidad depende de la cantidad de enzima presente en el pocillo, lo que se cuantifica con el espectrofotómetro (Guamán, 2022).

Figura 4

Técnica iELISA para la detección de anticuerpos contra Neospora caninum



Nota. Variación colorimétrica en sueros bovinos proyecto BruTryp mediante test de iELISA frente a *Neospora caninum*: Positivos (turquesa) y Negativos (transparente).

Microaglutinación

La microaglutinación es una prueba serológica relevante en el diagnóstico de la neosporosis porque no requiere anticuerpos anti-isotipos conjugados y permite analizar sueros de distintas especies teniendo alta "repetibilidad" entre muestras, es de fácil lectura y utiliza poco equipamiento y materiales. La prueba de microaglutinación es considerada específica para diagnóstico de infecciones por *N. caninum* por no existir reacciones cruzadas con otros protozoos como *Toxoplasma gondii*, *Hammondia* spp. y *Sarcocystis* spp (Moore *et al.*, 2002).

El fundamento del test de aglutinación utilizado en micro placas, se basa en el uso de taquizoítos como antígeno para el diagnóstico de neosporosis, el mismo no requiere anticuerpos secundarios, microscopio o equipamiento para ELISA para inmunofluorescencia (Mainato, 2011).

Microscopía óptica

Moore *et al.* (2005) explican que los taquizoítos han sido documentados en una variedad de tipos celulares, que incluyen neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miocitos, células renales y hepatocitos. Sin embargo, es importante destacar que los quistes tisulares, a diferencia de los taquizoítos, se han observado exclusivamente en tejido nervioso, aunque se ha registrado un caso excepcional de quistes en el músculo ocular de un potrillo. La aplicación de la microscopía óptica posibilita la identificación de los taquizoítos como orgánulos que tienen la capacidad de facilitar la invasión y la interacción con el hospedador. De igual manera, esta técnica permite la observación de microenemas, roptrias y gránulos densos en los taquizoítos, cada uno de los cuales cumple funciones específicas, tales como el reconocimiento de las células hospedadoras y la interacción metabólica, respectivamente.

Diagnóstico diferencial

El diagnóstico de enfermedades relacionadas con abortos es diverso y puede ser resultado de una variedad de causas como agentes bacterianos, virales, parasitarios, micóticos, desequilibrios hormonales, elementos químicos, deficiencias nutricionales y traumatismos externos, entre otros. Por lo general, ciertas enfermedades más frecuentes, como la brucelosis, leptospirosis, rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), diarrea viral bovina (DVB), vibriosis, tricomoniasis, entre otras. Suelen ser vinculadas al fenómeno del aborto. Para asegurar un diagnóstico más certero, se recomienda llevar a cabo exámenes serológicos de manera periódica en el seno de un rebaño ganadero, con el fin de determinar con certeza la causa de los abortos u otras patologías (Almería *et al.*, 2011).

Virus de la diarrea viral bovina (DVB)

Rivera (2001), explica que el Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) es uno de los agentes patógenos ampliamente extendidos en la población bovina a nivel mundial, y se considera una de las principales causas de problemas reproductivos, como lo indica la presencia de antígenos virales en un 49% de los fetos. Cuando un bovino con un sistema

inmunológico competente se infecta con el VDVB, en un rango del 70% al 90% de los casos, la respuesta es una infección subclínica caracterizada por una leve fiebre y una disminución de los glóbulos blancos, seguida por la producción de anticuerpos neutralizantes y finalmente la recuperación del animal. En ocasiones, los animales infectados pueden mostrar síntomas como una ligera apatía, fiebre y disminución de glóbulos blancos, con secreciones en los ojos y la nariz, y en casos eventuales, pueden presentar erupciones en la cavidad bucal. En tales situaciones, se describe que la infección es aguda y afecta a animales seronegativos y con sistemas inmunológicos competentes, en un rango de edad entre 6 meses y 2 años.

Brucelosis

La brucelosis bovina es una afección originada por la bacteria *Brucella abortus*, la cual ocasiona abortos en el ganado bovino, resultando en notables pérdidas económicas. *B. abortus* también impacta a diversas especies, como el bisonte, el búfalo y el uapití, actuando algunas de ellas como portadoras constantes de este microorganismo. Las infecciones en animales silvestres pueden complicar los esfuerzos de erradicación en el ganado bovino. Además de su efecto en los animales, *B. abortus* puede afectar a los seres humanos como un patógeno. En el caso de los humanos, la brucelosis puede manifestarse como una enfermedad seria, debilitante y, en ocasiones, crónica, afectando diversos órganos. Aunque la mayoría de los casos resultan de la exposición laboral a animales infectados, también es posible contraer la infección al consumir productos lácteos contaminados. Además, existe la posibilidad de que *B. abortus* sea utilizada en actos de bioterrorismo Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, (IICA, 2009).

Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR)

La rinotraqueitis infecciosa bovina es una enfermedad infecciosa y contagiosa causada por un virus, específicamente el Virus Herpes Bovino tipo 1 (VHB-1). Esta afección puede dar lugar a manifestaciones clínicas que van desde trastornos respiratorios hasta problemas oculares, tanto leves como graves. Además, puede ocasionar inflamaciones con características

pustulares en las membranas mucosas de la vulva, vagina y útero, lo que suele desencadenar abortos o el nacimiento de terneros con serios problemas neurológicos que presentan una alta tasa de mortalidad. En el caso de los machos, esta enfermedad provoca lesiones pustulares en la mucosa del pene, generando cuadros de balanopostitis (Servicio Agrícola y Ganadero de Chile, 2012).

Leptospirosis

La leptospirosis es una zoonosis de gran importancia económica debido a su relación con abortos, la mortalidad de terneros al nacer y la disminución en la producción de leche. Esta enfermedad se encuentra distribuida a nivel mundial y su origen radica en la bacteria *Leptospira interrogans*. Actualmente, se ha realizado una reorganización de *Leptospira* en 7 especies patógenas con alrededor de 200 serovares distintos, clasificados según sus antígenos de superficie. Los síntomas clínicos que se presentan varían dependiendo del serovar implicado y la susceptibilidad del animal. La leptospirosis involucra dos categorías de hospedadores: los que actúan como reservorios en el medio ambiente, generalmente especies silvestres, donde la infección tiende a ser subclínica; y los hospedadores incidentales, en los cuales la bacteria puede generar infecciones que varían desde subclínicas hasta agudas. En ambos tipos de hospedadores, la bacteria tiene la capacidad de causar abortos, muerte al nacer o el nacimiento de crías debilitadas (Rivera, 2001).

Otros patógenos causantes de aborto

En los rumiantes, la listeriosis puede generar encefalitis (inflamación cerebral), abortos o septicemia. Los signos clínicos abarcan la depresión, la pérdida de apetito, la fiebre, la falta de coordinación, la salivación excesiva, la parálisis facial y el desplazamiento en círculos. Esta enfermedad es más prevalente en animales jóvenes, generalmente en aquellos de 1 a 3 años de edad. Adicionalmente, la infección puede desencadenar casos de mastitis en las vacas (Steneroden y Ramirez, 2006).

La salmonelosis en el ganado bovino afecta a animales de todas las etapas de vida, manifestándose con síntomas que incluyen fiebre, pérdida de apetito, decaimiento, diarrea caracterizada por heces líquidas y malolientes, a veces con presencia de mucosidad y rastros de sangre. En situaciones graves, la mortalidad puede superar el 50%, especialmente cuando los animales no reciben tratamiento. Sin embargo, con el empleo de medidas de control apropiadas, la tasa de mortalidad se reduce a menos del 10%. En el caso de hembras gestantes, la infección puede llevar al aborto como consecuencia (Flores, 2005).

La Campilobacteriosis Genital Bovina (CGB), conocida también como vibriosis bovina, es una de las enfermedades venéreas más significativas que afecta al ganado bovino. Esta enfermedad es una de las principales causas de infertilidad temporal, mortalidad embrionaria y abortos esporádicos que suelen ocurrir alrededor de la mitad de la gestación. Su relevancia primordial radica en las pérdidas económicas generadas por los abortos que provoca. La afección es causada por *Campylobacter fetus subsp. venerealis*, una bacteria que tiene su hábitat natural en el tracto genital del ganado vacuno. Esta enfermedad se encuentra distribuida a nivel mundial y adquiere mayor importancia en regiones donde la crianza de ganado vacuno se realiza en extensas áreas y donde la monta natural es una práctica común. Existe otra subespecie de *Campylobacter fetus*, conocida como *subsp. fetus*, que habita en el tracto digestivo de diversas especies animales y solo ha sido ocasionalmente vinculada con casos de infertilidad en el ganado bovino (Flores, 2005).

La incidencia de abortos provocados por infecciones de hongos varía en función del clima y las condiciones de alojamiento de los animales. Principalmente, los casos de aborto micótico se atribuyen a *Aspergillus fumigatus*. Esta problemática suele presentarse de manera aislada durante el último tercio de la gestación. Los síntomas clínicos en las vacas son poco comunes, más allá de la retención de la placenta. Las lesiones caracterizan placentitis que abarca tanto cotiledones como tejido intercotiledonario, resultando en un engrosamiento difuso que se asemeja a la textura del cuero. Aunque existen medidas de control general, en caso de

un brote, es esencial evaluar la contaminación fúngica presente en los alimentos y el entorno. Las prácticas que predisponen a la rumenitis pueden contribuir al agravamiento del problema (Anderson, 2005).

La introducción de trichomonosis al grupo de animales puede ocurrir al incorporar una vaca o un toro que estén afectados por esta enfermedad. Esta afección se caracteriza principalmente por provocar trastornos reproductivos en las hembras, como la repetición de celo, mortalidad embrionaria, desarrollo de piómetra, abortos y la manifestación de ciclos estrales irregulares. Estos efectos son similares en muchos aspectos a los observados en la campilobacteriosis, tanto desde una perspectiva epidemiológica como en términos clínicos y patológicos. En términos epidemiológicos, las hembras pueden actuar como portadoras de la infección durante un período que oscila entre uno y tres meses, mientras que los machos pueden mantenerse como portadores durante más de tres años e incluso durante toda su vida (Ramirez, 2015).

Control y tratamiento

Tratamiento

Mainato (2011) manifiesta que no hay un tratamiento efectivo disponible. La prevención y manejo de la neosporosis bovina se fundamenta en:

Reducción de la propagación horizontal (contaminación del entorno), lo cual implica evitar que los perros accedan a placentas y prevenir la contaminación del alimento con excrementos caninos.

Realizar pruebas serológicas en todos los animales. Si en el grupo de resultados positivos se observa una tasa alta de abortos, los animales serán retirados de inmediato. Si la tasa de abortos es baja, los animales seropositivos serán cruzados con razas cárnicas y su descendencia no será utilizada para la reproducción.

Quimioterapia

En la presente situación, el tratamiento mediante terapia quimioterapéutica no resulta viable debido a la ausencia de fármacos eficaces y económicamente accesibles. No obstante, múltiples investigaciones en etapas iniciales apuntan a la posibilidad de que la terapia quimioterapéutica pueda eventualmente constituir una alternativa concreta para el control de la neosporosis a lo largo del tiempo (Alvarez *et al.*, 2006).

Aunque diversos agentes antimicrobianos han sido objeto de investigación tanto *in vitro* como en modelos animales como ratones para el tratamiento de la neosporosis, en la actualidad no se encuentran disponibles en el mercado fármacos específicos para este propósito. No obstante, estudios experimentales han evidenciado que el toltrazuril y el ponazuril tienen la capacidad de prevenir la formación de lesiones cerebrales en ratones que han sido inoculados con el parásito, logrando también una disminución en la detección del ADN parasitario mediante la técnica de PCR, con una eficacia superior al 90%. A pesar de estos resultados alentadores, es importante considerar la posible aparición de resistencia a estos fármacos y las demandas crecientes en relación al consumo de productos cárnicos y lácteos libres de compuestos químicos, factores que podrían limitar la viabilidad de la quimioterapia como medida de control (Morales, 2016).

Estrategias de control

No existe un enfoque global para el control de la neosporosis bovina, ya que, las estrategias a seguir variarán según las diferencias en la epidemiología de la enfermedad en distintas regiones. En aquellos rebaños de ganado en los cuales las pérdidas económicas sean considerables, resulta esencial adoptar medidas preventivas para evitar la propagación tanto horizontal como vertical de la infección. Para lograr esto, es crucial centrarse en el control de los animales que sean positivos a la infección. Es fundamental contar con información sobre la prevalencia de la seropositividad en el rebaño y comprender en detalle el ciclo de vida silvestre del parásito (Parrado, 2015).

Según Morales (2016) para prevenir la transmisión transplacentaria endógena (vía vertical) se han utilizado las siguientes medidas:

Disminuir la cantidad de vacas lecheras infectadas dentro del rebaño mediante la sustitución de aquellas vacas seropositivas por vacas seronegativas. Las vacas destinadas a la producción de carne y que son seropositivas pueden permanecer en el rebaño, ya que, serán enviadas al matadero sin reproducirse.

Evaluar la viabilidad de llevar a cabo la transferencia de embriones desde una vaca de alto valor genético que sea seropositiva (antes de que los embriones sean implantados) hacia otra vaca que sea seronegativa.

Remover y eliminar rápidamente los fetos abortados, placentas y becerros muertos.

Realizar pruebas serológicas de manera periódica en los terneros recién nacidos antes del calostro para verificar su estado de infección.

Considerar la posibilidad de descartar las vacas seropositivas.

Medidas profilácticas

Vacunación

En relación a la inmunización, tanto en Estados Unidos como en México, se ha aprobado el uso de una vacuna basada en taquizoítos lisados (inactivados). Esta vacuna se consideró segura para su aplicación en vacas preñadas sin problemas de salud. Aunque se demostró que su implementación reducía la incidencia de abortos al incrementar la producción de anticuerpos contra *Neospora caninum*, no lograba prevenir la infección en los fetos. Sin embargo, la vacuna ya no está disponible en el mercado. En tiempos recientes, se han desarrollado y están siendo investigadas nuevas vacunas elaboradas con taquizoítos vivos atenuados, así como con antígenos completos o fracciones de estos parásitos, y también se están explorando antígenos recombinantes. Estas nuevas vacunas parecen mostrar un potencial prometedor al estimular una respuesta inmunológica celular más efectiva contra el

parásito. No obstante, estas opciones aún no se encuentran disponibles comercialmente (Morales, 2016).

Inmunidad

Inmunidad mediada por anticuerpos

Las investigaciones que han utilizado infecciones naturales y experimentales de animales con taquizoítos u ooquistes de *N. caninum* ha permitido el estudio de la inmunidad mediada por anticuerpos (IMA). En estos animales, se ha observado que la avidéz de la IgG tiende a incrementarse con el tiempo, lo que resulta en la capacidad de identificar infecciones crónicas o recientes. Se sugiere que los anticuerpos específicos podrían tener un efecto de limitar la cantidad de parásitos en la sangre o incluso de destruir los taquizoítos que se encuentran fuera de las células. Experimentos realizados en ratones han demostrado que aquellos deficientes en células B y anticuerpos, experimentaron lesiones cerebrales severas después de la infección. También se ha comprobado que las células T CD4+ desempeñan un rol importante, ya que promueven la producción de anticuerpos en las etapas avanzadas de la enfermedad. En estudios con ratones, se ha observado que los anticuerpos predominantes después de la infección con *N. caninum* son del tipo IgG2, mientras que los niveles de IgG1 son relativamente bajos. Se ha relacionado un aumento en la proporción de IgG1:IgG2 con una mayor mortalidad en estos animales. Estos patrones de respuesta también se han encontrado en bovinos infectados experimentalmente, donde la respuesta Th1 está asociada con la producción de IgG2. Sin embargo, en bovinos que fueron desafiados con taquizoítos vivos, los niveles de IgG1 e IgG2 se mantuvieron similares (Sanderson *et al.*, 2000).

Inmunidad mediada por células

Los mecanismos de Inmunidad Mediada por Células (IMC) son cruciales para el control de *N. caninum*, un parásito intracelular obligado que puede evadir la respuesta inmunológica. La IMC que involucra linfocitos T cooperadores y la producción de citocinas como IFN-g, IL-12 e IL-2 está relacionada con la resistencia al protozoo. Experimentos en cultivos celulares han

demostrado que el IFN-g recombinante puede inhibir la multiplicación intracelular del parásito. En estudios "in vitro", las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de bovinos infectados con *N. caninum* mostraron proliferación y producción de IFN-g en respuesta al antígeno del parásito. Además, se ha observado que la infección de células cerebrales bovinas puede ser inhibida mediante la adición de IFN-g y Factor de Necrosis Tumoral (FNT). También se ha reportado que ciertos antígenos de bajo peso molecular (30 kDa) de los taquizoítos de *N. caninum* estimulan la proliferación in vitro de linfocitos T CD4+ obtenidos de terneros infectados experimentalmente (Alvarez, 2022), (Moore *et al.*, 2005).

Resistencia a la enfermedad

Respuesta inmune

Neospora caninum es un parásito obligado intracelular, por lo tanto, la acción de anticuerpos como los mecanismos implicados en la respuesta celular, son importantes frente a la respuesta inmune ante el parásito (Alvarez, 2022). En el primer tercio de la gestación, el feto es incapaz de reconocer al agente patógeno, por lo tanto, es vulnerable ante la infestación por *N. caninum*, por lo cual es inminente que su proceso de desarrollo y crecimiento se vea interrumpido, terminando así en aborto o momificación fetal. En el segundo tercio de la gestación, el feto en desarrollo es capaz de reconocer al patógeno y puede producir una respuesta inmune, lo cual es aseverado por la presencia de anticuerpos en el suero de fetos abortados; sin embargo, la respuesta no es suficiente ante la infestación por el parásito, ya que, la mayoría de abortos se registran en este período. No obstante, si la infección ocurre en el último trimestre de la gestación, el feto es capaz de sobrevivir y nacer infectado clínicamente sano, es decir que presenta la enfermedad, pero no se evidencia síntoma alguno durante su crecimiento (Quintanilla *et al.*, 2000).

Pérdidas económicas en la ganadería

Pérdidas económicas en hatos de leche

Los efectos ocasionados por el parásito en hatos lecheros son:

Muerte y reabsorción fetal temprana seguida de repetición de celo, incremento del intervalo entre la concepción y el parto o infertilidad.

Aborto entre el segundo y último trimestre de la gestación.

Natimortos, muerte neonatal o perinatal.

Incremento de la selección de vacas para descarte ya que, estos animales al estar infectados tienen mayor probabilidad de ser eliminadas del hato por su bajo desempeño reproductivo y productivo (Sáenz, 2008).

Reducción en la producción de leche, evidentemente el impacto ocasionado por la enfermedad en hatos lecheros es difícil de cuantificar; el incremento entre el intervalo de partos y concepción puede reducir el número de lactancias si se considera su periodo en años. De igual manera, las vacas infectadas no abortadas han mostrado una reducción en la producción del 4% en su primera lactancia. Un estudio realizado en California determinó que vacas de 1er parto seropositivas redujeron en al menos 1 kg/ día en comparación a sus pares seronegativos (Moore *et al.*, 2005).

Bajo costo económico de vacas para servicio, dado que la enfermedad se transmite de generación en generación y se mantiene en el hato hasta el descarte de la vaca, consecuentemente su valor monetario es menor en comparación a un animal sano cuando este sale a la venta, además que, se ha demostrado que las vacas seropositivas fueron eliminadas 6 meses antes que las vacas seronegativas (Valenzuela, 2005).

Igualmente, se debe tener en cuenta el costo que implica mantener animales enfermos; diagnóstico veterinario constante, pruebas de laboratorio para determinar el estado de la enfermedad, inseminar o servir nuevamente a la vaca o vaca abortadas, incremento en el tiempo de lactancia, costos de reemplazo si el ganadero decide reemplazar al animal infectado.

Se ha reportado que en Estados Unidos pierden 546,3 millones de dólares anualmente en la población lechera a causa de abortos, mientras que en Nueva Zelanda las pérdidas en el sector lechero, alcanzan los 681,6 millones de dólares al año (Reichel *et al.*, 2013).

Pérdidas económicas en hatos de carne

Neospora caninum ha sido también el responsable de fuertes pérdidas económicas en hatos cárnicos, Australia ha registrado 110 millones de dólares en pérdida cada año, para la producción de carne por el deceso del 7 a 9% de crías a causa de la enfermedad (Davidson *et al.*, 2022).

En Estados Unidos, estudios realizados en 55 rodeos de carne determinaron una seroprevalencia general del 24 % y la seroprevalencia dentro del rebaño osciló entre el 3 y el 67 % (Sanderson *et al.*, 2000). En Argentina se han registrado pérdidas por 12 millones de dólares en hatos de carne y una prevalencia del 73% en hatos analizados (Campero *et al.*, 2023).

Prevalencia y situación actual de la neosporosis bovina

Situación en Latinoamérica

Neospora caninum ha sido reportada en numerosos países de Latinoamérica (Tabla 1) mediante técnicas serológicas e inmunohistoquímica (IHQ). Los datos obtenidos mediante la aplicación de estas pruebas no permiten realizar comparaciones entre países, ya que, para determinar la prevalencia o presencia de la enfermedad, se utilizaron diferentes pruebas diagnósticas, y a su vez, fueron considerados diversos tipos de animales en cada estudio, estableciendo así, determinaciones de investigaciones al azar y en otros casos animales que han presentado sintomatología previa de la enfermedad. Sin embargo, mediante la aplicación de las diversas técnicas y ensayos, nos permite asegurar que *Neospora caninum* se encuentra presente en varios países analizados, en los cuales la investigación de las enfermedades del aparato reproductivo, es constante.

Tabla 1*Prevalencia y detección de Neospora caninum en fetos en Latinoamérica*

País	Tipo de animal	Positivos/N° muestras	Positivos	Técnica
Argentina	Feto lechería	20/82	24,4	IFAT
	Feto carne	1/22	4,5	
	Vacas abortadas	122/189	64,5	
	Feto lechería	26/354	7,3	IHQ
	Vacas lechería	---	16,1	IFAT
	Carne	15/305	4,9	IFAT
Brasil	Fluidos fetales (carne y leche)	26/66	27,4	IFAT
	Lechería	63/447	14,1	IFAT
	Feto	25/223	11,2	IFAT
	Lechería	89/663	14,3	IFAT
Chile	Fetos	37/661	23,0	IHQ
	Lechería	---	14,1	ELISA
	Lechería	20/55	11,2	IFAT
Colombia	Lechería	89/663	14,3	IFAT
	Lechería	193/357	54,1	ELISA
Ecuador	Lechería	166/395	42	ELISA
México	Feto lechería	73/221	34,6	Histopatol
	Feto lechería	41/73	56,2	IHQ
Paraguay	Lechería	107/297	36,0	ELISA
	Carne	155/582	26,6	
Perú	Fetos lechería	16/29	55,2	IHQ
	Lechería	18/29	62,1	IFAT
Uruguay	Lechería	135/884	16	ELISA
	Lechería	130/217	60	IFAT

Nota. ELISA: ensayo inmunoenzimático, IFAT: prueba de inmunofluorescencia indirecta, IHQ: inmunohistoquímica, Histopatol.: Histopatología. Recuperado de: (Valenzuela, 2005).

Investigaciones de neosporosis bovina en Ecuador

En Ecuador la neosporosis bovina ha tomado relevancia en los últimos años debido al gran impacto económico que genera en la ganadería a nivel nacional, por lo cual, las investigaciones y estudios han sido de gran importancia para determinar el estado de la enfermedad en diferentes regiones del país.

La primera investigación de neosporosis bovina realizada en el Ecuador fue elaborada por Lozada (2004) en su trabajo “Determinación de la Presencia de anticuerpos de *Neospora caninum* en hatos lecheros de la Sierra Centro Norte del Ecuador, por prueba inmunoenzimática.” en donde determinó la presencia a través de anticuerpos a *Neospora caninum* en la región sierra centro norte del Ecuador, mediante la prueba inmunoenzimática

(ELISA), para diagnosticar neosporosis bovina, en su trabajo se tomaron muestras de sangre a 395 bovinos y obtuvo una prevalencia del 42% (166/395) de positivos.

La investigación “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” realizada por Escobar y Vargas (2011) donde determinaron la seroprevalencia de anticuerpos para *Neospora caninum*, mediante la técnica de ELISA, del total de 343 muestras de sangre incorporadas en el estudio, evidenció 93 muestras positivas, que equivale a un 27,1%, distribuidas de la siguiente manera por provincias, en la Provincia de Sto. Domingo de los Tsáchilas resultaron 46 positivas (28,2%); en la de la Provincia de Pichincha se encontraron 27 positivas (27,8%) y en la de la Provincia de Bolívar resultaron 20 positivas (24,0%).

En cuanto a los estudios más recientes en el país tenemos: en el cantón Morona perteneciente a la provincia de Morona Santiago, el estudio realizado por Chacha (2022), determinó un 14,9 % de prevalencia en 162 animales analizados; en el cantón Shushufindi perteneciente a la provincia de Sucumbíos el estudio realizado por Asanza y Cunalata (2021), encontraron una prevalencia del 29% de un total de 90 muestras analizadas; en el estudio realizado en la provincia de Chimborazo realizado por Baquero *et al.* (2022) determinaron que existe una prevalencia de 55,60% de 170 muestras de suero sanguíneo bovino, por último el estudio realizado por Guamán (2022), en el cantón Guamote perteneciente a la provincia de Cotopaxi; muestreó 184 vacas de las cuales 28 casos resultaron positivos a *Neospora caninum*, lo que representa, una prevalencia del 15,22%.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

El presente estudio fue realizado entre los meses de abril y agosto del año 2023, y comprendió el trabajo de laboratorio, que se desarrolló en las instalaciones de los Laboratorios de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal- LGMSA de la Carrera Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

El desarrollo de la investigación fue bajo el contexto del proyecto de vinculación con la sociedad “Establecimiento de una plataforma en apoyo a la formación y sensibilización, diagnóstico y desarrollo de una estrategia de control de la brucelosis y tripanosomosis en Ecuador - BruTryp” cuyo principal objetivo es establecer una plataforma de información sobre el estado de la brucelosis y tripanosomosis en el Ecuador; mediante la recolección y análisis de muestras biológicas de sueros sanguíneos de diferentes especies animales tales como: bovinos, caninos, camélidos y equinos con el fin de establecer estrategias de control y prevención de las mismas.

Trabajo de campo

Dentro del proyecto de vinculación con la sociedad BruTryp, financiado por la Universidad de Lieja (ULg) y la Academia de Investigación y Enseñanza Superior (ARES) de Bélgica, se obtuvieron muestras sanguíneas de bovinos pertenecientes a 5 provincias del Ecuador las cuales fueron: Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana, que han sido recolectadas desde el año 2017 y fueron utilizadas para el desarrollo del presente proyecto.

Determinación del tamaño de la muestra y submuestreo

Dentro del proyecto BruTryp se cuentan con 4898 muestras de suero sanguíneo bovino, de las cuales, se realizó un submuestreo para el desarrollo del proyecto de tesis

“Optimización del ensayo iELISA con lipopolisacárido liso (LPS-S) de *Brucella abortus* biotipo 4, como antígeno para el diagnóstico serológico de brucelosis en bovinos”,

(Alvarez, 2023) obteniéndose así 335 muestras; para el presente estudio se realizó un sub-muestreo aleatorio estratificado de las muestras del trabajo de Alvarez (2023), con asignación proporcional al tamaño del estrato (provincia), para lo cual se utilizó la siguiente fórmula estadística y las constantes presentes en la Tabla 2, obteniéndose así 182 muestras como el tamaño de la población del estudio mismas que son detalladas en la Tabla 2.

$$n_{\pi}(1 - \alpha) = \frac{N z_{1-\alpha/2}^2 \sum_{i=1}^K N_i s_{\pi_i}^2}{D_{\pi}}; \omega_i = N_i / N$$

Donde:

$$D_{\pi} = E_{\pi}^2 N^2 + z_{1-\alpha/2}^2 \sum_{i=1}^k N_i s_{\pi_i}^2$$

$s_{\pi_i}^2 = p_i(1 - p)$ varianza muestral de la proporción del estrato i

N = tamaño poblacional total

Ni = tamaño muestral

ni = número mínimo de animales por provincia para el estudio

pi = prevalencia estimada por provincia (criterio de varianza máxima)

ω_i = peso muestral del estrato

Tabla 2

Constantes incluidas en el cálculo de la submuestra

Constantes	Valores a reemplazar
N	335
NdC	95%
$z_{1-\alpha/2}$	1,96
E_{π}	0,05

Nota. N: Tamaño poblacional total; NdC: Nivel de confianza; $z_{1-\alpha/2}$: cuantil de orden $1-\alpha/2$; E_{π} : error de muestreo. Autoría propia.

Tabla 3

Tabla resumen del número mínimo de muestras necesarias por provincia.

Provincia	Estrato "i" (provincias)	N _i	p _i	ω _i	s _{π_i} ²	N _i s _{π_i} ²	n _i
Manabí	1	100	0,5	0,29850746	0,25	25	54
SDT	2	21	0,5	0,06268657	0,25	5,25	12
Pichincha	3	166	0,5	0,49552239	0,25	41,5	89
Napo	4	30	0,5	0,08955224	0,25	7,5	17
Orellana	5	18	0,5	0,05373134	0,25	4,5	10
TOTAL		335		1		83,75	182

Nota. N_i: tamaño muestral; p_i: prevalencia estimada por provincia; ω_i: peso muestral del estrato; s_{π_i}² varianza muestral de la proporción en el estrato i; n_i: número mínimo de animales por provincia para el estudio SDT: Santo Domingo de los Tsáchilas. Autoría propia.

Selección de animales

Las muestras recolectadas dentro del proyecto BruTryp, se realizaron en animales mayores a 6 meses de edad para evitar reacciones cruzadas con anticuerpos de la vacuna contra *Brucella abortus*.

Estratificación y submuestreo

La selección de las muestras pertenecientes a las 5 provincias se detalla a continuación en la Tabla 4:

Tabla 4

Tabla de selección de muestras pertenecientes al banco de biológicos por provincias

Provincias	N° muestras	N° fincas	N° muestras
	BruTryp	obtenidas	seleccionadas
Manabí	1440	78	47
SDT	279	16	3
Pichincha	2288	67	91
Napo	474	16	16

Provincias	N° muestras	N° fincas	N° muestras
	BruTryp	obtenidas	seleccionadas
Orellana	417	34	8
TOTAL	4898	211	165

Nota. N° Muestras BruTryp: Muestras existentes en el banco de biológicos; N° Fincas Obtenidas: Número de fincas de las cuales se obtuvieron las muestras del proyecto BruTryp; N° Muestras Seleccionadas: Número de muestras pertenecientes al banco de biológicos de cada provincia seleccionadas para el desarrollo del presente proyecto, SDT: Santo Domingo de los Tsáchilas. Autoría propia.

Adicionalmente, a pedido de las autoridades de la Carrera Agropecuaria IASA 1, se añadieron 11 muestras de bovinos pertenecientes a la Hacienda El Prado de la ESPE, sin embargo, estas muestras fueron sesgadas, ya que, pertenecían a animales con sintomatología de neosporosis bovina.

Aleatorización

Las muestras fueron seleccionadas de forma aleatoria mediante el sub-submuestreo del trabajo de titulación “**Optimización del ensayo iELISA con lipopolisacárido liso (LPS-S) de *Brucella abortus* biotipo 4, como antígeno para el diagnóstico serológico de brucelosis en bovinos**”, (Alvarez, 2023), en donde se utilizaron muestras pertenecientes al proyecto de vinculación con la sociedad BruTryp.

Debido a la adición de 11 muestras de la hacienda El Prado, y por efecto de la aleatorización, las muestras pertenecientes a la provincia de Santo Domingo se redujeron de 12 a 3 muestras, de la provincia de Napo de 17 a 16 muestras y de la provincia de Orellana se redujeron de 10 a 8.

Caracterización de los predios

La información necesaria para la caracterización de los predios fue facilitada por la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (Agrocalidad). Los predios fueron

categorizados en 3 estratos; pequeños, medianos y grandes según el número total de animales existentes en la finca, según la información recolectada en la encuesta que se realizó a cada propietario como se detalla a en la Tabla 5.

Tabla 5

Clasificación del tamaño de fincas según el número de animales existentes

Tamaño	Número de bovinos
Pequeño	1 a 20
Mediano	21 a 70
Grande	> 70

Nota: UPA: Unidad de Producción Agrícola, recuperado de: (Paucar *et al.*, 2021).

Para la determinación del número de animales a muestrear dentro del proyecto BruTryp, en las categorías de las fincas antes indicadas, se aplicó la metodología descrita por (Paucar *et al.*, 2021), tomando en cuenta el número total de animales que se encuentran dentro de cada finca, en base a eso se determinó el porcentaje de muestreo y el número de animales a ser considerados al momento de realizar el muestreo general, tal como se detalla en la Tabla 6.

Tabla 6

Porcentaje de muestreo en fincas en base al número total de bovinos

Número animales existentes en la finca	Porcentaje de animales a muestrear	Número de muestras a obtener
0 – 7	50	4
8 – 14	45	6
15 – 20	40	8
21 – 33	30	6 – 10
34 – 47	30	10 – 14
47 – 60	25	12 – 15
61 – 70	25	15 – 18
71 – 135	25	18 – 34
136 – 200	20	27 – 40
>200	20	40

Nota: Recuperado de: (Paucar *et al.*, 2021).

Toma de muestras sanguíneas

Las muestras de sangre bovina dentro del proyecto BruTryp fueron obtenidas a partir de la vena coccígea de los bovinos. Para este procedimiento se utilizó agujas Vacutainer calibre

21 instaladas en un capuchón, tubos con tapa roja (sin anticoagulante) y alcohol al 70%. Manteniendo de pie al animal se procedió a inmovilizarlo, se levantó la cola del animal, en posición horizontal para limpiar la zona perianal con alcohol al 70% y se ubicó el área de punción entre las vértebras coccígeas 6-7. Se obtuvieron alrededor de 10 mL de sangre en tubos tapa roja, los cuales fueron almacenados en una caja térmica por máximo 4 horas, para la posterior obtención del suero.

Recolección de información zootécnica y aplicación de encuesta epidemiológica

Con la finalidad de obtener información zootécnica de animales, así como información epidemiológica, para la posterior determinación de factores de riesgo, durante el muestreo de animales realizados por el proyecto BruTryp se efectuó la recopilación de información mediante el llenado de un registro de muestreo (Apéndice 1) así como el de una encuesta epidemiológica (Apéndice 2). El registro de muestreo recopiló información zootécnica y de identificación del animal como, sexo, edad, raza, en tanto que la encuesta epidemiológica contuvo las secciones de: 1) Identificación y localización de la explotación, 2) Datos generales de la explotación, 3) Bioseguridad del predio, 4) Manejo sanitario y reproductivo de los animales 5) Existencia y tratamiento de enfermedades hemotrópicas.

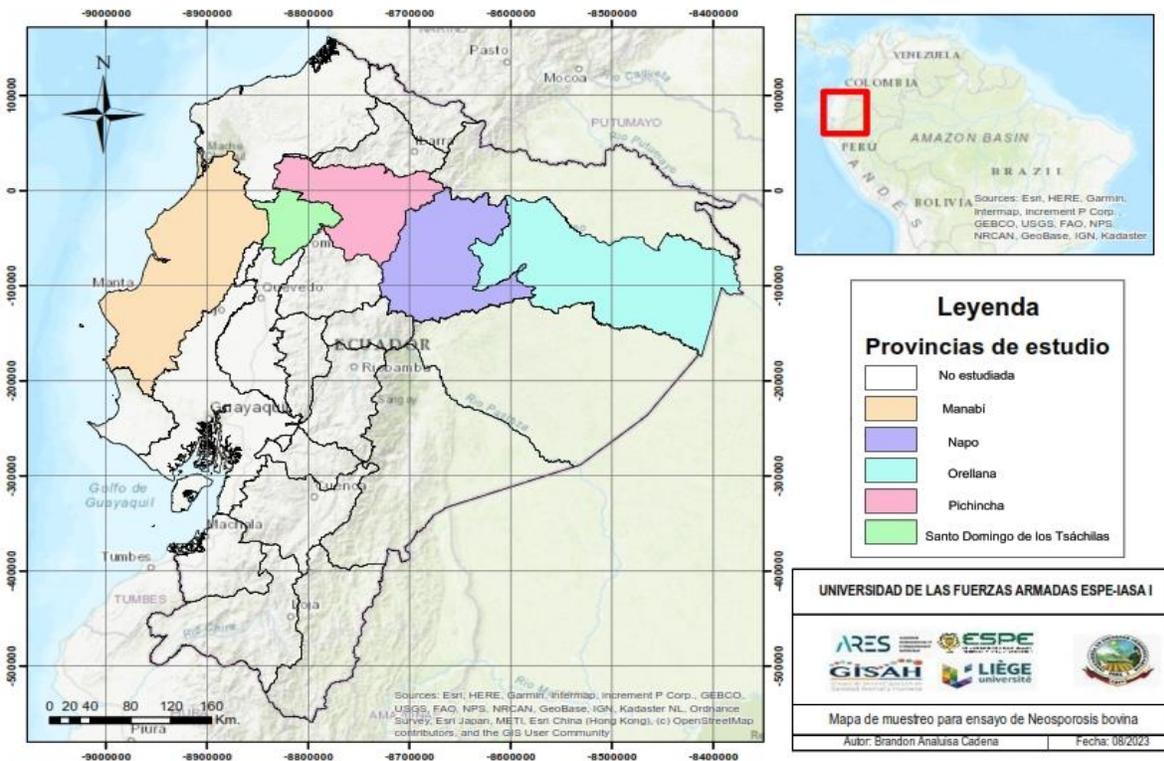
Georreferenciación de los predios

La aplicación Epicollect5, que fue utilizada durante la fase de campo del proyecto BruTryp, permitió obtener las coordenadas de los predios donde se realizaron los muestreos. Los datos que se obtuvieron fueron visualizados en un servidor central ya sean a través de mapas, tablas o gráficos, los mismos que permitieron ser cartografiados en la matriz web del proyecto "SanidadESPE" (Figura 5).

Mediante el sistema de información geográfica SIG, ArcMap 10.2, se obtuvieron mapas de distribución de las fincas muestreadas, que fueron objeto de este estudio; así como en función de los resultados obtenidos a la prueba diagnóstica para neosporosis bovina.

Figura 5

Mapa de georreferenciación de las provincias en estudio



Nota. Mapa de georreferenciación de las provincias en estudio elaborado en ArcMap. Autoría propia

Materiales, reactivos y equipos

Materiales de laboratorio

- Kit ELISA ELISA-Neospora 2/strip de la casa comercial IDEXX
- Mandil
- Guantes desechables
- Gradillas
- Micropipetas de precisión y multicanal, Marca: *Boeco*
- Puntas de pipetas desechables de 200 μ L y 0.5 a 100 μ L
- Cubierta para placas, Marca: *Nunc*
- Tubos de pre-dilución de 5 ml
- Canoas para reactivos

- Agua destilada
- Rollo de papel absorbente
- Fomix A4

Equipos

- Lavador de placas, Marca: BioTek ELx50
- Destilador de agua, Marca: Boeco, Modelo: WS- 3500
- Vortex, Modelo: VM-300
- Lector de placas de 96 pocillos, Marca: Awareness Technology
- Agitador de Placas, Marca: Stet Fax- 2200
- Incubadora, Marca: Memmert
- Cronómetro, Marca: Casio
- Autoclave

Reactivos

- Placa tapizada con antígeno de *Neospora caninum*
- Control positivo
- Control negativo
- Conjugado
- Diluyente de muestra
- Sustrato TMB N° 12
- Solución de frenado N° 3
- Solución de lavado concentrada (10x)

Trabajo de laboratorio

Las muestras de suero sanguíneo de bovinos obtenidas dentro del proyecto de vinculación con la sociedad BruTryp, fueron utilizadas para la realización de pruebas diagnósticas de brucelosis y tripanosomosis, enfermedades que son objeto de estudio del

proyecto; las muestras conservadas en el banco de biológicos fueron utilizadas para el desarrollo del presente trabajo de diagnóstico de *Neospora caninum* mediante la prueba de ensayo inmunoenzimático indirecto (iELISA).

Obtención de sueros

Los sueros se obtuvieron mediante centrifugación de los tubos tapa roja a 1500 - 3000 rpm durante 5 minutos en la centrífuga. Una vez formado el coágulo en la parte inferior del tubo se extrajo el sobrenadante con pipetas Pasteur y se colocó en tubos de tapa rosca de 2 mL etiquetados previamente.

Ensayo inmunoenzimático indirecto (iELISA)

Para el diagnóstico de neosporosis bovina en los 176 sueros a ser analizados, se utilizó la prueba diagnóstica iELISA de la casa comercial IDEXX. La prueba se fundamentó en la detección de anticuerpos de tipo IgG contra *Neospora caninum*.

El ensayo iELISA se realizó siguiendo la metodología propuesta por la casa comercial IDEXX. Antes de realizar el proceso descrito en el inserto, se esterilizaron los tubos de pre-dilución, las puntas de las micropipetas y canoas en las cuales se iba a verter los reactivos en la autoclave durante 15 minutos a una temperatura de 120 °C, con el fin de evitar una posible contaminación durante el proceso.

En primer lugar, se dejaron que todos los reactivos adquieran una temperatura ambiente de 18 a 26 °C antes de ser utilizados. A continuación, se dispensó 90 µL de diluyente de la muestra en tubos de pre-dilución, seguido se añadieron 10 µL de las muestras de suero sanguíneo y 10 µL de control positivo y negativo en los tubos correspondientes mezclándolos suavemente con la micropipeta. Una vez diluida la muestra, se trasvasó el contenido de cada tubo de pre-dilución a los pocillos de la placa tapizada con antígeno cuidadosamente con la ayuda de la micropipeta multicanal y se cubrió la placa con una cubierta adhesiva marca NUNC. Seguidamente, se incubaron las placas a 37 °C durante 1 hora en la incubadora marca Memmert, transcurrido este tiempo, se retiraron las placas de la incubadora y se lavaron 3

veces en el lavador de placas ELISA marca BioTek ELx50 con la solución de lavado 10x diluida 1:10 aforada a 1 L con agua destilada.

Posteriormente, con la ayuda de la pipeta multicanal, se añadieron 100 μ L de conjugado en cada pocillo para nuevamente incubar las placas a 37 °C durante 1 hora, concluido este tiempo se procedió a lavar 3 veces las placas con la solución de lavado. El exceso de líquido que pudiera quedar en la placa se retiró sacudiendo delicadamente la placa sobre una cama de papel toalla.

A continuación, se dispensaron 100 μ L de sustrato TMB en cada pocillo con la ayuda de la micropipeta multicanal, se procedió a incubar las placas en obscuridad a 23 °C por 15 minutos.

Finalizada la fase de incubación del sustrato, se añadieron 100 μ L de solución de frenado en cada pocillo, posteriormente se colocaron las placas en el lector de placas y se configuró el mismo para que realice la lectura de densidades ópticas a 450 nm.

Interpretación de resultados

Para que los resultados de una placa iELISA sean considerados como válidos se utilizaron los siguientes parámetros de control:

C+: Valores mayores o iguales a 2000 de Densidades ópticas (DO)

C-: Valores mayores o iguales a 0,500 de Densidades ópticas (DO)

Para la correcta interpretación de los resultados y su posterior análisis se deben tener en cuenta los siguientes parámetros establecidos por la casa comercial fabricante del kit:

Tabla 7

Parámetros para la correcta interpretación de la prueba iELISA

Resultado	Porcentaje de anticuerpos
Negativo	$M/P \% < 30$
Dudoso	$30 \leq M/P \% < 40$
Positivo	$M/P \% \geq 40$

Nota. M: densidad óptica de la muestra, P: densidad óptica del control positivo. Fuente: Kit ELISA, IDEXX.

Figura 5

Diseño de placa mantenida durante los ensayos

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C+											
B	C+											
C	C-											
D	C-											
E	M1											
F	M2											
G	...											M90
H	...											M92

Nota. C+: control positivo, C-: control negativo, M1...M92: muestras a utilizar. Autoría propia.

Análisis estadístico

Diseño no experimental

El presente estudio fue de tipo observacional, no experimental ya que se realizó sin manipular ninguna de las variables a ser estudiadas y básicamente se enfocó en la observación de los fenómenos tal y como se dan en su medio para finalmente ser analizados.

En cuanto al carácter epidemiológico del estudio fue de tipos de cohorte ya que se analizaron los factores de riesgo asociados a la enfermedad de neosporosis bovina y se determinaron las medidas epidemiológicas de Riesgo relativo (RR) y Riesgo atribuible (RA).

Operacionalización de variables

Tabla 8

Operacionalización de variables dentro del estudio

Variable	Definición	Dimensión	Indicador
Prevalencia	Número total de casos positivos	Baja (<20%) Media (21-50%) Alta (>50%)	Porcentaje de muestras positivas a la prueba diagnóstica
Edad (meses)	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el muestreo	1-9 10-18 19-36 >36	Número de animales dentro del rango
Sexo	Característica biológica, anatómica fisiológica y cromosómica	Hembra Macho	Identificación del sexo
Raza	Clasificación genética de grupos inferidos	<i>Bos taurus</i> <i>Bos indicus</i> Mestizo	Holstein Friesian, Jersey Brahman, Brown Swiss, Gyr, Nelore, Girolando
Sector geográfico	Lugar donde habita el animal	Costa Sierra Oriente	Pichincha, Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Napo y Orellana

Nota. Variables analizadas para determinar la prevalencia y factores de riesgo de neosporosis bovina. Autoría propia

Variables

Variables dependientes

Prevalencia de *Neospora caninum*

Prevalencia por variables como edad, sexo, raza, sector geográfico.

Variables independientes

Raza: La información recopilada por el personal del proyecto BruTryp de las diferentes razas en los muestreos de las 5 provincias mediante la aplicación de las encuestas fue:

Holstein, Jersey, Brown Swiss, Gyr, Nelore, Brahman, Girolando.

Edad: Para la clasificación de las edades de las muestras del banco de biológicos del proyecto BruTryp, se basaron en registros y dentición de los bovinos agrupándose en las siguientes categorías: 1-9 meses, 10-18 meses, 19-36 meses y >36 meses

Sexo: Personal de Brutryp recolectó en hojas de campo los datos del sexo de los animales: Hembra o Macho

Zona de muestreo: Para determinar esta variable el equipo del proyecto BruTryp georreferenció la ubicación de los predios muestreados mediante la aplicación Epicollect 5; para el presente estudio se clasificaron por provincias: Manabí, Napo, Orellana, Pichincha y Santo Domingo de los Tsáchilas, pertenecientes a las regiones de la Sierra, Costa y Oriente.

Datos de prevalencia

Los resultados de prevalencia de neosporosis en las zonas de estudio, se determinaron utilizando los resultados positivos a la prueba diagnóstica iELISA en relación con el número total de muestras analizadas dentro del ensayo. Estos resultados se consiguieron agrupando los datos en relación a la (Tabla #) y en base a las siguientes fórmulas.

$$Prevalencia\ general = \frac{\text{número de animales positivos}}{\text{número de animales totales}} \times 100$$

Prevalencia por UPA

$$P.UPA = \frac{\text{número de animales positivos por finca}}{\text{número total de animales muestreados por finca}} \times 100$$

Prevalencia por provincia

$$P.Pv = \frac{\text{número de animales positivos por provincia}}{\text{número total de animales muestreados por provincia}} \times 100$$

Prevalencia por sexo

$$P.Sx = \frac{\text{número de animales positivos por sexo}}{\text{número total de animales muestreados por sexo}} \times 100$$

Prevalencia por edad

$$P. Ed = \frac{\text{número de animales positivos por edad}}{\text{número total de animales muestreados por edad}} \times 100$$

Prevalencia por raza

$$P. Rz = \frac{\text{número de animales positivos por raza}}{\text{número total de animales muestreados por raza}} \times 100$$

Factores de riesgo

Al ser un estudio epidemiológico de cohorte se analizaron las variables recuperadas durante la investigación del proyecto BruTryp, mediante la utilización de las medidas de frecuencia epidemiológicas para identificar: Riesgo relativo (RR) y Riesgo Atribuible (RA). Para la determinación de las medidas epidemiológicas se utilizaron los resultados obtenidos mediante la prueba diagnóstica iELISA y la distribución de variables a ser analizadas (Tabla 8). Las fórmulas que se fueron utilizadas para el análisis de estas variables se detallan a continuación:

Fórmulas:

Cuantificación del riesgo

Riesgo relativo (RR): Es la razón o ratio del riesgo en el grupo expuesto en relación del grupo no expuesto; a mayor riesgo relativo mayor asociación entre factor de riesgo y la enfermedad.

$$\text{Riesgo relativo} = \frac{\text{Incidencia en expuestos}}{\text{Incidencia en no expuestos}} = \frac{Ie}{Io} = \frac{a/(a+b)}{c/(c+d)}$$

$RR = < 1$ Factor protector

$RR = 1$ ausencia de riesgo

$RR = > 1$ Factor de riesgo = Expuestos al factor de riesgo desarrollan más la enfermedad

Riesgo atribuible (RA): Es el efecto absoluto del factor de riesgo que produce la enfermedad, es el exceso de riesgo de enfermar en el grupo de los expuestos.

$$RA = Ie - Ine$$

Donde:

RA: Riesgo atribuible

Iae: Incidencia de animales expuestos

Iane: Incidencia de animales no expuestos

Se tomó en cuenta aspectos como; la raza, tamaño del hato, edad de los animales, presencia de vectores como son los perros, principales portadores de la enfermedad, ya que, dichos factores de riesgo se asocian con *Neospora caninum* en el estudio realizado por Yucaza (2015).

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estadística descriptiva de muestras analizadas pertenecientes a 5 provincias del Ecuador.

Distribución de animales muestreados y positivos por provincia, tamaño de UPA y sexo.

En el presente estudio epidemiológico se analizaron un total de 176 muestras del banco de biológicos del proyecto de vinculación BruTryp, las cuales fueron obtenidas de 5 provincias del Ecuador: Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana; éstas fueron recolectadas de 89 fincas, mismas que fueron clasificadas según el tamaño de la Unidad de Producción Agropecuaria (UPA). El porcentaje de muestras analizadas por provincia se distribuyó de la siguiente manera: Manabí representó un 26,7% (47/176), Santo Domingo de los Tsáchilas el 1,7% (3/176), Pichincha un 51,70% (91/176), Napo representó el 9% (16/176) y Orellana el 4,5% (8/176); en cuanto a las muestras obtenidas de la Carrera Agropecuaria- IASA 1 representó el 6,3% (11/176) dentro del estudio. Hay que tener en cuenta que los resultados para cada provincia se encuentran sesgados, debido a que no existió un tamaño homogéneo dentro de la población para cada provincia, esto se debe al efecto de aleatorización que ocurrió al momento de seleccionar las muestras, y, adicionalmente, también existió la limitante de los reactivos del kit, ya que únicamente se contó con un kit ELISA para analizar todas las muestras.

En cuanto a la distribución del tamaño de fincas se pudo apreciar lo siguiente, para la provincia de Manabí el 55,56% (15/27) corresponde a fincas grandes, el 33,33% (9/27) a fincas medianas y el 11,11% (3/27) a fincas pequeñas, para la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, el 66,67% (2/3) representa a fincas medianas y el 33,33% corresponde a fincas grandes, (1/3), en cuanto a la provincia de Pichincha el 39,02% (16/41) representa a fincas grandes, el 46,34% (19/41) corresponde a fincas medianas y el 14,63% (6/41) pertenece a fincas pequeñas; para la provincia de Napo, el 30% (3/10) corresponde a fincas grandes, el

50% (5/10) a fincas medianas y el 2% (2/10) a fincas pequeñas, por último, en lo que concierne a la provincia de Orellana, el 62,5% (5/8) corresponde a fincas medianas y el 37,5% (3/8) a fincas pequeñas dentro del estudio.

Con respecto a la presencia de *Neospora caninum* se obtuvieron los siguientes resultados: en la provincia de Manabí 11 muestras dieron positivo lo que representa el 23,40%, en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, resultó 1 muestra positiva lo que equivale al 33,33%, en la provincia de Pichincha 27 animales resultaron positivos lo que equivale al 29,67%, en la provincia de Napo, 4 animales resultaron positivos equivalente al 25%, por último en la provincia de Orellana, 2 muestras fueron positivas, representando el 25% dentro del estudio.

Con relación a la división de los animales por sexo, para la provincia Manabí el 89,4% (42/47) concierne a hembras mientras que el 10,6% (5/47) corresponde a machos, en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, el 100% (3/3) de las muestras analizadas corresponde a hembras, en cuanto a la provincia de Pichincha el 87,9% (80/91) de los animales analizados fueron hembras y el 12,1% (11/91) fueron machos; en la provincia de Napo el 75% (12/16) pertenece a hembras, mientras que el 25% (4/16) restante es de animales machos; por último en la provincia de Orellana el 87,5% (7/8) pertenece a hembras y el 12,5% (1/8) responde a machos (Tabla 9).

Tabla 9

Distribución de animales muestreados por provincia, sexo y tamaño de UPA

Provincia	Número de fincas	Número de animales muestreados	Animales muestreados	
			Hembras	Machos
Manabí	27	47	42	5
<i>Fincas grandes</i>	15	30	29	1
<i>Fincas medianas</i>	9	14	11	3
<i>Fincas pequeñas</i>	3	3	2	1

Provincia	Número de fincas	Número de animales muestreados	Animales muestreados	
			Hembras	Machos
SDT	3	3	3	-
<i>Fincas grandes</i>	1	1	1	-
<i>Fincas medianas</i>	2	2	2	-
Pichincha	41	91	80	11
<i>Fincas grandes</i>	16	60	51	9
<i>Fincas medianas</i>	19	25	24	1
<i>Fincas pequeñas</i>	6	6	5	1
Napo	10	16	12	4
<i>Fincas grandes</i>	3	6	3	3
<i>Fincas medianas</i>	5	8	7	1
<i>Fincas pequeñas</i>	2	2	2	-
Orellana	8	8	7	1
<i>Fincas medianas</i>	5	5	5	-
<i>Fincas pequeñas</i>	3	3	2	1

Nota. Distribución de animales estudiados, SDT: Santo Domingo de los Tsáchilas. Autoría Propia.

Distribución de los animales muestreados por especie

En las fincas analizadas en el presente estudio, se pudo ver variedad en cuanto a las especies de los animales muestreados, observándose así gran mayoría de animales mestizos, sin embargo, se pudo categorizar a los animales por especies; *Bos Indicus*, *Bos Taurus* y mestizos entre estas dos especies (Tabla 10).

Tabla 10

Distribución de animales muestreados por provincia, especie y UPA

Provincia	Especie	Número de animales
Manabí	Indicus	1
	Taurus	4

Provincia	Especie	Número de animales
	Mestizo	33
SDT	Taurus	2
	Mestizo	1
Pichincha	Indicus	1
	Taurus	35
	Mestizo	55
Napo	Indicus	1
	Taurus	15
Orellana	Indicus	3
	Taurus	4
	Mestizo	1

Nota: SDT: Santo Domingo de los Tsáchilas. Autoría Propia.

Tabla 11

Distribución de animales estudiados por especies

Especie	Número total de animales	(%)
Mestizo	90	54,5
<i>Bos taurus</i>	60	36,4
<i>Bos Indicus</i>	15	9,1
TOTAL	165	

Nota: En la tabla 11 se muestra la cantidad de animales totales en el estudio entre todas las provincias. %: Porcentaje equivalente. Autoría Propia.

El tipo de bovino *Bos Indicus*, es importante dentro de la industria cárnica, especialmente en las regiones de la Amazonía y Costa, debido a que el estrés calórico es frecuente en estas zonas y esta especie presenta una acentuada tolerancia al calor, altas temperaturas y enfermedades; en cuanto a la presencia de *Bos taurus* dentro del estudio, se

aprecia que existe una mayor existencia de esta especie en la región de la Sierra, debido a la mayor actividad lechera en esta zona, por lo tanto, predominan animales que sean fuertes y resistentes a mayores altitudes y se puedan aclimatar al frío de los páramos sin perder su productividad.

Debido a la alta demanda en el mercado, los ganaderos han encontrado en los cruzamientos, alto rendimiento productivo y reproductivo evidenciándose así que el vigor híbrido es potenciado cuando se hacen cruces entre diferentes razas, sin dejar de lado que al realizar estos cruzamientos lo que se busca en el animal es mejorar sus características de rusticidad, fertilidad y tolerancia a las enfermedades que están presentes en la región de la Amazonía, Costa y Sierra, como se puede apreciar en la (Tabla 11), la mayoría de animales estudiados corresponden a esta clasificación (Bellomo, 2011).

Mediante las encuestas aplicadas a los ganaderos en el proyecto BruTryp se pudo determinar que dentro del grupo de *Bos taurus* se identificaron razas como: Holstein Friesian, Jersey, Brown Swiss y Charolais. En tanto que, en el caso de *Bos indicus* fueron: Brahman, Gyr y Nelore. Con respecto a la mayoría de cruces registrados eran entre Holstein-Gyr, Holstein-Jersey y Brahman-Holstein, con los cuales se obtenían animales mestizos entre estos dos tipos.

Distribución de los animales muestreados por edad y sexo

Las 165 muestras que fueron obtenidas dentro del proyecto BruTryp y que se utilizaron dentro del presente estudio se agruparon en 4 categorías (Tabla 12).

En cuanto a la distribución, los animales que se ubicaron en el rango de animales >36 meses con el 67,88 % (112/165) representaron el mayor porcentaje dentro del estudio, mientras que la categoría de animales comprendida entre 19-36 meses con un total de (31/165) animales muestreados representó el 18,79% del muestreo, por otra parte, los animales entre 1-9 meses de edad representaron el 8,49% (14/165), por último, la categoría de 10-18 meses de edad, implicó un 4,84% (8/165) de animales en el estudio (Tabla 13).

Tabla 12*Distribución de las muestras por UPA, edad y sexo*

Provincia	Edad (meses)	Machos	Hembras	Número de muestras	(%)
Manabí	1-9	2	1	3	1,82
	10-18	2	2	4	2,42
	19-36	1	5	6	3,64
	>36	-	34	34	20,61
SDT	>36	-	3	3	1,82
Pichincha	1-9	3	5	8	4,85
	10-18	2	1	3	1,82
	19-36	5	15	20	12,12
	>36	1	59	60	36,36
Napo	1-9	3	-	3	1,82
	10-18	-	1	1	0,61
	19-36	-	3	3	1,82
	>36	-	9	9	5,45
Orellana	19-36	1	1	2	1,21
	>36	-	6	6	3,64
TOTAL		20	145	165	100

Nota. SDT: Santo Domingo de los Tsáchilas, %: porcentaje equivalente.
Autoría Propia.

Existe un sesgo de muestreo en cuanto a la edad y sexo de los animales (Tabla 12), debido a la aleatorización de las muestras pertenecientes al banco de biológicos del proyecto BruTryp, la mayor cantidad de muestras analizadas en el presente estudio pertenecen la categoría de animales >36 meses de edad, esto se debe a que, tanto en las regiones Sierra, Costa y Amazonía la producción, ya sea de carne o de leche, se enfoca en animales adultos,

por lo que, las explotaciones analizadas aprovechan de mejor manera los vacunos pertenecientes a esta categoría (Tabla 13).

Los animales que se encontraron en los rangos de 1-9 y de 10-18, (Tabla 13), representaron los porcentajes más bajos, 8,49% y 4,84% respectivamente, debido a que los animales de esta edad permanecen menor tiempo en las fincas o haciendas, ya que en el caso de la ganadería de leche los únicos animales de interés son las hembras, por lo que los terneros machos son destinados a la venta o faenamamiento; en cuanto a las ganaderías de carne y leche o mixtas, los costos de mantenimiento de los terneros son bastante altos, por lo cual los ganaderos prefieren venderlos lo más rápido posible, además que, la crianza de terneros requiere una atención continua, infraestructura adecuada, y una supervisión constante como lo menciona Lanuza, (2017) en su artículo de crianza de terneras.

Por último, no existe un sesgo de muestreo en cuanto a la distribución de animales por sexo (Tabla 13), la mayoría de animales analizados fueron hembras, con una proporción de 7 hembras por 1 macho dentro del estudio; esto se debe a que, la mayoría de explotaciones, ya sean de leche o carne, prefiere a las hembras sobre los machos, debido a sus aptitudes productivas, leche y carne, además que es ella quien se encarga de producir las crías y ayuda al crecimiento de los hatos, mientras que los machos únicamente son utilizados para reproductores o carne, lo cual en el ámbito reproductivo, pueden ser reemplazados por la inseminación artificial.

Tabla 13

Distribución de animales comprendidos en el estudio por edad y sexo

Edad	Hembras	Machos	Total de animales	(%)
1-9	6	8	14	8,49
10-18	4	4	8	4,84
19-36	24	7	31	18,79
>36	111	1	112	67,88
TOTAL	145	20	165	100

Nota. %: porcentaje equivalente. Autoría Propia.

Distribución de los animales muestreados por cantón

Tabla 14

Distribución de muestras analizadas por provincia y cantón

Provincia	Cantón	Muestras recolectadas		Total	Porcentaje
		Hembra	Macho		
Manabí	Chone	18	3	21	12,7
	El Carmen	1	-	1	0,6
	Flavio Alfaro	2	-	2	1,2
	Jama	10	1	11	6,7
SDT	Santo Domingo	3	1	-	1,8
Pichincha	Quito	30	2	32	19,4
	Mejía	4	-	4	2,4
	PVM	43	8	51	30,9
	PQ	2	-	2	1,2
	SMB	2	-	2	1,2
Napo	Santa Ana	4	1	5	3,0
	Sucre	7	-	7	4,2
	Archidona	8	1	9	5,5
	Arosemena Tola	2	1	3	1,8
	Sucre	1	-	1	0,6
	Tena	1	2	3	1,8
Orellana	FCO	7	1	8	4,8
		145	20	165	100,0

Nota. PVM: Pedro Vicente Maldonado, PQ: Puerto Quito, SMB: San Miguel de los Bancos, FCO: Francisco de Orellana, SDT: Santo Domingo de los Tsáchilas. Autoría Propia.

El estudio se realizó con las muestras de suero sanguíneo bovino del proyecto BruTryp, las cuales fueron recolectadas de las provincias de: Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas, Pichincha, Napo y Orellana; gracias a las encuestas realizadas por el personal del proyecto

BruTryp, y por la información proporcionada por Agrocalidad en cuanto a la base de datos, se pudo clasificar las provincias en los siguientes cantones: Manabí: Chone, El Carmen, Flavio Alfaro, Jama, Santa Ana y Sucre; para la provincia Santo Domingo de los Tsáchilas el único cantón del cual se analizaron las muestras fue Santo Domingo, en cuanto a la provincia de Pichincha: Mejía, Pedro Vicente Maldonado, Puerto Quito y San Miguel de los Bancos, Quito, la clasificación en la provincia de Napo fue en los siguientes cantones: Archidona, Arosemena Tola, Tena y Sucre; por último en la provincia de Orellana, el único cantón analizado dentro del estudio fue: Francisco de Orellana (Tabla 14).

El porcentaje de muestreo permitió conocer la provincia y cantón de donde se encontró la mayor cantidad de las muestras analizadas dentro del estudio, lo que demostró que, dentro de la provincia de Pichincha, las muestras pertenecientes al cantón Pedro Vicente Maldonado representaron el 30,9% (51/165) de las muestras totales analizadas dentro del estudio, (Tabla 14).

Prevalencia de neosporosis bovina

Prevalencia general de neosporosis bovina

Tabla 15

Prevalencia general del estudio de neosporosis bovina

Prueba iELISA	Número de muestras	Prevalencia (%)
<i>Positivos</i>	45	27,3
<i>Negativos</i>	120	72,2
TOTAL	165	100

Nota. Se evidencia los resultados de animales positivos a *N. caninum* de las muestras de las 5 provincias mediante la prueba de ELISA indirecto. Autoría Propia.

En base a las muestras analizadas correspondientes a las 5 provincias en estudio, las mismas que pertenecen al banco de biológicos del proyecto BruTryp, y a los resultados obtenidos mediante la aplicación del Kit ELISA para la detección de *Neospora caninum*; de las

165 muestras procesadas, 45 resultaron positivas con un total de prevalencia de *Neospora caninum* del 27,3%, mientras que, las muestras que resultaron negativas representaron el 72,7% de muestras en el estudio (Tabla 15).

En investigaciones realizadas previamente, en las cuales se han empleado métodos de diagnóstico similares, nos permiten observar que *Neospora caninum* se encuentra diseminada por todo el país, en diversas regiones, tanto en la sierra, costa y oriente, esto se asevera, ya que, la presencia de anticuerpos se ha logrado encontrar según las investigaciones de Cruz (2011), en haciendas ganaderas del cantón Tulcán, provincia del Carchi, donde muestreó 182 animales, obteniendo como resultado una prevalencia de 51,64%; Cajamarca y Reyes (2012), realizaron un estudio en el cantón Mejía, provincia de Pichincha, reportando una prevalencia de 18,6% de un total de 145 muestras sanguíneas, Cuenca (2014), en su estudio realizado en haciendas del cantón Loja, reportó una prevalencia del 22,31% de un total de 650 muestras; Bernardi y Cueva (2015) reportaron en el cantón Cuenca, una prevalencia de 43,5%, de un total de 131 muestras; Iza (2020), realizó un estudio en el cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi, con un total de 50 animales obteniendo una prevalencia del 12%. Según el reporte de las investigaciones, se observan prevalencias bajas, medias y altas, considerando que, el número de muestras es diferente en cada sector, el sistema de manejo es diferente, las condiciones en general son distintas, podemos concluir que, la prevalencia reportada en este estudio guarda relación con unos casos y con otros no, teniendo en cuenta que, se analizaron muestras de 5 provincias diferentes.

Prevalencia de neosporosis bovina en las muestras de la Carrera Agropecuaria IASA1

Tabla 16

Prevalencia de neosporosis bovina en muestras de la Carrera Agropecuaria

Prueba iELISA	Número de muestras	Prevalencia (%)
<i>Positivos</i>	7	63,6
<i>Negativos</i>	4	36,4

Prueba iELISA	Número de muestras	Prevalencia (%)
TOTAL	11	100

Nota. Se evidencia los resultados de muestras positivas a *N. caninum* de la Carrera Agropecuaria mediante la prueba de ELISA indirecto. Autoría Propia.

En cuanto a las 11 muestras pertenecientes a la Carrera Agropecuaria-IASA 1, los resultados arrojaron 7 muestras positivas, lo que representa el 63,6% de prevalencia de *Neospora caninum*, mientras que, 4 muestras resultaron negativas, lo que equivale al 36,4% del total de muestras analizadas de la Carrera Agropecuaria; cabe mencionar que, la edad de los animales muestreados era mayor a 36 meses, además, las muestras analizadas eran sesgadas, ya que, presentaban sintomatología de neosporosis bovina, es decir, las vacas abortaban entre el tercer y quinto mes de gestación, los fetos abortados se encontraban momificados, las vacas presentaban repetición del celos irregulares a los 25 o 45 días posteriores a la inseminación, lo que daba indicios de reabsorción embrionaria; el resultado obtenido de la prevalencia se relaciona directamente con la alta tasa de abortos, ya que, como lo mencionan Obendorf *et al.* (1995), en todos los hatos con una prevalencia mayor a 60% de neosporosis bovina, existe una incidencia alta de abortos; por lo cual la prueba iELISA realizada en este estudio, confirmó que los animales estaban infectados con el patógeno, por tal motivo se observa una alta prevalencia en las muestras analizadas; por otra parte los animales que resultaron negativos, presentaban similar sintomatología a *Neospora caninum*, en relación a los abortos; sin embargo, los resultados obtenidos de la prueba iELISA, arrojaron bajas cantidades de anticuerpos ante *Neospora caninum* en estas muestras, con lo cual, se concluye que no existió infección en la vida del animal; en base a esto, es recomendable realizar una prueba de perfil reproductivo a estos animales, en la cual se analizan otros patógenos como son, *Leptospira*, diarrea viral bovina (DVB), rinotraqueitis infecciosa bovina

(IBR) como lo menciona Ordóñez (2018), a fin de poder identificar el agente causal de los abortos y dar el mejor tratamiento posible, siempre y cuando sea factible (Tabla 16).

Prevalencia de neosporosis bovina por provincia

Tabla 17

Prevalencia general de neosporosis bovina por provincias

Provincia	Muestras analizadas	Muestras positivas	Prevalencia (%)
Manabí	47	11	23,4
SDT	3	1	33,33
Pichincha	91	27	29,67
Napo	16	4	25
Orellana	8	2	25

Nota. SDT: Santo Domingo de los Tsáchilas. Autoría Propia.

El presente trabajo de investigación se realizó en base a las muestras sanguíneas recolectadas dentro del proyecto BruTryp, de 5 provincias que representan a las 3 regiones del país sierra, costa y oriente; para confirmar la presencia de *N. caninum* en un animal, se realizó la prueba de ensayo inmunoenzimático indirecto (iELISA), para la detección de anticuerpos en muestras de suero sanguíneo bovino. Dentro de los resultados obtenidos tenemos que: en la provincia de Manabí de 47 muestras analizadas 11 resultaron positivas, arrojando una prevalencia del 23,4%; en cuanto a la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, se analizaron 3 muestras de las cuales 1 muestra resultó positiva, obteniendo una prevalencia del 33,33%; en la provincia de Pichincha, 27 muestras de 91 analizadas resultaron positivas, obteniendo una prevalencia del 29,67%; por otra parte, en la provincia de Napo, 4 muestras resultaron positivas de 16 analizadas, representando una prevalencia del 25%; por último en la provincia de Orellana 2 muestras resultaron positivas de 8, lo que equivale al 25% de prevalencia (Tabla 17) .

La prevalencia obtenida en la provincia de Pichincha, se puede comparar con el estudio realizado por Escobar y Vargas (2011), en el cual, obtuvieron una prevalencia del 27,8% para esta provincia, resultado que no difiere de manera significativa con el obtenido en la presente

investigación; de igual forma en el mismo estudio de Escobar y Vargas (2011), mencionan que la prevalencia en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas fue de 33,57%; valor estrechamente similar con el resultado obtenido en esta investigación.

Samaniego (2019), en su estudio realizado en la provincia de Cotopaxi, mediante la prueba de ensayo inmunoenzimático ELISA, determinó de una muestra de 100 animales, 25 animales positivos y 75 negativos, lo que representa el 25% y 75% respectivamente de la población de estudio, de los 25 positivos todos son hembras, mientras que de los 100 animales realizados el examen de *Neospora caninum*, 7 son machos, resultandos negativos todos, lo cual representa el 7% de la población del estudio.

En el estudio realizado por Asanza y Cunalata (2021), en el oriente ecuatoriano, reportaron una prevalencia del 90% en los predios muestreados, donde el 29% de las hembras bovinas resultaron seropositivas para neosporosis bovina, de un total de 90 animales. Además, identificaron que la mayor parte de la infestación de hembras bovinas, se encontraba en edades de 3 a 6 años con un 25,8% de prevalencia y en hembras mayores de 6 años con una prevalencia del 3,3.%.

Pincay (2022), en su estudio realizado en la provincia del Guayas, región costa, mediante la prueba cELISA determinó, una prevalencia del 32,7% de *Neospora caninum*, de una muestra total de 58 bovinos.

La aplicación de la prueba ELISA, demuestra tener gran efectividad para la detección de anticuerpos ante *Neospora caninum*, así lo demuestran Serrano *et al.* (2018), en su estudio realizado en 101 establos, ubicados en el valle de Lima, Perú, con un total de 3047 animales muestreados, mediante la aplicación del Kit comercial *Neospora Ab Test* del laboratorio IDEXX, EE.UU; sus resultados fueron del 31% de prevalencia de *Neospora caninum*; mencionan además que, la especificidad de la prueba ELISA es del 99,2% con una sensibilidad del 100%.

Prevalencia de neosporosis bovina por provincia y número de fincas

Tabla 18

Prevalencia de neosporosis bovina por provincias y número de fincas analizadas

Provincia	Fincas muestreadas	Fincas positivas	Prevalencia (%)
Manabí	27	9	33,33
SDT	3	1	33,33
Pichincha	41	17	41,46
Napo	10	3	30
Orellana	8	2	25
TOTAL	89	32	

Nota. SDT: Santo Domingo de los Tsáchilas. Autoría propia.

En cuanto a la prevalencia por finca de las 5 provincias que representan a las 3 regiones del país, se tomó en cuenta que, para que una finca sea considerada como positiva, al menos una muestra debió resultar positiva dentro de la prueba iELISA. En la provincia de en la provincia de Manabí de 27 fincas analizadas, 9 resultaron positivas, arrojando una prevalencia del 33,33%; en cuanto a la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas se analizaron muestras de 3 fincas de las cuales 1 finca resultó positiva, obteniendo una prevalencia del 33,33%, mientras tanto que, en la provincia de Pichincha, 17 fincas de 41 analizadas resultaron positivas, obteniendo una prevalencia del 41,46%; en lo que corresponde a la provincia de Napo, 3 fincas resultaron positivas de 10 analizadas, representando una prevalencia del 30%; por último, en la provincia de Orellana 2 fincas resultaron positivas de 8, lo que equivale al 25% de prevalencia (Tabla 18) .

Lozada (2004), en su trabajo “Determinación de la presencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en hatos lecheros de la sierra Centro Norte del Ecuador, por Prueba Inmunoenzimática”, encontró una prevalencia de neosporosis del 42%, de una muestra de 395 vacas adultas, valor que se relaciona con el obtenido en el presente estudio del 41,46% en la provincia de Pichincha; sus resultados, además, arrojaron un 2,8% de animales sospechosos y el 55,2% de animales negativos.

Por otra parte, en el trabajo “Presencia de *Neospora caninum* y su influencia en la subfertilidad en vacas lecheras” realizado por Pincay (2022), en la provincia del Guayas, obtuvo como resultado 19 muestras positivas de un total de 58 muestras representando una prevalencia de *Neospora caninum*, del 32,7%, valor que se puede comparar con el obtenido para la región costa, en la provincia de Manabí, del 33,33% denotando que no existe diferencia significativa entre los valores.

La mayoría de trabajos realizados para determinar la prevalencia o existencia de neosporosis bovina se han realizado en la región de la sierra, debido a que, la principal actividad ganadera en la región es de carácter lechero, por lo que, la enfermedad al afectar la gestación de los bovinos, no se puede llegar a la fase de lactancia, en consecuencia el animal no es productivo para este tipo de ganaderías, por ende, en esta región se han registrado la mayor parte de los estudios y artículos de investigación acerca de la enfermedad.

Como se puede apreciar en los resultados, la presencia de la enfermedad no está condicionada al tipo de producción, ya sean hatos de leche o carne, de fincas pequeñas, medianas o grandes, ni la región de donde proviene el animal, es una enfermedad que está presente y se ha diseminado en diferentes partes del país, y del mundo, cabe destacar que no existen programas de control por parte de entidades gubernamentales, ya que, la enfermedad no es de carácter zoonótico, sin embargo causa un fuerte impacto negativo en las ganaderías del país.

Prevalencia de neosporosis bovina por tamaño UPA

Tabla 19

Prevalencia de neosporosis bovina por tamaño de UPA

Tamaño UPA	Número de fincas	Fincas positivas	Prevalencia por fincas (%)	Número de muestras	Muestras positivas	Prevalencia por muestras (%)	RR%	I.C. 95%
Mediana	40	18	45,00	54	21	38,89	1,58	0,89-2,73
Grande	35	12	34,29	97	22	22,68	0,93	0,53-1,66

Tamaño UPA	Número de fincas	Fincas positivas	Prevalencia por fincas (%)	Número de muestras	Muestras positivas	Prevalencia por muestras (%)	RR%	I.C. 95%
Pequeña	14	2	14,29	14	2	14,29	0,36	0,11-1,56
Total	89	32		165	45			

Nota. UPA: Unidad de producción agropecuaria; %: Porcentaje equivalente, RR: Riesgo relativo, I.C: Intervalo de confianza. Autoría propia.

En base a los resultados obtenidos en la Tabla 19, de acuerdo al tamaño de finca, se observa que, la prevalencia en las fincas medianas es de 38,89% y el valor de Riesgo Relativo (RR) es mayor a 1, sin embargo, su intervalo de confianza está comprendido entre (0,89 – 2,73), lo que nos indica que no existe asociación entre las variables, tamaño de finca y la presencia de la enfermedad; como mencionan Cevallos y Morales (2021), la enfermedad no está ligada al tamaño de finca, si no al tipo de producción, debido a la permanencia de animales seropositivos en el hato ganadero. Además, es importante mencionar que, este resultado es posible que se haya generado debido a la selección involuntaria de fincas comprendidas en esa categoría y también a efectos de la aleatorización de las muestras.

Prevalencia de neosporosis bovina por sexo, tamaño de finca y provincia.

Prevalencia por sexo

Tabla 20

Prevalencia de neosporosis bovina por sexo

Sexo	Número muestras	Muestras Positivas	Prevalencia (%)	RR %	I.C. 95%
<i>Hembras</i>	145	45	27,27	6,21	0,62-29,32
<i>Machos</i>	20	1	0,61	0,16	0,03-1,61

Nota. %: porcentaje equivalente, RR: Riesgo Relativo, I.C: intervalo de confianza. Autoría propia.

Dentro del estudio, las hembras presentan mayor porcentaje de prevalencia para neosporosis bovina, en comparación a los machos, con un 27,27% y 0,61% respectivamente (Tabla 20), como lo señala Dubey *et al.* (2007), el ganado hembra es más susceptible a contraer la enfermedad ya que, son los animales que presentan mayor estrés fisiológico debido a la producción de leche y gestación; además que, el agente causal es más notorio en hembras

que en machos, debido a la transmisión congénita de la enfermedad y su perpetuidad en el hato.

En cuanto al valor de riesgo relativo de 6,21, pese a ser un valor mayor a 1, no se considera factor de riesgo asociado a la enfermedad, debido a que su intervalo de confianza está comprendido entre (0,62 – 29, 32), descartando así la posible asociación de la variable con la enfermedad, coincidiendo con lo manifestado por Cevallos y Morales (2021), en su estudio.

Prevalencia por tamaño de UPA y sexo

Tabla 21

Prevalencia de neosporosis bovina por tamaño de UPA y sexo

Tamaño UPA	Muestras		Muestras positivas		P sexo (%)	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
<i>Medianas</i>	49	5	21	1	42,86	20
<i>Grandes</i>	85	12	23	-	27,06	-
<i>Pequeñas</i>	11	3	1	-	9,1	-
Total	145	20	45	1		

Nota. P: Prevalencia, %: porcentaje equivalente. Autoría propia.

La aplicación de la prueba iELISA en el presente trabajo de investigación, demostró la presencia de animales positivos a neosporosis bovina en relación a la provincia, tamaño de la UPA y sexo, dando resultados de prevalencia en la provincia de Manabí una prevalencia únicamente para hembras del 26,2%. En cuanto a la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, la prevalencia únicamente en hembras fue del 33,33%. Por otra parte, en la provincia de Pichincha la prevalencia de hembras fue del 32,1% y para machos el 10%. En lo que corresponde a la provincia de Napo la prevalencia fue del 33,33% únicamente en hembras. Por último, la prevalencia en la provincia de Orellana, fue del 28,57% para hembras únicamente (Tabla 22).

Tabla 22

Prevalencia de neosporosis bovina por tamaño de UPA, sexo y provincia

Tamaño de Finca	Muestras analizadas		Hembras			Machos		
	n	(%)	n	+	(%)	n	+	(%)
Manabí	47	28,48	42	12	26,2	5	-	-
Grandes	30	18,18	29	8	27,59	1	-	-
Medianas	14	8,48	11	4	36,36	3	-	-
Pequeñas	3	1,82	2	-	-	1	-	-
SDT	3	1,82	3	1	33,33	-	-	-
Grandes	1	0,61	1	-	-	-	-	-
Medianas	2	1,21	2	1	50	-	-	-
Pichincha	91	55,15	81	26	32,1	10	1	10
Grandes	60	36,36	52	15	28,85	8	-	-
Medianas	25	15,16	24	10	41,67	1	-	-
Pequeñas	6	3,63	5	1	20	1	1	100
Napo	16	9,7	12	4	33,33	4	-	-
Grandes	6	3,64	3	-	-	3	-	-
Medianas	8	4,85	7	4	57,14	1	-	-
Pequeñas	2	1,21	2	-	-	-	-	-
Orellana	8	4,85	7	2	28,57	1	-	-
Medianas	5	3,03	5	2	40	-	-	-
Pequeñas	3	1,82	2	-	-	1	-	-
Total	165	100	145	45		20	1	

Nota: %: porcentaje equivalente. Autoría propia.

Prevalencia por especie

Tabla 23

Prevalencia general de neosporosis bovina por especie

Especie	Número de muestras	Muestras positivas	Prevalencia (%)	RR %	I.C. 95%
Taurus	60	22	36,67*	1,67	1,02 - 2,73*
Mestizo	90	20	22,22	0,67	0,4 - 1,1
Indicus	15	3	20	0,71	0,25 - 2,03
Total	165	45			

Nota. %: Porcentaje equivalente, RR: Riesgo Relativo, I.C: intervalo de confianza. Autoría propia.

La prevalencia en función a los tipos de bovinos presentes en las distintas fincas analizadas, se clasificó de manera general en *Bos taurus*, *Bos indicus* y mestizos (*Bos taurus* x *Bos indicus*) la clasificación se la realizó gracias a la información recopilada por el personal del proyecto BruTryp mediante las encuestas que se aplicaron a los ganaderos de las diferentes provincias. En base a esto se determinó una prevalencia media en *Bos taurus* del 36,67%, en *Bos indicus* fue del 20% y en mestizos fue del 22,22% (Tabla 23).

La presencia de neosporosis bovina se observa tanto en ganado *Bos indicus* como *Bos taurus* y a su vez, en el cruce entre estas dos especies, es por esto, que todas las razas de bovinos son susceptibles a presentar la enfermedad como lo señala Munhoz *et al.* (2009), en su estudio “*Neospora caninum* seropositivity in cattle breeds in the South Fluminense Paraíba Valley, state of Rio de Janeiro”; se debería asumir que mediante el cruzamiento de razas, los animales resultarían más resistentes a las enfermedades, debido al vigor híbrido que se obtiene mediante la cruce, pero al no ser así, estos hechos contrastan con el presente estudio; en todos los animales, indistintamente de la especie, se evidencia la presencia de *Neospora caninum*, como lo mencionan Cevallos y Morales (2021); sin embargo el resultado obtenido de Riesgo Relativo (RR) igual a 1,67 en animales de especie *Bos taurus*, con un intervalo de confianza de (1,02 - 2,73), demuestra que la seropositividad en animales se ve influenciada por la especie del animal dentro de este estudio, en este caso *Bos taurus*, es más susceptible de contagiarse de la enfermedad, debido al manejo que se da en las fincas, estos animales suelen estar más juntos en los potreros e instalaciones de ordeño, en comparación a *Bos indicus*, que generalmente su crianza se da en sistemas extensivos a campo abierto, además que, los animales de especie *Bos taurus*, en su mayoría, son animales destinados a la producción de leche, por lo que, están sometidos a mayor estrés, y las hembras que nacen se mantienen en la finca debido a su objetivo como futuras productoras, lo cual provoca que la enfermedad se mantenga latente en la finca, coincidiendo con lo mencionado por Dubey *et al.* (2007) y Moore *et al.* (2005).

Prevalencia por edad

Tabla 24

Prevalencia de neosporosis bovina por edad

Edad (meses)	Número de muestras analizadas	Número de muestras positivas a prueba iELISA	Prevalencia (%)	RR %	I.C. 95%
1-9	14	1	7,14	0,25	0,05-2,37
10-18	8	2	25	0,91	0,31-3,63
19-36	31	7	22,58	0,80	0,41-1,68
>36	112	35	31,25	1,66	0,86-3
Total	165	45			

Nota. %: Porcentaje equivalente, RR: Riesgo Relativo, I.C: intervalo de confianza. Autoría propia.

Las muestras de suero sanguíneo que se obtuvieron dentro del proyecto BruTryp fueron de animales clasificados por edades en 4 categorías distintas, con rangos comprendidos entre 1-9, 10-18, 19-36 y >36 meses de edad. De esta manera se obtuvieron los datos de muestras positivas a neosporosis bovina (Tabla 24), y a su vez, la prevalencia de las mismas por provincia y según la categoría de edad resultó en: 1-9 meses la prevalencia fue del 7,14%, los animales que se encontraron entre los 10-18 meses presentaron una prevalencia del 25% por otro lado, aquellos que se encontraban en el rango de 19 a 36 meses de edad tuvieron una prevalencia del 22,58%, los bovinos mayores a 36 meses mostraron una prevalencia del 31,25% (Tabla 24).

Los resultados obtenidos de prevalencia, demuestran que la enfermedad puede presentarse dentro de cualquier rango de edad, teniendo en cuenta que, si existió transmisión vertical de la madre hacia la cría, los síntomas de la enfermedad son más notorios en animales recién nacidos como lo mencionan Campero *et al.* (2023); por otra parte los animales mayores a 4 años presentan una prevalencia más alta, lo que demuestra que, a edades productivas se exhibe una alta incidencia de la enfermedad, tanto en animales en periodo de lactancia,

gestación o vacías, consecuentemente se ve afectada la producción y tasa de preñez del hato. (Semango *et al.*, 2019) y (Olmo *et al.*, 2019).

En base a la medida epidemiológica de RR (Riesgo Relativo) mayor a 1 obtenida en animales >36 meses de edad, pero con un intervalo de confianza de (0,86 – 3) se concluye que esta categoría no se considera como un factor de riesgo asociado a la enfermedad, ni tampoco ninguna de las categorías anteriores a esta, debido a los valores de RR obtenidos en las mismas; por lo tanto, la variable edad no es considerada como factor de riesgo asociado a la enfermedad.

Tabla 25

Muestras positivas a neosporosis bovina por provincia y por edad

Parámetro	Edad (meses)	Número de muestras	Número de muestras positivas
Manabí	1-9	3	-
	10-18	4	1
	19-36	5	2
	>36	35	8
SDT	>36	3	1
Pichincha	1-9	8	1
	10-18	3	1
	19-36	21	4
	>36	59	21
Napo	1-9	3	-
	10-18	1	-
	19-36	3	1
	>36	9	3
Orellana	19-36	2	-
	>36	6	2

Nota. SDT: Santo Domingo de los Tsáchilas. Autoría propia.

Factores de riesgo asociados a la enfermedad

Tabla 26

Factores de riesgo asociados a la positividad de neosporosis bovina en fincas

Factor de riesgo	Categoría	Fincas muestreadas		Riesgo relativo		Riesgo Atribuible (RA%)
		n	+	Valor	IC 95%	
<i>Presencia de perros en la finca</i>	Sí	47	25	3,19	1,47-6,30	37
	No	42	7			

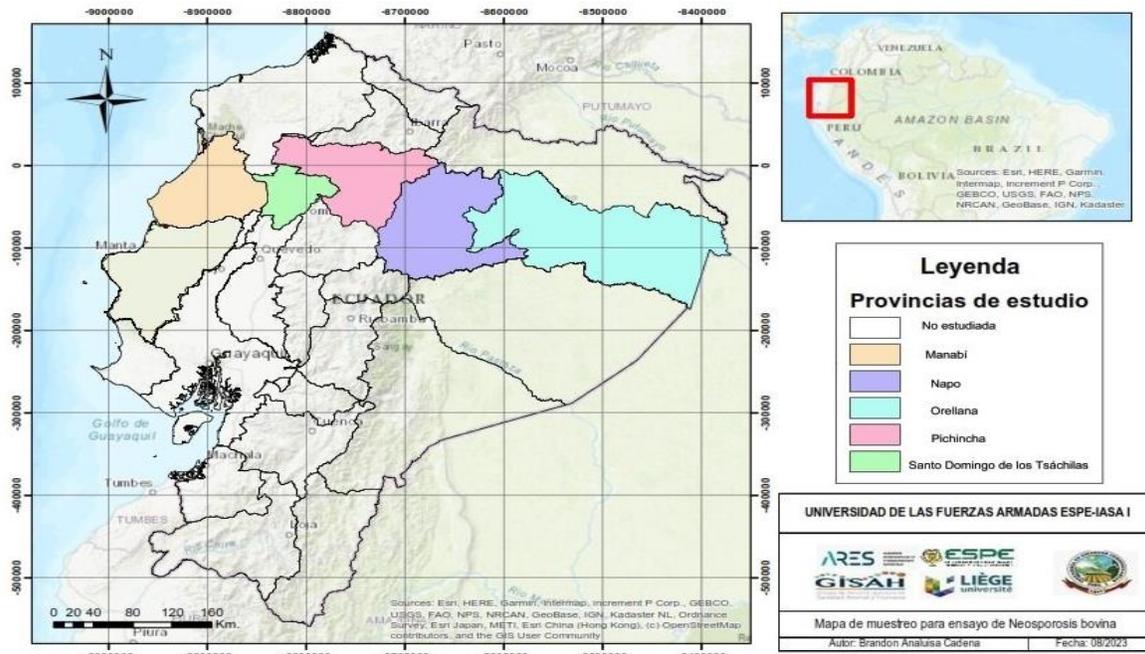
Nota: n: número de fincas muestreadas; +: Número de fincas positivas neosporosis bovina; I.C 95%: intervalo de confianza al 95%, RR: Riesgo Relativo; Valor: RR>1 es significativo. Autoría propia

Dentro de las encuestas realizadas en el proyecto de vinculación BryTryp, se pudo obtener información relevante para esta investigación, tomando en cuenta que, la encuesta estaba orientada únicamente a las enfermedades de brucelosis y tripanosomosis, las cuales son principal objetivo de investigación del proyecto BruTryp, las preguntas formuladas en la encuesta estaban dirigidas específicamente a factores de riesgo asociados a estas enfermedades; sin embargo, existió una pregunta fundamental relacionada directamente con *Neospora caninum*, y esta fue la presencia o ausencia de caninos en las fincas muestreadas, obteniendo así un valor de Riesgo Relativo (RR) mayor a 1 y un intervalo de confianza de (1,47 – 6,30), con lo cual se concluye que sí existe asociación entre la variable presencia de perros en fincas y la enfermedad; esto se puede interpretar de la siguiente manera, el solo hecho de que existan perros en las fincas aumenta la probabilidad de contraer la enfermedad 3,19 veces más, por lo que, la prevalencia de neosporosis bovina puede disminuir en un 37% (RA), si no existieran caninos en las fincas que diseminan la enfermedad en los alimentos de los bovinos mediante sus heces.

Georreferenciación de fincas ganaderas de las 5 provincias en estudio

Figura 6

Mapa de distribución de las 5 provincias en estudio



Nota. Mapa de georreferenciación de las 5 provincias en el estudio de prevalencia de neosporosis bovina obtenido mediante el programa ArcMap 10.2. Autoría propia.

Con los datos obtenidos mediante la aplicación Epicollect 5, que fue utilizada dentro del proyecto de vinculación BruTryp, para la recolección de las coordenadas geográficas de cada finca que fue muestreada y mediante la herramienta ArcMap 10.2, se pudo generar mapas de fincas muestreadas por provincias (Apéndices 3 al 6) y de fincas positivas por provincia (Apéndices 7 al 11), en donde se encuentran marcadas con un punto rojo aquellos predios que resultaron positivos a la prueba de iELISA para *Neospora caninum*.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- La prevalencia general de neosporosis bovina en el estudio fue de 27,3% lo cual se determinó a partir del análisis de 165 muestras del proyecto de vinculación BruTryp y obtenida mediante la prueba de ensayo inmunoenzimático ELISA; además, se determinó que la prevalencia de la enfermedad a nivel de provincias fue: Manabí 23,4%, Napo 25%, Orellana 25%, Pichincha 29,67% y Santo Domingo de los Tsáchilas: 33,33%.
- Con respecto a la prevalencia de neosporosis bovina obtenida por sexo fue del 27,27% para hembras, mientras que, para machos fue del 0,61%; es importante tener en cuenta que en esta investigación la proporción de hembras fue de aproximadamente 7 veces más, como en la mayoría de explotaciones ganaderas el ganado hembra es más representativo existiendo una relación de 7 a 1 para hembras sobre machos.
- La prevalencia de neosporosis bovina obtenida fue mayor en la especie *Bos taurus* 36,67%, demostrando que, dentro del estudio, esta especie si es un factor de riesgo asociado a la enfermedad, considerando además que para la especie *Bos indicus* y mestizos se obtuvo una prevalencia de 20% y 22,22% respectivamente, resaltando que la enfermedad se presenta en cualquier raza de bovinos.
- En cuanto a la prevalencia por edad, se obtuvo una mayor incidencia de la enfermedad en animales mayores a 36 meses con una prevalencia del 31,25%, demostrando que la enfermedad se exhibe en animales en producción que han alcanzado su etapa reproductiva.
- La presencia de caninos en las fincas demostró ser el principal factor de riesgo asociado a la enfermedad, (RR= 3,19: IC al 95% 1,47-6,30), lo cual se puede controlar

mediante la socialización a los ganaderos sobre la importancia de estos vectores transmisores de enfermedades.

- La técnica iELISA demostró gran efectividad al momento de la detección de anticuerpos, con lo cual se pudo observar de manera clara las muestras positivas y negativas.
- La distribución espacial de las fincas que resultaron positivas en el presente estudio no demuestra una agrupación de resultados, es decir que la enfermedad se distribuye de manera aleatoria, demostrando que la neosporosis bovina es endémica en las zonas estudiadas, debido al porcentaje de la población afectada a nivel de finca y provincia.

Recomendaciones

- Se recomienda la continua investigación de la prevalencia de la enfermedad en otras zonas ganaderas de las diferentes regiones del país, ya que, mediante la actualización constante de datos reales obtenidos de las investigaciones, se podrían crear normas para la regularización de la fauna urbana y garantizar la salud animal.
- Para futuros estudios es recomendable manejar una población con una muestra homogénea para el sexo, tanto hembras y machos deben estar lo más uniformes posibles para evitar obtener resultados sesgados y condicionados por el sexo que pueden alterar el objetivo de la investigación.
- Es recomendable realizar constates revisiones y pruebas de laboratorio a los animales en producción y a los que están por introducirse a la finca, además de llevar un registro con toda la información necesaria para poder realizar un correcto diagnóstico si se presentan abortos.
- En caso de existir muestras que son sospechosas mediante la prueba ELISA, es decir que se encuentran en el punto de corte, se podría hacer una prueba PCR con tejido del feto abortado o placenta para determinar específicamente la patología que aqueja al bovino.

Bibliografía

- Almería, S., Linarez, N., Mata, E., Johana López-Moreno, A., David Rodríguez, W., y Francisco Becerra, L. (2011). Diagnóstico de *Neospora caninum* en ganado vacuno de Venezuela. *Revista Biomédica*, 31, 23–205.
<https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/download/479/613/2780>
- Alvarez, B. (2022). *Respuesta inmune innata a cepas de Neospora caninum aisladas de bovinos en Argentina* [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de la Plata].
<http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/145779>
- Alvarez, G., Fernandez, A., Aguado, A., y Mora, L. (2006). *Neosporosis bovina. Nuevos avances en el conocimiento de la transmisión, el diagnóstico y el control*. [Archivo PDF].
https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_Ganad%2FGanad_2006_40_28_35.pdf
- Alvarez, M. (2023). *Optimización del ensayo iELISA con lipopolisacárido liso (LPS-S) de Brucella abortus biotipo 4, como antígeno para el diagnóstico serológico de brucelosis en bovinos* [Tesis de Pregrado no publicada]. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Anderson, M. (2005). Diagnóstico de causas infecciosas de aborto bovino: Enfermedades de la reproducción. *Revista Taurus, Bs. As*, 7(26), 8–18.
https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/48-diagnostico_causas_infecciosas.pdf
- Asanza, F. A., y Cunalata, M. B. (2021). *Determinación de la Incidencia de Neospora caninum en Bovinos en el Trópico Húmedo (Provincia Sucumbíos -Shushufindi)* [Trabajo de Integración Curricular, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].
<https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/25977/1/T-ESPESD-003142.pdf>

- Asipuela, W. (2015). *Determinación de Neospora caninum en el cantón Cayambe: Relación Canino - Bovino* [Tesis de Pregrado, Universidad Central del Ecuador].
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6784>
- Bañales, P., Delucchi, L., Easton, C., y Piaggio, J. (2016). *Enfermedades que afectan la reproducción en bovinos*. [Archivo PDF]
https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/129-neosporosis-11.pdf
- Baquero, F., Díaz, B., y Vinueza, P. (2022). Estudio de la neosporosis en bovinos de la provincia de Chimborazo, Ecuador. *Revista Alfa*, 6(17), 224–238.
<https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v6i17.163>
- Bellomo, J. M. (2011). *Cruzamientos alternados de bovinos en Corrientes: su posibilidad de adaptación a la región del NEA* [Tesis de Pregrado, Pontificia Universidad Católica Argentina]. <https://repositorio.uca.edu.ar/bitstream/123456789/465/1/doc.pdf>
- Bernardi, C., y Cueva, M. (2015). Prevalencia de anticuerpos a Neospora caninum en hatos de bovinos lecheros en tres parroquias del cantón Cuenca, Ecuador. *Revista Maskana*, 6, 219–220.
<https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/issue/view/79>
- Briano, C., Romero, A., Cerillo J., Peraza, P., Easton, C., Mederos, A., Pieruccioni, F., y Dutra F. (2021). Diagnóstico molecular de Neospora caninum en fetos abortados espontáneamente en bovinos de Uruguay. *Revista Veterinaria (Montevideo)*, 57(216).
<https://doi.org/10.29155/vet.57.216.3>
- Cajamarca, M., y Reyes, C. (2012). *Determinación de la incidencia de Sarcocistosis bovina en animales positivos a Neosporosis, en trece haciendas ganaderas en Machachi, cantón Mejía* [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica de Cotopaxi].
<https://docplayer.es/53260968-Universidad-tecnica-de-cotopaxi.html>

- Campero, L., Basso, W., Moré, G., Fiorani, F., Hecker, Y., Echaide, I., Cantón, G., Cirone, K., Campero, C., Venturini, M., y Moore, D. (2023). Neosporosis in Argentina: Past, present and future perspectives. *Journal for Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 41, 100882. <https://doi.org/10.1016/J.VPRSR.2023.100882>
- Cevallos, A. F., y Morales-Cauti, S. (2021). Seroprevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en bovinos de crianza extensiva en tres distritos de Parinacochas, Ayacucho. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 32(4), 1–9. <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V32I4.20933>
- Chacha, X. (2022). *Determinación de la prevalencia de Neosporosis (neospora caninum) en vacas del cantón Morona* [Trabajo de Integración Curricular, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/18420>
- Corporación Financiera Nacional. (2021). *Ficha sectorial cría y reproducción de ganado* [Archivo PDF]. <https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2022/fichas-sectoriales-3-trimestre/Ficha-Sectorial-Ganaderia.pdf>
- Cruz, M. X. (2011). *Identificación del Parasito “Neospora caninum” en bovinos por medio del método de ELISA, en las haciendas ganaderas del cantón Tulcán en la Provincia del Carchi*. [Tesis de Pregrado, Universidad de las Américas]. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/2807>
- Cuenca, J. G. (2014). *Determinación de la prevalencia de neosporosis bovina e identificación de la presencia de caninos como factor de riesgo en las ganaderías del cantón Loja* [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Loja]. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/11902>
- Davidson, M., Huaman, J., Pacioni, C., Stephens, D., Hitchen, Y., y Carvalho, T. (2022). Active shedding of *Neospora caninum* detected in Australian wild canids in a

- nonexperimental context. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(4), 1862–1871.
<https://doi.org/10.1111/tbed.14170>
- Dubey, J. P., Schares, G., y Ortega-Mora, L. M. (2007). Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. En *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 20, Número 2, pp. 323–367). <https://doi.org/10.1128/CMR.00031-06>
- Echaide, I. E. (2000). La Neosporosis bovina. *Revista de enfermedades emergentes del bovino*, 1–6. https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/14-la_neosporosis_bovina.pdf
- Escobar, M., y Vargas, K. (2011). *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* [Tesis de Pregrado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador].
<http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/10396>
- Flores, R. (2005). Epistozooloía de la Salmonelosis. *Revista Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias S.A.R.H.*, 148–155.
<https://fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol3/CVv3c05.pdf>
- Guamán, M. A. (2022). *Prevalencia de Neospora caninum en bovinos en el cantón Guamate* [Tesis de Maestría, Universidad Técnica de Cotopaxi].
<http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/9822>
- Guzmán, E. (2004). Las pruebas de ELISA. *Revista Gaceta Médica de México*, 140(3), 48–49. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=11401>
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2009). *Brucelosis bovina: Brucella abortus* [Archivo PDF].
https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucella_abortus-es.pdf

- Iza, P. (2020). *Prevalencia de Neosporosis en bovino en el cantón Latacunga parroquia Ignacio Flores* [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica de Cotopaxi].
<http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6765>
- Lanuza, A. F. (2017). Crianza de terneros y reemplazo en lechería. *Revista Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Remehue*, 1–20.
<https://hdl.handle.net/20.500.14001/7087>
- López, G., Restrepo, J. B. N., Restrepo, M. I., Amparo Lotero, M. C., Murillo, E. V. E., Chica, A., Cano, J., y Martín Giraldo, J. (2007). Estudio para evidenciar la presencia de *Neospora caninum* en bovinos de la hacienda San Pedro en el Municipio de Fredonia. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 7–20.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=321428097001>
- Lozada, E. (2004). *Determinación de la presencia de anticuerpos a Neospora caninum en hatos lecheros de la sierra Centro Norte del Ecuador, por Prueba Inmunoenzimática*. [Tesis de Pregrado no publicada]. Universidad Central del Ecuador.
- Mainato, S. (2011). *Neosporosis bovina* [Monografía, Universidad de Cuenca].
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/3316>
- Martínez, J., Schwerter, F., y Urruria, N. (2018). Neosporosis bovina: ciclo de vida y transmisión. *Revista Instituto De Investigaciones Agropecuarias INIA Remehue*, 1–2.
<http://www.actualidadganadera>.
- Moore, D. P., Odeón, A. C., Venturini, M. C., y Campero, C. M. (2005). Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. *Revista Argentina de Microbiología*. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=213016800011>
- Moore, D., Soler, J., Cano, D., Leunda, M., Odeón, A., Paolicchi, F., y Campero, C. (2002). Evaluación de anticuerpos Anti-*Neospora caninum* en ciervos colorados (*Cervus elaphus*). *Revista Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*, 1–2.

https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ciervos/16-evaluacion_de_anticuerpos_anti.pdf

Morales, E. (2016). Neosporosis bovina: Control y prevención. *Revista BM Editores*, 1–5.

https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/191-Neosporosis_bovina.pdf

Moreno, S. (2019). *Aislamiento, caracterización morfológica y molecular preliminar de Neospora caninum de fetos bovinos abortados de Cundinamarca y Cesar*. [Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia].

<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/76589>

Munhoz, A. D., Preira S., M. J., Flausino, W., y Lopes G., W. C. (2009). Neospora caninum seropositivity in cattle breeds in the South Fluminense Paraíba Valley, state of Rio de Janeiro1. *Revista Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29(1), 29–32.

<https://doi.org/10.1590/s0100-736x2009000100004>

Obendorf, D. L., Murray, N., Veldhuis, G., Munday, B. L., y Dubey, J. P. (1995). Abortion caused by neosporosis in cattle. *Australian Veterinary Journal*, 73(3), 117–118.

<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1995.tb15025.x>

Olmo, L., Reichel, M. P., Nampanya, S., Khounsy, S., Wahl, L. C., Clark, B. A., Thomson, P. C., Windsor, P. A., y Bush, R. D. (2019). Risk factors for neospora caninum, bovine viral diarrhoea virus, and leptospira interrogans serovar hardjo infection in smallholder cattle and buffalo in Lao PDR. *PLoS ONE Journal*, 14(8).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220335>

Ordóñez, G. (2018). Determination of the methods of diagnostic of the reproductive profile in cattle: review. *Revista de Investigación Talentos*, 218–233.

<https://talentos.ueb.edu.ec/index.php/talentos/article/view/111>

- Pacheco, y Lliguicota, T. (2020). *Evaluación del uso de dos proteínas recombinantes de Neospora caninum para la detección de anticuerpos en perros (Canis lupus familiaris)* [Tesis de Pregrado, Universidad de Cuenca].
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/34158>
- Parasitxpert. (2021). *El parásito del mes: Neospora caninum y la neosporosis* [Archivo PDF].
<https://parasitxpert.es/wp-content/uploads/2023/04/Neospora.pdf>
- Parrado, S. (2015). Prevención de la Neosporosis Bovina en Colombia. *Revista Zoociencia*, 3(2), 49–55. <https://revistas.udca.edu.co/index.php/zoociencia/article/view/517>
- Paucar, V., Ron, J., Benítez-Ortiz, W., Celi, M., Berkvens, D., Saegerman, C., y Ron-Garrido, L. (2021). Bayesian estimation of the prevalence and test characteristics (Sensitivity and specificity) of two serological tests (rb and sat-edta) for the diagnosis of bovine brucellosis in small and medium cattle holders in ecuador. *Journal for Microorganisms*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091815>
- Pérez, J., Giangreco S., y Guerrero I. (2019). *Neosporosis canina: la enfermedad y sus factores de riesgo* [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires].
<https://ridaa.unicen.edu.ar:8443/server/api/core/bitstreams/0a0ba6f8-7b3b-4589-9aa9-0141cd32ab79/content>
- Quintanilla, G., Pereira, J., Tabareã, E., Innes, E. A., Gonzaã Lez-Paniello, R., y Ortega-Mora, L. M. (2000). Seroprevalence of Neospora caninum infection in dairy and beef cattle in Spain. *International Journal for Parasitology*, 1201–1208.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751999000843>
- Ramirez, R. (2015). *Detección de Tritrichomonas foetus en machos reproductores Bos indicus, en ganaderías de Puerto Salgar, Cundinamarca, Colombia* [Tesis de Pregrado, Universidad de La Salle].

https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1150&context=medicina_veterinaria

- Reichel, P., Alejandra Ayanegui-Alcérreca, M., Gondim, L. F. P., y Ellis, J. T. (2013). What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle – The billion dollar question. *International Journal for Parasitology*, 43(2), 133–142.
<https://doi.org/10.1016/J.IJPARA.2012.10.022>
- Reyes, R. (2016). *Detección de Neospora caninum mediante PCR en sangre y su asociación con la producción láctea en bovinos* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de México]. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/67821>
- Rivera, G., H. (2001). Causas frecuentes de aborto Bovino. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2), 117–122.
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v12n2/a14v12n2>
- Román, F., Cordero F., Mora A., y Ramón P. (2022). Seroprevalencia a *Leptospira* spp., y *Neospora caninum* en ganaderías del cantón Loja. *Revista Perfiles*, 1(28), 52–58.
<https://doi.org/10.47187/perf.v1i28.182>
- Sáenz, S. (2008). *Evaluación del Uso de la Vacuna®Bovilis Neoguard en la Reducción de la Tasa de Abortos en Cuatro Haciendas de la Sierra Ecuatoriana* [Tesis de Pregrado, Universidad San Francisco de Quito]. <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/691>
- Samaniego, K. A. (2019). *Neospora caninum en bovinos de leche en cuatro sectores del cantón Salcedo-Cotopaxi Mediante la prueba de Eliza*. [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica de Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6324>
- Sanderson, M., Gay, M., y Baszler, T. (2000). *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Veterinary Parasitology*, 90, 15–24.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030440170000234X>

- Semango, G., Hamilton, C. M., Kreppel, K., Katzer, F., Kibona, T., Lankester, F., Allan, K. J., Thomas, K. M., Claxton, J. R., Innes, E. A., Swai, E. S., Buza, J., Cleaveland, S., y de Glanville, W. A. (2019). The sero-epidemiology of neospora caninum in cattle in northern Tanzania. *Journal Frontiers in Veterinary Science*, 6(9), 7-9.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00327>
- Serrano, E., Evaristo, R., Quispe, M., y Hinostroza, E. (2018). Seroprevalence neospora caninum in bovines of Lima and comparison between ELISA and IFAT. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(3), 916–922.
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n3/a22v29n3.pdf>
- Servicio Agrícola y Ganadero de Chile. (2012). *Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR)* [Archivo PDF].
https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/f_tecnica_rinotraqueitis_infecciosa_bov.pdf
- Slotved, H., Jensen, L., y Lind P. (1999). Comparison of the IFAT and Iscom-ELISA response in bovine foetuses with Neospora caninum infection. *International Journal for Parasitology*, 15(6), 1165–1174.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0020751999000958>
- Steneroden, K., y Ramirez, A. (2006). *¿Qué es la listeriosis y quién la produce?* [Archivo PDF].
https://www.cfsph.iastate.edu/FastFacts/spanish/listeriosis_F-es.pdf
- Valenzuela, P. (2005). Neosporosis en bovinos y caninos. *Journal for Electronic Monographs of Veterinary Pathology*, 2(1), 17–33.
<http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET1-2005/PDF/Mepavet08.pdf>
- Vargas, J., y Cortés, J. (2001). Neospora caninum, ¿Una Zoonosis Potencial? *Revista Salud Pública*, 3(1), 89–93.
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/revsaludpublica/article/view/18669/19565>

Yucaza, M. G. (2015). *Determinación de Neospora caninum en el cantón Mejía: Relación Canino-Bovino* [Tesis de Pregrado, Universidad Central del Ecuador].

<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6676>