



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PREVALENCIA DE *NEOSPORA CANINUM* EN BOVINOS DE CARNE
MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA COMPETITIVA

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Médico Veterinario

AUTOR: HENRY MICHAEL RODRIGUEZ LUZURIAGA
TUTOR: ING. MAURICIO XAVIER SALAS RUEDA, Mgtr.

Cuenca - Ecuador
2024

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Yo, Henry Michael Rodriguez Luzuriaga con documento de identificación N° 1104765175,
manifiesto que:

Soy el autor y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la
Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o
parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 08 de agosto del 2024

Atentamente,



Henry Michael Rodriguez Luzuriaga

1104765175

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, Henry Michael Rodriguez Luzuriaga con documento de identificación N° 1104765175, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del Trabajo experimental: “Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de carne mediante la técnica de ELISA competitiva”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Médico Veterinario, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 08 de agosto del 2024

Atentamente,



Henry Michael Rodriguez Luzuriaga

1104765175

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Mauricio Xavier Salas Rueda con documento de identificación N° 0603329681, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: PREVALENCIA DE *NEOSPORA CANINUM* EN BOVINOS DE CARNE MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA COMPETITIVA, realizado por Henry Michael Rodriguez Luzuriaga con documento de identificación N° 1104765175, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción de Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 08 de agosto del 2024

Atentamente,



Ing. Mauricio Xavier Salas Rueda, Mgtr.

0603329681

DEDICATORIA

Dedico este trabajo experimental principalmente a Dios por brindarme la fortaleza para afrontar día a día los duros obstáculos que se presentan en la vida y así poder cumplir lo me propongo. A mi querida abuela Angelita Luzón que me acompañó en este camino.

A mis amados padres José María Rodríguez Agila y Sonia Elizabeth Luzuriaga Martínez, cuyo amor incondicional y sacrificio han sido la fuerza motriz de cada paso que he dado. A mi hermano Bryan Joel Rodríguez Luzuriaga, porque en este tiempo su incondicional amistad y cariño infundieron el aliento necesario para continuar en este camino que hoy sé que les llena de orgullo.

AGRADECIMIENTO

En primera Instancia quiero agradecer infinitamente a Dios por brindarme su protección, ser el guía en mi camino y por todas sus bendiciones, a mis amados padres, mi familia y a mi hermano quienes han sido mi mayor fuente de amor, inspiración y apoyo a lo largo de este viaje. Sus sacrificios, consejos y constante aliento han sido los pilares sobre los cuales he construido este logro. A usted les debo todo lo que soy y todo lo que he logrado.

A mis queridos amigos, quienes han estado a mi lado en los momentos de alegría y desafíos. Su compañía, ánimo y apoyo incondicional han sido un bálsamo para el alma en los momentos más difíciles. Gracias por ser mi red de seguridad y por creer en mi incluso cuando dudaba de mi mismo.

Quiero agradecer de todo corazón al personal docente de la Universidad Politécnica Salesiana en especial a la carrera de Medicina Veterinaria, al Dr. Patricio Garnica por abrirme las puertas en esta noble institución y estar siempre pendiente de mi formación académica, a los docentes Dra. Mónica Brito, Ing. Pedro Webster, Dr. Juan Masache, MVZ Pedro Reino, Dr. Francisco Larriva quienes supieron impartir sus conocimientos dentro de las aulas, brindarme la confianza y amistad para no dudar de mis propósitos universitarios.

Además, quiero agradecer a mi tutor al Ing. Mauricio Salas, por brindarme su apoyo incondicional en todo momento durante el desarrollo del proyecto investigativo y también ha sido mentor sabio y guía comprensivo a lo largo de esta travesía académica.

INDICE GENERAL

RESUMEN	20
ABSTRACT.....	21
1. INTRODUCCIÓN.....	22
1.1. Problema.....	22
1.2. Delimitación	23
1.2.1. Temporal	23
1.2.2. Espacial	23
1.2.3. Ubicación	24
1.2.4. Académica.....	24
1.3. Explicación del problema.....	25
1.4. Objetivos	25
1.4.1. Objetivo general.....	25
1.4.2. Objetivos específicos	25
1.5. Hipótesis.....	25
1.5.1. Hipótesis alternativa.....	25
1.5.2. Hipótesis nula.....	26
1.6. Fundamentación teórica	26
2. REVISION Y ANALISIS BIBLIOGRAFICO Y DOCUMENTAL.....	27
2.1. Patologías abortivas en bovinos	27

2.2.	Patologías abortivas de origen bacteriano	28
2.2.1.	Brucelosis.....	28
2.2.2.	Leptospirosis	29
2.2.3.	Fiebre Q	30
2.2.4.	Campilobacteriosis genital bovina / Vibriosis bovina	31
2.3.	Patologías abortivas de origen viral	31
2.3.1.	Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR)	31
2.3.2.	Diarrea viral Bovina.....	32
2.4.	Patologías abortivas de origen Protozoario	33
2.4.1.	Tricomoniasis.....	33
2.5.	Patologías abortivas por causas nutricionales	34
2.5.1.	Deficiencias por vitaminas y minerales	34
2.6.	Neosporosis bovina	34
2.6.1.	Definición	34
2.6.2.	Etiología.....	35
2.6.3.	Epidemiología del aborto.....	36
2.6.4.	Ciclo biológico.....	37
2.6.5.	Transmisión.....	38
2.6.6.	Signos clínicos	39
2.6.7.	Patogenia.....	40
2.6.8.	Diagnóstico	40

2.6.9.	Tratamiento	44
2.7.	Resumen del arte del estudio del problema.....	44
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
3.1.	Materiales	46
3.1.1.	Físicos	46
3.1.2.	Biológicos	48
3.2.	Metodología	48
3.2.1.	Diseño estadístico	48
3.2.2.	Población y Muestra	49
3.2.3.	Toma de muestras	50
3.2.4.	Procedimiento de la muestra.....	51
3.2.5.	Preparación de la solución de lavado.....	51
3.2.6.	Procedimiento para realizar la técnica ELISA competitiva.....	51
3.2.9.	Variables de estudio	53
3.2.10.	Consideraciones Éticas	53
4.	RESULTADO Y DISCUSIÓN	55
4.1.	Prevalencia total	55
3.1.	Conclusiones	72
3.2.	Recomendaciones.....	72
4.	Bibliografía.....	74
5.	ANEXOS.....	81

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales de campo	46
Tabla 2. Materiales de Laboratorio	47
Tabla 3. Materiales de oficina.....	47
Tabla 4. Biológicos	48
Tabla 5. Variables independientes: Animales.....	53
Tabla 6. Variable dependiente: Prevalencia de anticuerpos mediante ELISA competitiva.....	53
Tabla 7. Prevalencia total.....	56
Tabla 8. Prevalencia por la Procedencia	57
Tabla 9. Prevalencia por sexo	59
Tabla 10. Prevalencia por la Edad	61
Tabla 11. Prevalencia por la raza	63
Tabla 12. Prevalencia por el tipo de reproducción.....	65
Tabla 13. Prevalencia por el número de partos	67
Tabla 14. Prevalencia por problemas reproductivos.....	69
Tabla 15. Prevalencia por presencia de caninos en las fincas.....	71

INDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Ubicación de la parroquia Nueva Tarqui cantón Gualaquiza	24
Ilustración 2. Morfología de <i>Neospora caninum</i> , Taquizoíto	36
Ilustración 3. Ciclo biológico de la <i>Neospora caninum</i>	38

RESUMEN

La neosporosis bovina es una enfermedad causada por un protozoo, cuyos huéspedes definitivos son los perros. Esta enfermedad conlleva considerables pérdidas económicas, ya que se encuentra distribuida globalmente. En el ganado bovino, la neosporosis impacta negativamente en la reproducción, debido a que los perros entran en contacto con estos animales, ocasionando abortos y debilitamiento fetal. La transmisión ocurre principalmente cuando los caninos consumen fetos abortados, placentas contaminadas, mediante la transmisión vertical de madre a feto. Los efectos de la enfermedad en los animales afectados varían según diversos factores, siendo la edad determinante, porque tanto jóvenes como adultos pueden ser afectados, aunque se han observado un mayor número de casos en animales adultos. Tanto machos como hembras pueden ser afectados por la neosporosis y durante la gestación, las hembras con infección latente pueden desarrollar la enfermedad, permitiendo que el parásito llegue al útero a través de la placenta. Además, el entorno juega un papel importante; los perros que residen en áreas rurales y tienen contacto directo con el ganado bovino están más expuestos a la enfermedad en comparación con aquellos que viven en zonas urbanas. El presente trabajo investigativo experimental se realizó con muestras serológicas tomadas en bovinos de la parroquia Nueva Tarqui, cantón Gualaquiza, provincia de Morona Santiago con características de explotación ganadera bastante alta. Las muestras fueron analizadas mediante un Kit de ELISA competitivo frente a *Neospora caninum* de un total de 162 muestras, el 12,35% (20/162) resultaron positivos; 85,19% (138/162) fueron negativos, demostrando la presencia de esta enfermedad.

Palabras clave: ELISA, bovinos, Neosporosis bovina.

ABSTRACT

Bovine neosporosis is a disease caused by a protozoan, with dogs being the definitive hosts. This disease entails considerable economic losses as it is globally distributed. In cattle, neosporosis negatively impacts reproduction because dogs come into contact with these animals, causing abortions and fetal weakening. Transmission primarily occurs when dogs consume aborted fetuses and contaminated placentas, as well as through vertical transmission from mother to fetus. The effects of the disease on affected animals vary according to several factors, with age being a determining factor, as both young and adult animals can be affected, though a higher number of cases have been observed in adult animals. Both males and females can be affected by neosporosis, and during gestation, females with latent infection can develop the disease, allowing the parasite to reach the uterus through the placenta. Additionally, the environment plays an important role; dogs residing in rural areas and having direct contact with cattle are more exposed to the disease compared to those living in urban areas. This experimental investigative work was conducted with serological samples taken from cattle in the parish of Nueva Tarqui, Gualaquiza canton, Morona Santiago province, characterized by high livestock exploitation. The samples were analyzed using a competitive ELISA kit for *Neospora caninum* from a total of 162 samples, 12,35% (20/162) were positive; 85,19% (138/162) were negative, demonstrating the presence of this disease.

Keywords: ELISA, cattle, Bovine Neosporosis.

1. INTRODUCCIÓN

La ganadería es una de actividad ganadera es una de las principales ocupaciones en nuestro país, especialmente en esta provincia, donde la reproducción juega un papel crucial en la productividad y eficacia. Sin embargo, esta función se ve comprometida por enfermedades como la neosporosis, que provoca abortos, muerte de embriones, el nacimiento de terneros con problemas de coordinación y problemas neuromusculares, entre otros, ocasionando pérdidas económicas (Bernardi & Cueva, 2015).

La neosporosis bovina es una enfermedad protozoaria que se destaca por su impacto en la reproducción, siendo abortiva y de relevancia a nivel mundial. Los terneros recién nacidos muestran síntomas clínicos como ataxia neuromuscular y contracturas articulares, mientras que en las hembras gestantes puede causar la muerte fetal acompañada de retención placentaria y/o aborto. Se han descrito signos clínicos similares en otros rumiantes como cabras y ovejas, aunque de manera muy esporádica (García & Zafra, 2019,p.289)

La parroquia de Nueva Tarqui, una zona dedicada a la ganadería y con una gran demanda de producción de carne, los bovinos están en riesgo de contraer enfermedades debido al contacto con perros, los cuales suelen ser empleados como guardianes en las fincas y haciendas ganaderas. Esta situación puede resultar en la propagación de enfermedades como la neosporosis, causada por el parásito *Neospora caninum*

1.1. Problema

Desde el descubrimiento del *Neospora caninum* a finales de la década de 1980, su relevancia ha ido aumentando con el paso de los años. En la actualidad, la neosporosis afecta principalmente a bovinos y perros. Sin embargo, se ha evidenciado que el *Nesospora caninum* ha sido responsable de enfermedades en estas especies desde hace mucho tiempo. En el ganado de carne, la neosporosis

actualmente se reconoce como una de las principales causas de aborto, lo que la convierte en una enfermedad de gran importancia económica (Granillo & Martínez, 2008).

La transmisión de la Neospora, desde los perros hacia los bovinos ocurre cuando las vacas ingieren alimentos o agua contaminados con ooquistes de *Neospora caninum*, los cuales son excretados en las heces de perros infectados y luego se esporulan, convirtiéndose en agentes infecciosos.

El estudio investigativo tiene como objetivo principal realizar el diagnóstico definitivo de la neosporosis (*Neospora caninum*) en vacas lecheras mediante el análisis de ELISA competitivo. Dado el gran número de perros que deambulan dentro de las explotaciones ganaderas y que actúan como hospedadores definitivos, se considera que la presencia de este parásito está relacionada con una enfermedad asintomática. En las ganaderías ecuatorianas, las patologías reproductivas son comunes y pueden tener diversas causas. Sin embargo, esta investigación tiene como objetivo identificar específicamente esta patología para proporcionar orientación a los ganaderos locales. De esta manera, podrán tomar medidas preventivas a tiempo y comprender mejor como interactúa esta enfermedad en las explotaciones de carne de la parroquia Nueva Tarqui.

1.2. Delimitación

1.2.1. Temporal

La investigación tuvo una duración de 400 horas, las cuales fueron distribuidas entre el proceso experimental y la redacción del documento final.

1.2.2. Espacial

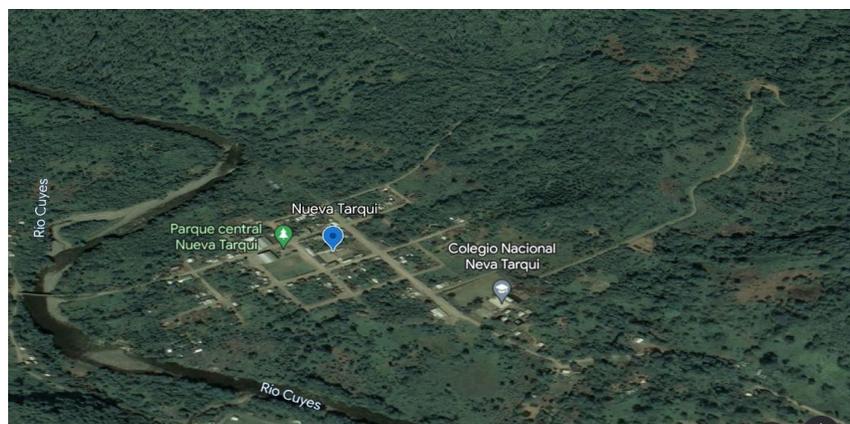
Las muestras se recolectaron en la parroquia Nueva Tarqui. El estudio descriptivo experimental se llevó a cabo en el laboratorio de la Clínica Veterinaria “POLIVET” de la Universidad

Politécnica Salesiana. En este laboratorio, se realizaron las pruebas de ELISA competitiva utilizando los 162 sueros obtenidos de muestras sanguíneas de bovino fenotipo carne recolectadas en varias haciendas de la parroquia Nueva Tarqui, la cual pertenece al cantón Gualaquiza.

1.2.3. Ubicación

La investigación se realizará en una altitud de 870.39 msnm en la parroquia de Nueva Tarqui del cantón Gualaquiza, Morona Santiago. Se encuentra ubicado geográficamente entre las siguientes coordenadas $3^{\circ}27'29''\text{S}$ y $78^{\circ}39'49''\text{W}$, presenta un clima con temperaturas que oscilan entre los 18°C y 29°C dependiendo las diferentes altitudes geográficas. (Google earth, 2023).

Ilustración 1. *Ubicación de la parroquia Nueva Tarqui cantón Gualaquiza*



Fuente: (Google earth, 2023)

1.2.4. Académica

La investigación se llevó a cabo en el área de Sanidad Animal, lo que nos brindó la oportunidad de fortalecer y aplicar los conocimientos adquiridos durante nuestra formación como profesionales. Este estudio no solo representó un valioso aporte para los estudiantes de la carrera de Medicina Veterinaria, sino que también sirvió como un respaldo para el diagnóstico y tratamiento óptimo de la Neosporosis bovina.

1.3. Explicación del problema

El aborto bovino representa un desafío significativo para el desarrollo ganadero a nivel mundial, especialmente en los hatos de carne, donde se acompaña de una reducción en la producción. Este fenómeno está frecuentemente relacionado con las enfermedades infectocontagiosas como la neosporosis, entre otras. En Ecuador, el estudio de esta problemática está ganando relevancia, ya que afecta de manera más pronunciada a los bovinos de carne, lo que impacta directamente en su productividad. Esto se debe en parte a que estos animales suelen estar en contacto con perros, que cumplen funciones de compañía y guardia en entornos rurales.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Determinar la prevalencia *Neospora caninum* en ganado de carne mediante el método de ELISA competitiva en la parroquia Nueva Tarqui del cantón Gualaquiza, de la provincia Morona Santiago.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar la presencia de anticuerpos para *Neospora caninum* en bovinos mediante el método ELISA competitiva.
- Calcular la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de producción de carne.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis alternativa

Ha: La prevalencia es alta de *Neospora caninum* en ganado bovino de la Parroquia Nueva Tarqui del cantón Gualaquiza de la provincia de Morona Santiago.

1.5.2. Hipótesis nula

Ho: La prevalencia es baja de *Neospora caninum* en ganado bovino de la Parroquia Nueva Tarqui del cantón Gualaquiza de la provincia de Morona Santiago

1.6. Fundamentación teórica

Este estudio aborda la situación en la parroquia de Nueva Tarqui, donde se observa una notable concentración de productores ganaderos y una elevada presencia de perros en las granjas, lo que podría ser uno de los factores contribuyentes al aborto en bovinos. Es importante destacar que, en esta área específica, el tema de *Neospora caninum* no ha sido objeto de estudio ni evaluación en cada una de estas explotaciones ganaderas. Esta falta de investigación impide comprender la magnitud del problema causado por este parasito y, por ende, dificulta la implementación de medidas preventivas adecuadas para controlarlo. Por tanto, se hace imperativo realizar estudios exhaustivos que permitan una mejor comprensión de la problemática y así, diseñar estrategias efectivas de control y prevención.

2. REVISION Y ANALISIS BIBLIOGRAFICO Y DOCUMENTAL

2.1. Patologías abortivas en bovinos

El aborto es la interrupción de un embarazo durante el periodo de tiempo en que el feto aun no es viable. Un embrión se lo considera viable cuando es capaz de sobrevivir dentro del vientre de la madre, en lo cual existen fallas embrionarias aproximadamente a los 42 días después de la fecundación y se considera uno de los periodos más críticos de la preñez. Para producirse el aborto existen diversos orígenes las podemos clasificar en bacteriano, viral, protozoaria y nutricional. (Serrano, 1993, pp.3-18).

Una de las principales limitaciones de la industria ganadera es el aborto en un hato de ganado, que puede ocurrir de forma esporádica, endémica o en brotes, pero se complica por el hecho de que la fuente puede ser infecciosas o no infecciosa. Para determinar la relación causal, existen algunos estudios mostrando que existe varios agentes infecciosos como son: *Brúcela*, *Leptospira*, *Aspergillus*, *Diarrea Viral Bovina*, *Neospora caninum*, causando en el embrión un conjunto de anomalías (Figuroa, 1984, p.72).

Según (Lewis, 2002, p.118) es crucial reconocer que los abortos pueden generar complicaciones no solo para el feto, sino también para el entorno ambiental y la madre. Dado que la mayoría de los fetos no presentan anomalías evidentes, se necesita una investigación posterior para determinar la causa del fallecimiento. Obtener un diagnóstico a partir de fetos abortados y placentas contaminadas con la tierra, barro y excrementos estos representan un desafío considerable con resultados poco satisfactorio. Es necesario evaluar la condición corporal del ganado en general. Se tomarán muestras de sangre que serán analizadas posteriormente para obtener un diagnóstico adecuado.

De acuerdo (Miller, 1995, p.48) para realizar un diagnóstico clínico acerca del aborto y la inspección superficial del feto suelen ofrecer poca contribución al diagnóstico, por lo que se requiere llevar a cabo una serie de análisis estándar en las muestras enviadas. No obstante, consideraciones económicas pueden limitar la realización de estos análisis de manera extensiva.

Además, algunas enfermedades reproductivas en el ganado bovino tienen el potencial de ser zoonóticas, lo que significa que pueden afectar la salud humana. Ejemplos de estas enfermedades son la brucelosis y leptospirosis (Gutiérrez, y otros, 2017, pp.73-74).

2.2. Patologías abortivas de origen bacteriano

Entre las patologías más relacionadas en los bovinos encontramos a la brucelosis, leptospirosis.

2.2.1. Brucelosis

La brucelosis es una enfermedad causada por la bacteria *B. abortus*, que afecta principalmente al ganado vacuno. Se manifiesta principalmente mediante abortos en hembras, mientras que en los machos puede causar orquitis, una inflamación en menor medida, que puede afectar las glándulas sexuales. También se conoce como fiebre ondulante, fiebre de Malta, fiebre del Mediterráneo. Esta enfermedad se transmite a través del contacto directo con mucosas, placentas y alimentos contaminados (Rodríguez & Geovanny, 2003)

Esta enfermedad es zoonótica, lo que significa que tiene una gran importancia en la salud pública, así como en el sector ganadero debido a las pérdidas económicas que provoca. Además, las restricciones comerciales tanto a los animales infectados como a sus productos representan un desafío significativo. Actualmente, la brucelosis está clasificada como una de las principales prioridades en la implementación de políticas sanitarias a nivel mundial (Cárdenas, 2018).

Para realizar un buen diagnóstico acerca de esta enfermedad existen muchos métodos como son pruebas bacteriológicas con el método de Ziehl-Neelsen modificado por Stamp mediante la sangre, serológicos mediante la técnica estándar entre otras, sin embargo, debe establecerse un diagnóstico diferencial con otras condiciones patológicas existentes en nuestro medio que son: Vibriosis, leptospirosis, rinotraqueitis bovina infecciosa (Figueroa, 1984, pp.72-74).

No existe un tratamiento específico para esta enfermedad, dado que la bacteria es intracelular y puede la acción efectiva de sustancias antibacterianas. Por tanto, para controlar la enfermedad, no se recomienda mantener animales infectados dentro de la explotación (Cárdenas, 2018).

2.2.2. Leptospirosis

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa causada por la bacteria espiroqueta conocida como *Leptospira interrogans*. Las manifestaciones clínicas varían dependiendo de la serovariedad involucrada, la especie animal afectada y las condiciones ambientales. Pueden incluir desde trastornos reproductivos como infertilidad, abortos y nacimientos de crías débiles, hasta una disminución en la producción láctea (Moles, 2002, pp.2-3).

De acuerdo (Odrizola, 2001) La mayoría de los abortos ocurren en el último tercio de la gestación y aproximadamente 6-12 semanas después de la exposición inicial a la *Leptospira*. Además, que se produzca el nacimiento de terneros débiles o prematuros durante este periodo. En casos agudos, los terneros pueden resultar gravemente afectados y morir en un lapso de tres a cinco días.

No hay tratamiento específico para esta enfermedad; por lo tanto, se recomienda enfocarse en medidas de manejo sanitario y llevar a cabo una vacunación periódica contra esta enfermedad y sus variantes detectadas. (Zárate, Rosete, Ríos, Barradas, & Olazarán, 2014).

El líquido amniótico son fuentes abundantes de infección por *Brucella*. En las vacas que han tenido un aborto, la bacteria puede propagarse a través de la vagina y la glándula mamaria. Los terneros se infectan de sus madres o se infectan al nacer. En muchos casos, el primer contacto sexual es la forma de contraer esta enfermedad. El contacto regular con animales infectados suele ser peligroso para humanos como veterinarios, vaqueros, etc. (Parrado, 2016, pp.50-52).

2.2.3. Fiebre Q

La fiebre Q es una enfermedad zoonótica causada por la bacteria *Coxiella burnetii* producida por ambientes de baja calidad de sanidad como espacios, instalaciones. Causando problemas a los productores ganaderos como grandes pérdidas de dinero, provocando esta bacteria abortos y terneros caquéxicos al nacer y contraer esta bacteria (Toman, Heinzen, Samuel, & Luis Mege, 2012, p.171).

Esta bacteria al actuar como una infección natural en las hembras la *Coxiella burnetii* actúa como una infección natural en hembras de ganado, presentando un marcado tropismo por la placenta. Este tropismo se asocia frecuentemente con abortos tardíos en los animales infectado. La *Coxiella burnetii* es una bacteria Gram negativa que se transmite a través de aerosoles producidos por animales infectados. La transmisión puede ocurrir cuando las bacterias son liberadas en el ambiente durante el parto, el aborto, o a través de excreciones como la leche, orina y heces (Martinov, 2017, p.58).

2.2.4. Campilobacteriosis genital bovina / Vibriosis bovina.

Es una enfermedad de origen bacteriano que se caracteriza por la presencia de infertilidad temporal, repetición de celos y abortos ocasionales. Se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo y ocasiona considerables pérdidas económicas en las industrias ganadera de carne y leche. El agente causante de esta enfermedad es *Campylobacter fetus* subsp *veneralis*, que puede encontrarse ocasionalmente en el tracto intestinal del ganado bovino y causar abortos esporádicos en los animales infectados. (Winter, Line, & Aiello, 2023, p.85)

La infección puede transmitirse por el servicio natural como por inseminación artificial. Los toros suelen ser portadores temporales de la infección, pero desempeñan un papel crucial en la transmisión de la enfermedad a las hembras. El agente causante de la enfermedad se mantiene en la cavidad prepucial de los toros. Esto se infectan al servir a hembras previamente infectadas durante la monta natural, así como por el uso de instrumentos y equipos contaminados durante la inseminación artificial. Es importante destacar que el agente etiológico es susceptible a los antibióticos que se añaden al semen en la práctica de IATF (Ancha & Szyfres, 2001, p.63).

2.3. Patologías abortivas de origen viral

2.3.1. Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR)

Según (Muñoz, Motta-Delgado, Herrera, Polania, & Cháves, 2020, pp.9-16) La rinotraqueitis infecciosa bovina tiene un fuerte impacto en la salud y producción del ganado, especialmente afectando el sistema respiratorio y reproductivo. Esto conlleva a considerables pérdidas económicas en los hatos a nivel global, manifestándose a través de diversos síndromes clínicos. La transmisión del virus ocurre principalmente secreciones respiratorias y oculares, así como también de forma venérea o por medio de equipos contaminados. Durante la infección primaria, el virus se replica en las membranas mucosas del tracto respiratorio o genital.

Este virus tiene la capacidad de ingresar de la mucosa nasal, donde infecta y se replica en las células epiteliales, extendiéndose luego a través de los conductos lacrimales hacia los tejidos oculares. Es en este punto donde se establece la infección. En el caso de las infecciones en los genitales, el virus se dirige directamente al órgano blanco para iniciar la infección (Duque, Ramón, & Abreu, 2014, pp.58-67).

De acuerdo (Magaña-Urbina, Solorio Rivera, & Segura-Correa, 2005, pp.28-29) El aborto en bovinos generalmente ocurre durante el último tercio de la gestación. También puede ocurrir el aborto debido a la administración de vacunas atenuadas poco modificadas durante el último trimestre de la gestación. Para el diagnóstico, se observa que el feto es expulsado después de 24 horas del aborto y muestra signos de autólisis, así como hemorragia y necrosis focal en el hígado.

Para prevenir la enfermedad, se recomienda inmunizar a las vacas reproductoras y lecheras de 3 a 4 semanas antes del período de reproducción. Asimismo, se aconseja realizar la vacunación anualmente para mantener la protección adecuada contra la enfermedad (Ministro de Agricultura, 2010).

2.3.2. Diarrea viral Bovina

Esta enfermedad pertenece al género Pestivirus de la familia flaviviridae. Se encuentra distribuida a nivel mundial y está presente en la mayoría de las empresas ganaderas, ocasionando una amplia gama de afecciones y lesiones. Su mayor impacto se observa en los trastornos abortivos (Peña Cortes, 2019, pp.309-311).

Su transmisión es de forma vertical y esta ocurre cuando los animales que están constantemente infectados liberan continuamente el virus. Este tipo de transmisión se produce a través de la infección fetal durante las primeras etapas de gestación, generalmente entre los días

30 y 90 de gestación. Además, la transmisión horizontal puede ocurrir mediante secreciones como la leche, la secreción nasal, orina, los aerosoles, el semen, la sangre, la saliva, el contacto sexual o a través de fómites como agujas y equipo contaminado (Cuervo, 2017, p.32).

De acuerdo (Aguilar & Benito, 2006) Usualmente, la enfermedad puede manifestarse agudamente, aunque con síntomas leves o subclínicos, con un periodo en el que el virus se replica en los tejidos y se elimina, seguido de una recuperación completa debido a una respuesta inmunitaria sólida tanto humoral como celular. En caso de gestación, el virus puede atravesar la barrera placentaria, dando lugar a una serie de trastornos fetales que van desde la reabsorción embrionaria, aborto o malformaciones congénitas, hasta el nacimiento de terneros infectados.

2.4. Patologías abortivas de origen Protozoario

2.4.1. Tricomoniasis

La tricomoniasis bovina es una enfermedad de transmisión sexual causada por el protozoo extracelular flagelado *Trichomonas foetus* que provoca fallas reproductivas tempranas. A menudo se encuentra en sistemas a gran escala en pastos rotativos, en regiones de instalaciones naturales con el manejo reproductivo mediante la monta natural. Los toros están infectados (portadores asintomáticos), transmiten a las vacas de leche y se forman la fuente de la infección principal (Azpilicueta, 2014).

Dentro de los hatos lecheros, los primeros síntomas que presentan las hembras afectan produciendo vaginitis, cervicitis y endometritis catarral, o en algunos casos, animales asintomáticos. Estos síntomas pueden manifestarse en el primer tercio de gestación, entre las 6 y 16 semanas. Para diagnosticar la enfermedad, se toman muestras de secreciones prepuciales y moco cervical-vaginal, o en el caso de abortos, de la placenta, líquido placentario y prepucial.

Posteriormente, estas muestras se envían al laboratorio donde se someten a procesos de centrifugaciones y aislamientos del patógeno (Bennett, Blaser, & Dolin, 2006, pp.278-281).

2.5. Patologías abortivas por causas nutricionales

Entre las causas de aborto en bovinos, es importante destacar los factores nutricionales, los cuales aún son poco comprendidos, aunque hay estudios que surgieren una relación entre la deficiencia de vitaminas y minerales y las patologías reproductivas. El déficit de yodo, vitaminas A y oligoelementos a nivel bajos se cuentan entre las principales causas de mortalidad perinatal. Las investigaciones han mostrado que el ganado alimentado con forraje inmaduro y fertilizado con nitrógeno puede experimentar más aborto y una disminución en la tasa de concepción. Además, se han observado signos de aumento de la vascularización en las ubres y la vulva. Los problemas nutricionales suelen surgir por la ingestión excesiva de forraje descompuesto, ensilaje muy ácido o trébol descompuesto, lo que puede causar enfermedades (Cseh, 2015, p.143)

2.5.1. Deficiencias por vitaminas y minerales

Según (CORPOICA, 2002) El magnesio es un mineral crucial que forma parte esencial del superóxido dismutasa, es una enzima localizada por las mitocondrias que desencadena actividad antioxidante en los organismos. Esta enzima no solo incrementa su actividad, sino también la producción de progesterona en el cuerpo lúteo de los mamíferos, lo que convierte un elemento fundamental para mantener la función, integridad y esteroidogénesis durante la gestación en diversas especies de mamíferos.

2.6. Neosporosis bovina

2.6.1. Definición

De acuerdo (García & Zafra, 2019,p.289) La neosporosis bovina es una enfermedad que se encuentra distribuida mundialmente y se considera una de las principales causas de problemas

reproductivos en el ganado vacuno. Fue identificada por primera vez como la causa de abortos en el ganado bovino en 1989, en una granja ubicada en Nuevo México (Estados Unidos). Clínicamente, se caracteriza por provocar la muerte del feto, desde los 2.5 meses de gestación hasta el final del periodo de gestación. Aunque la mayoría de los abortos ocurren durante el segundo trimestre, ocasionalmente puede resultar en el nacimiento de terneros débiles que presentan signos neuromusculares como falta de coordinación, hiperextensión de las extremidades y protuberancia de los ojos etc.

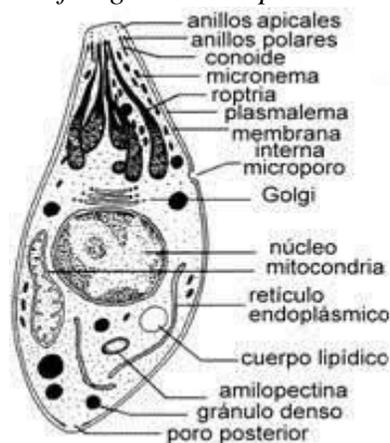
2.6.2. Etiología

Neospora caninum es un protozoo intracelular obligado que pertenece al Phylum Apicompleza y a la familia Sarcocystidae. Su morfología es similar a la de *Toxoplasma gondii* y está taxonómicamente relacionado con otros protozoos que forman quistes, como *Isospora bigemia* (Nelson & Couto, 2020).

Los estadios parasitarios reconocidos en el ciclo de *Neospora caninum* son: Taquizoíto, el bradizoito y el esporozoíto. Los dos primeros se encuentran en los hospedadores intermediarios, mientras que el esporozoíto se elimina a través de las heces (Nelson & Couto, 2020, p.320).

Los taquizoítos tienen una forma de media luna o globular y miden entre 3 y 7 μm de largo, o de 1 a 5 μm de ancho. Por otro lado, los bradizoítos pueden alcanzar hasta 107 μm de longitud y presentan una pared de 4 μ . Por último, los ooquistes, que son eliminados en las heces del hospedador definitivo, tienen una forma esférica y miden entre 10 y 11 μm (Nelson & Couto, 2020, p.340).

Ilustración 2. *Morfología de Neospora caninum, Taquizoíto*



(Mainato, 2011)

2.6.3. Epidemiología del aborto

La ocurrencia de abortos en un rebaño puede presentarse de dos formas principales, que se conocen como patrón de aborto endémico y patrón epidémico.

En general, el patrón endémico, los porcentajes de aborto anual no suelen superar el 5% pero se mantienen constantes a lo largo de los años. Esto se observa principalmente en establecimiento donde la neosporosis ya está presente y la ruta de infección predominante (Dubey, Hemphil, Calero-Bernal, & Schares, 2017).

El patrón epidémico se manifiesta principalmente en rebaños donde el ganado estaba libre de enfermedad y se produce la entrada por primera vez de la enfermedad mediante la transmisión horizontal. En este caso, se observa lo que se conoce como una tormenta de aborto. Aunque es menos frecuente que el patrón endémico, puede causar pérdidas por aborto que oscilan entre el 10% y el 57% en algunos casos (Dubey, Hemphil, Calero-Bernal, & Schares, 2017).

2.6.4. Ciclo biológico

Aunque el ciclo biológico de este parásito no está completamente claro, como ocurre con todos los coccidios, se cree que debe tener un ciclo de vida heteroxeno con dos hospedadores. Experimentalmente se ha postulado y confirmado que los caninos son los hospedadores definitivos, mientras que los herbívoros actúan como hospedadores intermediarios (Dubey, Hemphill, Calero-Bernal, & Schares, 2017).

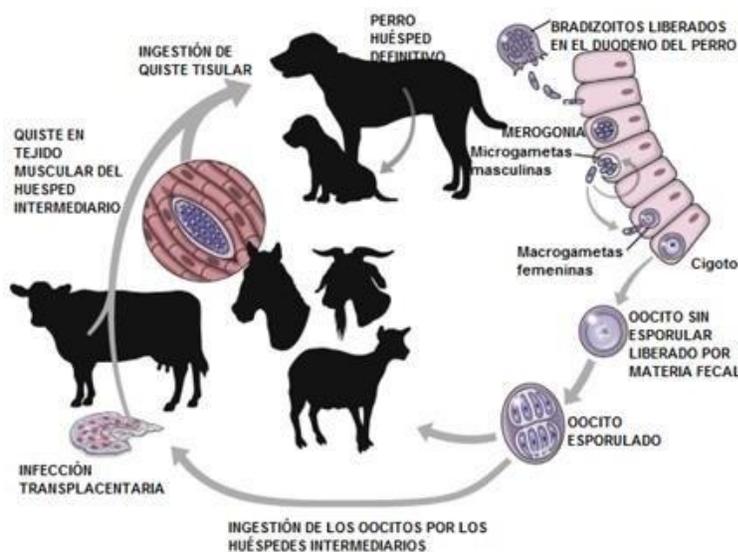
El parásito tiene dos fases distintas: una fase sexual que se encuentra en el tracto gastrointestinal del perro, donde se liberan ooquistes esporulados que miden entre 10 y 11 micras. La fase asexual está compuesta por el taquizoíto, que es la forma infectiva, y el bradizoíto, que se encuentra en estado latente. Es un endoparásito que se localiza en el intestino tanto de los perros como en los rebaños ganaderos, pero también puede encontrarse en el hígado, los pulmones, el cerebro, la placenta y los músculos (Macchi, 2019).

Los caninos se convierten en hospedadores definitivos cuando ingiere tejidos que contienen quistes de *N. caninum*, luego diseminan ooquistes a través de las heces, los cuales son excretados de manera irregular durante un corto periodo de tiempo. Los hospedadores susceptibles se infectan al ingerir forraje y agua contaminados con heces que contienen ooquistes de *N. caninum*. Después de la ingestión, los esporozoitos son liberados en el tracto gastrointestinal (Macchi, 2019).

Los esporozoitos liberados en el tracto gastrointestinal del hospedador intermediario se dividen, causando daño tisular y propagando la infección a otros tejidos del hospedador. Aunque los esporozoitos son capaces de alcanzar todas las vías sanguíneas y linfáticas y acceder a todos los tejidos, hasta ahora solo se han informado de la presencia de quistes en el sistema nervioso central y el tejido muscular (Macchi, 2019).

Según (Macchi, 2019) Los quistes se localizan exclusivamente en el cerebro, la medula espinal y la retina. Los bradizoítos y los quistes tisulares son resistentes a las soluciones ácidas de pepsina, lo que indica que los carnívoros desempeñan un papel importante en el ciclo del parásito.

Ilustración 3. *Ciclo biológico de la Neospora caninum*



(Sykes, 2014, pp. 704-712)

2.6.5. Transmisión

De acuerdo (Santana, y otros, 2010) La transmisión de la parasitosis se lleva a cabo de dos formas: la transmisión vertical (endógena), de una madre infectada a su feto, y la transmisión horizontal (exógena) en la cual el ganado bovino debe ingerir alimento o agua contaminados con ooquistes esporulados del parásito, que son excretados por el perro, el principal portador definitivo de *N. caninum*.

La transmisión vertical se reconoce como responsable de la perpetuación de la infección en el hato. En vacas infectadas de forma crónica, la transmisión al feto durante la gestación ocurre como resultado del recrudecimiento de la infección latente, debido a la inmunodepresión inducida por la gestación. La parasitemia resultante permite que las formas infectivas del parásito invadas la placenta y diversos tejidos fetales. En estos casos, por lo general, la cría nace infectada pero clínicamente sana. Aunque también puede ocurrir el aborto (Santana, y otros, 2010).

2.6.6. Signos clínicos

De acuerdo (Márquez, 2003, pp.16-17) El único signo clínico observable en las vacas infectadas es el aborto, el cual puede ocurrir desde el tercer mes de gestación hasta el final de esta, siendo más común entre el quinto y sexto mes de gestación. Los abortos pueden presentarse de manera esporádica, endémica o epidémica. En casos donde el aborto no es síntoma predominante, los terneros pueden nacer muertos, infectados, enfermos o clínicamente sanos pero infectados. Esta última forma de presentación es la más común en rebaños donde la enfermedad es endémica.

Según (Parrado, 2016, p.32) Los terneros que nacen infectados de forma congénita desarrollan un síndrome neuromuscular que presenta signos durante los primeros cinco días de vida o hasta dos semanas. Estos terneros nacen débiles, con bajo peso, y son incapaces de ponerse de pie. Aunque la temperatura, la frecuencia cardíaca y respiratoria suelen ser normales, los miembros anteriores y posteriores pueden estar flexionados o hiperextendidos. Además, pueden presentar ataxia, disminución de los reflejos patelares, pérdida de la conciencia y de la propiocepción. También pueden manifestar exoftalmia y asimetría en los ojos.

Histopatológicamente, en el feto abortado se puede observar una encefalomielitis protozoaria multifocal, que puede estar ubicada en la materia gris del cordón espinal. También se puede observar una encefalitis focal caracterizada por necrosis e inflamación no supurativa, así

como una miocarditis no supurativa y una hepatitis. La presencia de hepatitis se observa más común en los abortos epidémicos que en los esporádicos (Aguilar & Benito, 2006).

2.6.7. Patogenia

De acuerdo (Márquez, 2003, p.9) La patogenia es parcialmente conocida, pero se cree que luego de la ingestión de ooquistes, los esporozoítos liberados en la luz intestinal pueden atravesar la barrera intestinal y acceder a los tejidos a través del sistema linfático y sanguíneo. Una vez dentro de las células huésped infectadas, comienza el proceso de multiplicación mediante endodiogenia. El parásito puede causar daño celular con necrosis e inflamación, o formar quistes tisulares capaces de persistir durante toda la vida del animal.

El microorganismo tiene una predilección por el epitelio corial fetal y los vasos sanguíneos de la placenta, lo que resulta en vasculitis fetal e inflamación, así como en la degeneración del corio con necrosis difusa del lecho placentario (Márquez, 2003, p.10).

La histopatología de los tejidos fetales resulta ser una técnica diagnóstica relevante en las infecciones por *N. caninum*, y las lesiones más significativas incluyen meningoencefalitis necrosante multifocal, miocarditis y miositis no supurativa. En los casos de fetos recuperados de hatos de la zona afectada, se observan prominentes focos de infiltración mononuclear rodeando las áreas de necrosis, especialmente en el cerebro y meninges. Los focos necróticos, generalmente ubicados en el área basal del cerebro, están rodeados por células gliales y mononucleares dispuestas en forma de roseta, lo cual es un hallazgo frecuente (Morales, 2016, pp.2-4).

2.6.8. Diagnóstico

La infección por *Neospora caninum* puede diagnosticarse mediante diversas pruebas inmunodiagnósticas, técnicas histopatológicas, moleculares y de aislamiento. Las pruebas

inmunodiagnósticos disponibles incluyen la inmunofluorescencia indirecta (IFI), ELISA, aglutinación directa, inmunohistoquímica (IHQ) y electroforesis combinada con inmunodetección (Western Immunoblot). El diagnóstico presuntivo de aborto por *Neospora caninum* puede establecerse en base a la presencia de lesiones como meningoencefalitis necrotizante multifocal (MENM), miocarditis, miositis, nefritis hepatitis, neumonía, y adrenalitis focal no supurativas, caracterizadas por la presencia de células mononucleares (Granados, y otros, 2014).

Según (Cebrian & Barberan, 2003) Cuando se sospeche de abortos por *Neospora caninum*, las muestras que se envíen al laboratorio de diagnóstico deberían incluir las siguiente: Suero de la madre, suero o exudado torácico del feto, feto entero con su placenta o alternativamente: Muestras de cerebro, medula espinal o corazón fijados en formol al 10 % para su adecuado análisis en el laboratorio de diagnóstico.

2.6.8.1. Prueba de reacción de la cadena polimerasa (PCR)

El impacto de la técnica de PCR ha sido notable, ya que ha permitido esclarecer ciertos aspectos epidemiológicos de *Neospora caninum*. Debido a la alta eficiencia de este parásito para transmitirse de forma vertical, los resultados positivos obtenidos por IHQ o PCR deben estar siempre asociados a problemas reproductivos. Además, es importante utilizar otras técnicas diagnósticas no solo para identificar este protozoo, sino también para descartar otras posibles causas de aborto. El aislamiento de *N. caninum* es una técnica diagnóstica difícil y costosa. A pesar de ello, se han logrado aislar este parasito en regiones ganaderas de todo el mundo (Williams, 1999, pp.39-48).

2.6.8.2. Inmunohistoquímica

Esta técnica, utilizada en tejidos detalles fijados en formol y con lesiones histopatológicas compatibles, permite la identificación de *N. caninum* con alta especificidad, lo que le otorga un valor diagnóstico relevante. Aunque su sensibilidad puede ser baja, posiblemente debido a la escasa cantidad de parásitos presentes en tejidos autorizados, sigue siendo una técnica diagnóstica válida. Aunque un diagnóstico presuntivo de neosporosis puede ser realizado mediante tinciones de hematoxilina y eosina, la inmunohistoquímica (IHQ) es necesaria, ya que generalmente en fetos autolíticos hay una baja cantidad de *N. caninum*, lo que dificulta su visualización mediante tinción (Moles, 2002, p.3).

Mediante esta técnica se (IHQ), se pueden observar taquizoítos de *Neospora caninum*, ya sea aislado o, en ocasiones, agrupados en forma de racimo. Estos taquizoítos reaccionan positivamente con el antisero primario. Se encuentran asociados a los focos inflamatorios y necróticos en el cerebro (Morales, 2016,p.4).

El descubrimiento de anticuerpos específicos contra *Neospora caninum*, en el suero fetal o en el suero precalostrado de los terneros indica una infección. Sin embargo, la ausencia de un resultado positivo no necesariamente excluye la posibilidad de infección fetal por este patógeno. Esto se debe a que la síntesis de anticuerpos en el feto depende de varios factores, como el tiempo de gestación, el nivel de exposición y el periodo transcurrido entre la infección y el aborto. Además, la autólisis fetal puede provocar la degradación de las inmunoglobulinas, lo que resultaría en niveles bajos de anticuerpos específicos y podría llevar a un resultado negativo en las pruebas de detección (Williams, 1999,p50).

2.6.8.3. Pruebas (ELISA)

Elisa competitivo

La técnica de ELISA de inhibición, también conocida como ELISA competitivo, es una variante más compleja del ensayo de ELISA. Se utiliza principalmente para detectar y cuantificar antígenos que están presentes en cantidades bajas. Esta técnica de laboratorio permite detectar y distinguir pequeños agentes patógenos o antígenos de otros componentes acoplados: un anticuerpo y una enzima. Los cambios de color u otras manifestaciones, como en las pruebas espectrofotométricas, se utilizan para indicar la presencia y la cantidad del antígeno de interés (Galeano, 2018).

Elisa directo

La descripción parece corresponder a una técnica de laboratorio conocida como "ELISA de competición" o "ELISA de inhibición". En este ensayo, se recoge una muestra a estudiar y se coloca en un pequeño recipiente junto con una muestra igual pero contaminada con el germen que se quiere estudiar, y otra muestra conocida que no contiene el germen. Luego, se aplica un anticuerpo que está unido a una enzima en los tres pozos, y se compara la muestra en estudio con las otras dos. La reacción que se observa permite determinar si el antígeno de interés está presente en la muestra en estudio y en qué cantidad, en función de la competencia por la unión al anticuerpo entre las diferentes muestras (Tortora & Funke , 2007,p.544)

Elisa indirecto

La descripción parece corresponder a una variante del ensayo ELISA conocida como "ELISA de dos pasos" o "ELISA indirecto". En este método, primero se añade un anticuerpo primario específico para el antígeno de interés, pero que no está unido a ninguna enzima. Después

de lavar para eliminar el exceso de anticuerpo primario, se añade un segundo anticuerpo que sí está unido a una enzima. Esta enzima, al reaccionar con un sustrato, produce una señal detectable que indica la presencia del antígeno en la muestra. Este enfoque aumenta la sensibilidad de la prueba al permitir la amplificación de la señal generada por la enzima (Tortora & Funke , 2007, p.545).

2.6.9. Tratamiento

De acuerdo (Martínez, Schwerter, & Urrutia, 2018) Esta patología parasitaria carece de tratamiento específico en el ganado vacuno, aunque previamente existía una vacuna en Chile como medida preventiva, actualmente no se encuentra disponible en el mercado. Por lo tanto, resulta crucial implementar todas las medidas de prevención y control disponible.

Para prevenir la propagación de esta enfermedad, se puede implementar el aislamiento de los animales que den positivo en las pruebas serológicas. Esto implica separar a los casos positivos del resto del grupo de producción y evitar el contacto con terneros recién nacidos. Se puede suministrar leche de vacas que no han dado positivo en las pruebas hasta que se realice el descarte correspondiente en el hato ganadero (Dubey, Hemphil, Calero-Bernal, & Schares, 2017).

2.7. Resumen del arte del estudio del problema

La neosporosis bovina, causada por el protozoo *Neospora caninum* es una enfermedad parasitaria que afecta principalmente al ganado bovino, resultando en importantes pérdidas económicas debido a abortos, mortinatos y terneros débiles. La trasmisión ocurre principalmente de madre a feto (vertical) y a través de la ingestión de ooquistes en heces de perros infectados (horizontal). La prevalencia de la infección varía geográficamente y puede alcanzar hasta el 50% en algunas regiones. El diagnostico se realiza mediante técnicas serológicas (ELISA), PCR y examen histopatológico. No existe un tratamiento efectivo, por lo que las medidas de control se

centran en el manejo reproductivo, la bioseguridad y el control de perros. La investigación futura busca desarrollar vacunas y mejorar las técnicas diagnósticas para mitigar la prevalencia y el impacto de esta enfermedad en la industria ganadera (Jara, 2012).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Físicos

Tabla 1. *Materiales de campo*

Descripción	Unidad de medida	Cantidad
Cooler	Unidad	1
Guantes estériles	Caja	2
Cámara digital	Unidad	1
Geles refrigerantes	Unidad	5
Overol	Unidad	1

Tabla 2. *Materiales de Laboratorio*

Descripción	Unidad de medida	Cantidad
Tubos vacutainer tapa roja	Unidad	162
Tubos eppendorf	Unidad	162
Guantes estériles	Unidad	6
Equipo lector Elisa	Unidad	1
Centrifugadora	Unidad	1
Pipetas de 50 μ l, 100 μ l	Unidad	1
Viales 1 ml	Paquete de 100	2
Puntas para pipeta de 50 μ l, 100 μ l	Unidad	
Compresas	Paquete	1
Mandil	Unidad	1
Mascarilla	Unidad	1
Cofias	Unidad	1

Tabla 3. *Materiales de oficina*

Descripción	Unidad de medida	Cantidad
Bolígrafo	Unidad	1
Laptop	Unidad	1
Cuaderno	Unidad	1

3.1.2. Biológicos

Tabla 4. *Biológicos*

Descripción	Unidad de medida	Cantidad
Kit Elisa de ID screem	Unidad	1
Sueros de Bovinos	Unidad	162
Personal de muestreo	Persona	1

3.2. Metodología

El estudio se llevó a cabo en la parroquia Nueva Tarqui, ubicada en el cantón Gualaquiza de la provincia de Morona Santiago, Ecuador. El análisis de las muestras recopiladas se realizó en el laboratorio de la clínica Polivet, que forma parte de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Cuenca.

El enfoque metodológico empleado en este estudio es descriptivo, de corte transversal, prospectivo, cuantitativo, dado que la recopilación de datos se realiza en un único punto temporal. Se empleará la técnica ELISA competitiva, para determinar la presencia de anticuerpos de *Neospora caninum* en el ganado de carne de la parroquia Nueva Tarqui, y en segunda instancia se calculó la prevalencia.

3.2.1. Diseño estadístico

En este estudio, debido a sus características no se llevaron a cabo análisis estadísticos paramétrico ni pruebas de significancia; en su lugar, se realizó un análisis objetivo basado en datos numéricos y proporcionales. Se clasifica como un estudio epidemiológico descriptivo, prospectivo

de corte transversal y causal. En primer lugar, se identifica la presencia de anticuerpos para el agente etiológico, y posterior se calcula su prevalencia en la población de estudio.

La fórmula para calcular la prevalencia de la Neosporosis (*Neospora caninum*), es:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Número de animales positivos a parasitos}}{\text{Número total de animales muestreados}} \times 100$$

3.2.2. Población y Muestra

La población intervenida en el proyecto consistió en bovinos ubicados en la parroquia Nueva Tarqui del cantón Gualaquiza. Se seleccionaron hembras destinadas a la producción de carne, sin importar si estaban gestando o no, y que tuvieran más de un año.

La población de estudio incluyó un total de 162 bovinos, a los cuales se les aplicó la técnica de ELISA competitiva. La selección de la muestra se fundamentó en el cálculo mínimo de la muestra, considerando una prevalencia esperada del 11.9%.

Para el cálculo de la prevalencia de *Neospora caninum* se empleó la formula TMM de muestreo Aleatorio Simple para poblaciones infinitas o no conocidas.

$$n = \frac{z^2 \cdot p \cdot q}{y^2}$$

Dónde:

- z = Nivel de confianza al 95% = 1.96
- p = Probabilidad de prevalencia.
- q = (1-p) Probabilidad que no ocurra el evento
- d = (5% = 0.05) Error estimado

En esta investigación se consideró el nivel de confianza de un 95% siendo Z:1.96, la prevalencia del 11.9% y el porcentaje de error será del 5%.

$$N = \frac{1,96^2 * (0,119)(0,881)}{0,05^2} = 162$$

Dentro del Tamaño Mínimo de muestra (TMM) es un total de 162 bovinos de carne. Se tomó muestras de 162 bovinos, que es el tamaño mínimo de la muestra requerido para completar y utilizar todo el reactivo disponible.

3.2.3. Toma de muestras

Se recolectaron muestras de un total de 162 animales en una ganadería ubicada en la parroquia de Nueva Tarqui. Cada muestra fue etiquetada con los datos correspondientes del animal y del ganadero para su identificación.

Para la recolección se utilizaron tubos vacutainer sin anticoagulante, agujas (21”11/2”), viales de plástico para depositar el suero, hoja de registro para animales muestreados, marcador para rotular los tubos y kit comercial ELISA.

La muestra de sangre se extrajo de la vena coccígea, femoral, yugular o mamaria con jeringa de 10 ml que se extraerá 7 ml, depositándola en tubo vacutainer sin coagulante de tapa roja de 10ml dejándola reposar de 30 a 45 minutos para la separación del suero.

El uso de las sogas es necesario porque no existe una manga donde vamos a tomar las muestras y dependiendo del temperamento del animal puede ser posible el uso de una nariguera.

En una hoja se registró todos los datos pertenecientes a los animales muestreados, tales como: hato del cual provenían, edad, número de identificación individual.

Las muestras se conservaron en un cooler con geles refrigerantes a 5°C. Serán transportadas al laboratorio de la Clínica Veterinaria Polivet, donde serán centrifugadas y almacenadas en un frigorífico.

3.2.4. Procedimiento de la muestra

Una vez obtenida la muestra se procedió a centrifugar a 3500 revoluciones por minuto en un tiempo de cinco minutos con el fin de separar los componentes y obtener suero. Con pipetas plásticas de 2ml se colocó suero en los tubos de eppendorf. Estas fueron congeladas a -20 grados centígrados, cada una fue rotulada de la misma manera según la numeración de la ficha, seguidamente se transportan a los laboratorios de Medicina Veterinaria de la Universidad Politécnica Salesiana POLIVET.

3.2.5. Preparación de la solución de lavado

La preparación de la solución de lavado se realizó en una proporción de 1 parte de la solución que viene en el kit de ELISA por cada 20 partes de agua destilada.

3.2.6. Procedimiento para realizar la técnica ELISA competitiva

Se realizó de acuerdo con el procedimiento dado por el Kits comercial ID Screen® *Neospora caninum* Competition ELISA Kit (INNOVATIVE DIAGNOSTICS, 2022).

1. En la microplaca de ELISA se agregó lo siguiente:
 - 50 ul de diluyente 14 a cada pocillo.
 - 50 ul del control positivo a los pocillos A1 y B1.
 - 50 ul del control negativo a los pocillos C1 y D1.
 - 50 ul de la muestra a ensayar en los pocillos restante.

2. Se cubrió la placa, para ser incubada por 45 min más o menos 4 min a 37°C. (más o menos 3°C)
3. Vaciar los pocillos, lavar cada pocillo 3 veces con al menos 300 ul la solución de lavado. Evitar que los pocillos se sequen entre los lavados.
4. Preparó el conjugado 1x haciendo una dilución 1:10 del conjugado concentrado 10x con diluyente 12.
5. Añadir 100ul del conjugado 1X en cada pocillo, con la ayuda de un multicanal.
6. Se cubrió la placa, para incubarlo por 30 minutos a 21°C.
7. Vaciar los pocillos. Lavar cada pocillo 3 veces con al menos 300 ul de la solución de lavado. Evitar que los pocillos se sequen entre los lavados.
8. Se colocó 100ul de la solución de revelación en cada pocillo.
9. Se cubrió la placa, para ser incubada por 15 minutos a 21°C, en la oscuridad.
10. Se colocó 100ul de la solución de parada en cada pocillo. En el mismo orden que en el paso 8, para detener la reacción.
11. Llevó al equipo de ELISA para realizar su lectura a una densidad óptica de 450nm.

3.2.7. Validación de la técnica de ELISA de acuerdo con la casa comercial

- La media del valor de la D.O. del control negativo es mayor que 0.7.

$$DO_{cn} > 0.7$$

- La razón de las densidades ópticas medias de los controles positivos y los controles negativos es menor a 0.3.

$$DO_{cp}/DO_{cn} < 0.3$$

3.2.8. Para realizar la interpretación.

En cada muestra se calculó el porcentaje de S/N (S/N%)

$$S/N\% = (DO \text{ muestra} / DO_{cn}) * 100$$

Los valores de S/N% se interpreta de la siguiente manera:

- Menor o igual que 50% son interpretadas como positivas.
- Mayor que 50% y menor o igual que 60% son interpretadas como dudosas.
- Mayor que 60% son interpretadas como negativas.

3.2.9. Variables de estudio

3.2.9.1. Variable independiente

Tabla 5. *Variables independientes: Animales*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Bovinos de Carne.	Biológico.	Número de animales hembras y machos.	Numérico. Milímetro

3.2.9.2. Variable dependiente

Tabla 6. *Variable dependiente: Prevalencia de anticuerpos mediante ELISA competitiva*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Presencia del parásito <i>Neospora caninum</i> .	Biológica. Suero Sanguíneo.	Volumen de suero, medición de anticuerpos. Presencia de <i>Neospora caninum</i> .	Número Mililitro (ml).

3.2.10. Consideraciones Éticas

Uno de los aspectos más importantes a considerar en esta investigación es la instrucción y capacitación adecuada para llevar a cabo la extracción de sangre de manera que sea lo menos dolorosa posible.

Es crucial que los implementos utilizados, como jeringuillas, tubos vacutainer y portaobjetos, se encuentren en condiciones óptimas y estén siempre estériles. Es fundamentalmente para prevenir cualquier riesgo de contagio o enfermedad para el paciente.

La forma en que se sujeta a los animales durante el procedimiento es fundamental, dado que están involucrados seres vivos que son sensibles al dolor. Es crucial asegurarse de emplear prácticas de sujeción que minimicen el estrés y el malestar durante el proceso.

Las consideraciones éticas en el manejo de animales son esenciales para asegurar su bienestar y el respeto por su vida. En el ámbito veterinario, estas consideraciones abarcan desde el trato humanitario y la minimización del sufrimiento hasta la toma de decisiones informadas sobre tratamientos médicos y quirúrgicos. La American Veterinary Medical Association (AVMA) enfatiza la importancia del bienestar animal, indicando que los veterinarios deben "abogar por la prevención y el alivio del sufrimiento animal" y "mantener el bienestar del animal como una prioridad principal" (AVMA, 2020). Además, el uso de animales en investigación y enseñanza debe seguir estrictas pautas éticas, garantizando que cualquier procedimiento invasivo se justifique y que se empleen alternativas cuando sea posible. La implementación de estas prácticas éticas no solo es una obligación profesional, sino también una responsabilidad moral que contribuye a la confianza del público en la profesión veterinaria. (AVMA, 2020).

4. RESULTADO Y DISCUSIÓN

4.1. Prevalencia total

Los resultados para *Neospora caninum* en el sector de Nueva Tarqui fueron negativos el 85,19% (138/162), dudosos con un 2,47% (4/162), y positivos con 12,35% (20/162) como se presenta en la tabla siete.

Según (Guaman, 2022) con el tema “Prevalencia de *Neospora caninum* en el cantón Guamote”, obtuvo una prevalencia del 15,22% (28/184) seropositivas a *N. caninum* mediante la prueba de ELISA indirecta en bovinos. Esta diferencia en las tasas de prevalencia podría deberse a que los lugares investigados tienen características geográficas distintas, incluyendo variaciones en la altitud y el clima. Es posible que la presencia del vector también varíe entre Guamote y la zona de Nueva Tarqui, ya que la primera pertenece a una región serrana y la segunda a una región amazónica.

Según (Gualan, 2021) realizó un estudio de *Neospora caninum* en la provincia de Sucumbios-Shushufindi mediante la ELISA competitiva. La investigación revela que, de un total de 90 hembras reproductoras mayores de tres años que han tenido al menos un parto seleccionadas de 10 predios representativos de la zona, 26 resultaron seropositivas, lo que representa una prevalencia del 29%, este porcentaje de prevalencia, que difiere de nuestros resultados, se debe a la crianza excesiva en condiciones donde hay factores que favorecen la transmisión o presencia del parásito en bovinos susceptibles.

En el trabajo investigativo realizado por (Cantos, 2021), titulado “Determinación de *Neospora caninum* en bovinos a faenar en el camal municipal del cantón San Miguel de los Bancos”, nos da

a conocer que la prevalencia del protozooario es de 3,33% de (4/120) resultaron positivos para *Neospora caninum* mediante el método de ELISA competitiva.

Tabla 7. *Prevalencia total*

PREVALENCIA TOTAL	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
Dudoso	4	2,47 %	0,68 %	6,20 %
Negativo	138	85,19 %	78,76 %	90,27 %
Positivo	20	12,35 %	7,71 %	18,42 %
Total	162	100,00 %		

4.2. Prevalencia por la Procedencia

De acuerdo con los datos presentados en la tabla ocho, la recolección de muestras se realizó en seis procedencias, la localidad con la mayor prevalencia de casos positivos es Ruinas el Cady con 45,00% (9/20), seguida por Florida 25,00% (5/20), Chico Manabí 10,00% (2/20), Buenos Aires 10,00% (2/20), Cady 5,00% (1/20) y finalmente Santa Rosa con el 5,00% (1/20). Además, se identificaron casos dudosos en Buenos aires con 50,00% (2/4), Chico Manabí 25,00% (1/4) y Ruinas el Cady 25,00% (1/4). Dada a la alta presencia de ganado de carne en estas localidades, estos resultados son relevantes para desarrollar estrategias de prevención de la enfermedad y controlar la entrada de caninos en los hatos ganaderos, al mismo tiempo se ha generado información nueva para que productores y veterinarios estén al tanto de la problemática.

Tabla 8. *Prevalencia por la Procedencia*

Procedencia	DUDOSO				NEGATIVO				POSITIVO			
	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
Buenos Aires	2	50,00 %	6,76 %	93,24 %	22	15,94 %	10,27 %	23,14 %	2	10,00 %	1,23 %	31,70 %
Cady	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	5	3,62 %	1,19 %	8,25 %	1	5,00 %	0,13 %	24,87 %
Chico Manabí	1	25,00 %	0,63 %	80,59 %	21	15,22 %	9,67 %	22,32 %	2	10,00 %	1,23 %	31,70 %
Florida	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	23	16,67 %	10,87 %	23,95 %	5	25,00 %	8,66 %	49,10 %
Ruinas el Cady	1	25,00 %	0,63 %	80,59 %	49	35,51 %	27,55 %	44,10 %	9	45,00 %	23,06 %	68,47 %
Santa Rosa	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	18	13,04 %	7,92 %	19,83 %	1	5,00 %	0,13 %	24,87 %
Total	4	100,00 %			138	100,00 %			20	100,00 %		

4.3. Prevalencia por sexo

De acuerdo con la tabla nueve el sexo más susceptible a esta enfermedad es en las hembras de 100% (4/4), mientras que en los machos muestreados no presentaron casos positivos. De acuerdo (Alvarado, 2022). En este estudio realizado en la sierra del Ecuador se evaluó animales de producción de leche, dando como resultados positivos 15,76% (29/184) de las muestras las cuales eran hembras indicando una mayor prevalencia en este género.

Así también (Cantos, 2021) menciona que en su estudio de 117 animales 4 fueron positivos con un porcentaje de 3,42%, siendo estas muestras de hembras, además se recogieron tres muestras de género macho en estas muestras el 100% (120/120) siendo negativo a *Neospora caninum*. Es importante mencionar que los estudios realizados por otros no consideran la población de machos, por lo que solo reportan prevalencia de hembras. En este estudio, aunque se muestrearon tres machos, la población de hembras sigue siendo mayor debido a las características de la producción de lechera, que prioriza la crianza de hembra, además, en Ecuador, los sistemas de reproducción en esta ganadera predominan el uso de monta natural, lo que hace que la población de toros sea prácticamente inexistente.

Tabla 9. *Prevalencia por sexo*

Sexo	DUDOSO				NEGATIVO				POSITIVO			
	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
Hembra	4	100,00 %	39,76 %	100,0 %	121	87,68 %	81,01 %	92,66 %	19	95,00 %	75,13 %	99,87 %
Macho	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	17	12,32 %	7,34 %	18,99 %	1	5,00 %	0,13 %	24,87 %
Total	4	100,00 %			138	100,00 %			20	100,00 %		

4.4. Prevalencia por la edad

Los animales se agruparon en cuatro rangos de edad, encontrándose casos positivos en tres diferentes edades. El grupo de mayor porcentaje es en vacas mayores a 25 meses con una prevalencia de 70,00% (14/20), a continuación, vaconas de 3 a 24 meses 25,00% (5/20), toro de 1 a 5 años 5,00% (1/20) y el grupo con ningún caso positivo es terneros de 8 a 9 meses. Además, se observa que existe casos dudosos en la edad de vacas mayores a 25 meses con la cantidad de 100% (4/4).

De acuerdo la investigación de (Alvarado, 2022) la prevalencia de alto porcentaje por edad está en vacas mayores a 25 meses correspondiendo al 77,29% (27/184) además se encontraron un caso sospechoso de una vaca de tres años. Según (Guaman, 2022) quien estudio una muestra de bovinos con un rango de 2-6 años de 152 bovinos con una prevalencia de 82,61% teniendo una alta seropositividad a este parásito.

Podemos afirmar que los rangos de edad considerados en este estudio son similares a los mencionados por otros autores. Es decir, la mayor prevalencia del parásito se encuentra en animales mayores de 25 meses o en producción. Los casos dudosos del estudio también se presentan en edades similares. Se observa que el parásito está presente en todos los grupos de edad analizado; sin embargo, los animales de mayor edad suelen mostrar una seroprevalencia más alta debido a que han tenido más oportunidades de entrar en contacto con el parásito.

Tabla 10. *Prevalencia por la Edad*

Edad	DUDOSO				NEGATIVO				POSITIVO			
	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
Ternero de 8 a 9 meses	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	5	3,62 %	1,19 %	8,25 %	0	0,00 %	0,00 %	16,84 %
Toro de 1 a 5 años	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	11	7,97 %	4,05 %	13,81 %	1	5,00 %	0,13 %	24,87 %
Vacas mayores a 25 meses	4	100,00 %	39,76 %	100,00 %	83	60,14 %	51,47 %	68,38 %	14	70,00 %	45,72 %	88,11 %
Vaonas de 3 a 24 meses	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	39	28,26 %	20,93 %	36,55 %	5	25,00 %	8,66 %	49,10 %
Total	4	100,00 %			138	100,00 %			20	100,00 %		

4.5. Prevalencia por raza

De acuerdo con la tabla 11 los resultados obtenidos a partir de las diferentes razas muestran que el 100% (19/20) de los resultados fueron positivos que provienen de la raza Charolais indicando una mayor posición de toma de muestra, Según (Punin, 2022) su investigación realizó en ganados de fenotipo leche con diferentes razas siendo de mayor prevalencia Holstein F1 con el 86,11% (31/36). Según (Guaman, 2022) el trabajo investigativo realizado determino que la raza Jersey tenía la prevalencia de 7,07% (13/18). Indicando que la raza de fenotipo carne Charolais y Angus necesita más estudios investigativos sobre la prevalencia a *Neospora caninum* ya que los autores anteriores más se basan en razas de fenotipo leche.

Tabla 11. *Prevalencia por la raza*

Raza	DUDOSO				NEGATIVO				POSITIVO			
	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
Angus	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	0	0,00 %	0,00 %	2,64 %	1	5,00 %	0,13 %	24,87 %
Rojo												
Charolais	4	100,00 %	39,76 %	100,00 %	138	100,00 %	97,36 %	100,00 %	19	95,00 %	75,13 %	99,87 %
Total	4	100,00 %			138	100,00 %			20	100,00 %		

4.6. Prevalencia por el tipo de reproducción

Para evaluar la prevalencia se basó en cuatro tipos de reproducción dando que la inseminación artificial tiene un bajo porcentaje de casos positivos 10% (2/20), la reproducción mixta presenta un ningún caso positivo, en cambio la transferencia de embriones no presenta casos positivos, en la monta natural muestra la mayor prevalencia de casos positivos 90% (18/20). Para la reproducción del hato ganadero, es importante considerar que este grupo es el más susceptible y expuesto, ya que la transmisión puede ocurrir durante la monta. Si el semental utilizado está infectado, existe la posibilidad de que transmita la enfermedad.

Según (Alvarado, 2022) en su investigación trabajó con tres tipos de reproducción; inseminación artificial, mixta y la monta natural, teniendo una alta prevalencia con un porcentaje de 60,00% (3/5) para la última categoría. Al tener iguales los resultados de la investigación y con este autor, la reproducción más susceptible a esta enfermedad es mediante la monta natural porque es la que más se maneja dentro de la zona de estudio, siendo un factor de alto riesgo que pueden llegar a contagia a los demás animales.

Tabla 12. *Prevalencia por el tipo de reproducción*

Tipo de reproducción	DUDOSO				NEGATIVO				POSITIVO			
	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
Inseminación artificial	1	25,00 %	0,63 %	80,59 %	14	10,14 %	5,66 %	16,44 %	2	10,00 %	1,23 %	31,70 %
Mixta	2	50,00 %	6,76 %	93,24 %	9	6,52 %	3,03 %	12,02 %	0	0,00 %	0,00 %	16,84 %
Monta Natural	1	25,00 %	0,63 %	80,59 %	113	81,88 %	74,43 %	87,92 %	18	90,00 %	68,30 %	98,77 %
Transferencia de embriones	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	2	1,45 %	0,18 %	5,14 %	0	0,00 %	0,00 %	16,84 %
Total	4	100,00 %			138	100,00 %			20	100,00 %		

4.7. Prevalencia por el número de partos

De acuerdo con la tabla 13 existen diferentes números de partos en los bovinos llegando así una interpretación de datos de cuatro a ocho partos no hay casos dudosos en los grupos de cuatro, cinco, seis y ocho partos, en negativos decrecen progresivamente desde 5,7% (7/138) en cuatro partos a 1,45% (2/138) en ocho partos, no hay casos positivos en estos grupos. En bovinos de siete partos el 75% (3/4) son dudosos, en cambio el 5,00% (1/20) son positivos, Por lo tanto, los altos porcentajes de positivos y negativos se observan en los bovinos con partos de cero, uno y dos partos, en altos porcentajes de casos dudoso se observan en bovinos con un parto y siete partos.

De acuerdo la investigación de (Punin, 2022) realizo un estudio de prevalencia de *Neosporosis caninum* por número de partos siendo que bovinos de dos partos conlleve un alto porcentaje de 58,33% (21/36) que de los demás partos inferiores o superiores a la cifra de partos.

Dado que este estudio nuevo en relación con el número de partos de cada animal, podemos afirmar que a medida que un animal tiene más preñeces, la probabilidad de contraer patógenos aumenta. Por el contrario, cuanto más joven es la ternera, menor es el riesgo. Por lo tanto, es posible prevenir la enfermedad mediante la implementación de medidas adecuadas de bioseguridad.

Tabla 13. *Prevalencia por el número de partos*

Partos	DUDOSO				NEGATIVO				POSITIVO			
	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
0	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	56	40,58 %	32,31 %	49,26 %	6	30,00 %	11,89 %	54,28 %
1	1	25,00 %	0,63 %	80,59 %	24	17,39 %	11,47 %	24,76 %	4	20,00 %	5,73 %	43,66 %
2	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	21	15,22 %	9,67 %	22,32 %	7	35,00 %	15,39 %	59,22 %
3	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	13	9,42 %	5,11 %	15,57 %	2	10,00 %	1,23 %	31,70 %
4	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	7	5,07 %	2,06 %	10,17 %	0	0,00 %	0,00 %	16,84 %
5	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	4	2,90 %	0,80 %	7,26 %	0	0,00 %	0,00 %	16,84 %
6	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	10	7,25 %	3,53 %	12,92 %	0	0,00 %	0,00 %	16,84 %
7	3	75,00 %	19,41 %	99,37 %	1	0,72 %	0,02 %	3,97 %	1	5,00 %	0,13 %	24,87 %
8	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	2	1,45 %	0,18 %	5,14 %	0	0,00 %	0,00 %	16,84 %
Total	4	100,00 %			138	100,00 %			20	100,00 %		

4.8. Prevalencia por problemas reproductivos

Según la tabla 14 la interpretación de los siguientes datos basados a bovinos con o sin problemas reproductivos donde la gran mayoría de los bovinos sin problemas reproductivos tienden a ser negativos para *Neospora caninum*. En bovinos con problemas reproductivos tienen un porcentaje significativamente más bajo de resultados positivos 10,00% (2/20) lo que sugiere que los problemas reproductivos pueden estar asociados con la presencia de *Neospora caninum*.

Según (Bernardi & Cueva, 2015) en su investigación en el cantón Cuenca, se menciona que la enfermedad tiene una mayor probabilidad de presentarse en hembras bovinas con antecedentes reproductivos, independientemente de su edad, raza o procedencia. También es importante señalar que los problemas reproductivos reportados en estos animales pueden ser causados por agentes etiológico diferentes al estudio de investigación.

Tabla 14. *Prevalencia por problemas reproductivos*

Problemas reproductivos	DUDOSO				NEGATIVO				POSITIVO			
	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
NO	2	50,00 %	6,76 %	93,24 %	116	84,06 %	76,86 %	89,73 %	18	90,00 %	68,30 %	98,77 %
SI	2	50,00 %	6,76 %	93,24 %	22	15,94 %	10,27 %	23,14 %	2	10,00 %	1,23 %	31,70 %
Total	4	100,00 %			138	100,00 %			20	100,00 %		

4.9. Prevalencia por presencia de caninos

De acuerdo con la tabla 15 consiste en la prevalencia de la cantidad de caninos con los resultados muestran variabilidad en la distribución de casos dudosos y positivos en función de la presencia de caninos en la finca, la mayor proporción de casos positivos 35,00% (7/20) se observa en fincas con dos caninos seguida por fincas con cuatro caninos 25,00% (5/20), la presencia de caninos parece estar asociada con una mayor seroprevalencia de *Neospora caninum*, aunque la variabilidad y los intervalos de confianza amplios en algunos grupos indican la necesidad de más estudios para confirmar estas observaciones.

Tabla 15. *Prevalencia por presencia de caninos en las fincas*

Presencia de caninos en la finca	DUDOSO				NEGATIVO				POSITIVO			
	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
0	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	6	4,41 %	1,64 %	9,36 %	2	10,00 %	1,23 %	31,70 %
2	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	28	20,59 %	14,14 %	28,36 %	7	35,00 %	15,39 %	59,22 %
3	0	0,00 %	0,00 %	60,24 %	5	3,68 %	1,20 %	8,37 %	1	5,00 %	0,13 %	24,87 %
4	2	50,00 %	6,76 %	93,24 %	37	27,21 %	19,93 %	35,50 %	5	25,00 %	8,66 %	49,10 %
5	1	25,00 %	0,63 %	80,59 %	39	28,68 %	21,25 %	37,05 %	3	15,00 %	3,21 %	37,89 %
11	1	25,00 %	0,63 %	80,59 %	21	15,44 %	9,82 %	22,63 %	2	10,00 %	1,23 %	31,70 %
Total	4	100,00 %			136	100,00 %			20	100,00 %		

3. Conclusiones y recomendaciones

3.1. Conclusiones

Este estudio se llevó a cabo utilizando muestras de ganado bovino de la parroquia Nueva Tarqui en el cantón Gualaquiza de la Provincia de Morona Santiago. Se utilizó la Técnica de ELISA competitiva para identificar anticuerpos contra *Neospora caninum*, un método reconocido por su seguridad y fiabilidad. Se encontró que el 12,35% (20/162) de las muestras fueron positivas para anticuerpos, mientras que un 2,47% (4/162) mostraron resultados dudosos.

Con respecto al sexo del animal, el 100% de los casos positivos correspondieron a hembras, lo que confirma que las vacas en producción son más susceptibles al parásito. En contraste, no se encontraron casos positivos en los machos estudiados.

El porcentaje más alto, en cuanto a la edad de los animales, corresponde a aquellos que tiene más de 25 meses, es decir, vacas de dos años en adelante. Esto se debe a que muchas de ellas ya tienen una vida reproductiva activa.

3.2. Recomendaciones

Establecer programas regulares de monitoreo serológico en el ganado bovino para detectar la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum*, especialmente en áreas con historial de prevalencia elevada.

Implementar medidas efectivas para controlar la presencia de perros y otros posibles vectores que puedan transmitir *Neospora caninum* a ganado bovino, como vallas perimetrales y programas de desparasitación canina y bovina.

Educar a los ganaderos y trabajadores del sector sobre prácticas de manejo adecuadas que puedan reducir el riesgo de infección por *Neospora caninum*, incluyendo la eliminación segura de fetos abortados y placenta.

Identificar variables para hacer estudios de asociación y medios de impactos de ellos para la generación de la enfermedad

4. Bibliografía

- Aguilar, R., & Benito, A. (2006). Seroprevalencia del virus de la diarrea viral bovina en ganado lechero de crianza intensiva del valle. (*Tesis de grado*). Universidad Nacional Mayor de San Marcos Universidad de Perú, Lima, Perú.
- Alvarado, M. (2022). Prevalencia Neospora caninum bovinos de leche mediante, la técnica de ELISA indirecta. (*Tesis de grado*). Universidad Politecnica Salesiana, Cuenca.
- Ancha, P., & Szyfres, B. (2001). *Zoonosis Y Enfermedades Transmisibles Comunes Al Hombre Y a Los Animales* (Vol. 1). Washington: Organización Panamericana de la Salud.
- AVMA. (2020). *Guidelines for the euthanasia of animals*. Obtenido de American Veterinary Medical Association: <https://www.avma.org/resources-tools/avma-policies/avma-guidelines-euthanasia-animals>
- Azpilicueta, J. (2014). Metodología para el diagnóstico de la tricomoniasis bovina y estudio de la prevalencia en la zona urbana y Andia. (*Tesis de grado*). Universidad Pública de Navarra, Pamplona.
- Bennett, J., Blaser, M., & Dolin, R. (2006). *Mandell, Douglas y Bennett. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica*. Barcelona: Elsevier - Health Sciences Division.
- Bernardi, C., & Cueva, M. (2015). Prevalencia de anticuerpos a Neospora caninum en hatos de bovinos lecheros en tres parroquias del cantón Cuenca, Ecuador. *MASKANA*, 6, 213-214. Obtenido de <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/681>

- Cantos, M. (2021). DETERMINACIÓN DE *Neospora caninum* EN BOVINOS A FAENAR EN EL CAMAL MUNICIPAL DEL CANTÓN SAN MIGUEL DE LOS BANCOS. (*Tesis de grado*). Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil.
- Cárdenas, Z. (2018). La brucelosis bovina y sus factores de riesgo: evaluación a nivel municipal y en Colombia. (*Tesis doctoral*). Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona.
- Cebrian, L., & Barberan, M. (2003). *Neosporosis y aborto en el ganado bovino. Dpto. de patología animal*. Zaragoza: Facultad de Veterinaria Zaragoza.
- CORPOICA. (2002). *Nutrición y alimentación de bovinos en el trópico bajo colombiano*. Bogotá: CORPOICA.
- Cseh, S. (2015). Deficiencia de minerales en bovinos para carne, diagnóstico caracterización y control. *Maskana*, 6, 143-148.
- Cuervo, S. (2017). Programa de monitoreo de Diarrea Viral Bovina (DVB) y Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) en leche de tanque. (*Tesis de grado*). Corporación Universitaria Lasallista, Caldas.
- Dubey, J. P., Hemphill, A., Calero-Bernal, R., & Schares, G. (2017). *Neosporosis in Animals*. CRC Press: Boca Raton, FL.
- Duque, D., Ramón, J., & Abreu, A. (2014). Aspectos sobre rinotraqueítis infecciosa bovina. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*, 3(1), 71.
- Figuroa, M. (1984). *Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica*. San José, Costa Rica : Editorial Universidad Estatal a Distancia.

- Galeano, C. (2018). Evaluacion del efecto matriz en un Ensayo de ELISA competitivo usando muestras clinicas para la detección del biomarcador. (*Título de grado*). Universidad EIA (Ingenieria Biomédica Envigado), Antioquia, Colombia .
- García, I., & Zafra, R. (2019). *Enfermedades infectocontagiosas en rumiantes manuales clínicos de veterinaria*. Barcelona: Elsevier Health Sciences.
- Google earth. (2023).
- Granados, S., Rivera, H., Casas, E., Suárez, F., Arana, C., & Chávez, A. (2014). Seroprevalencia de Neospora caninum en bovinos lecheros de cuatro distritos del Valle del Mantaro, Junín. *Revistas de investigaciones Veterinarias del Perú*, 25(1), 58-64.
- Granillo, G., & Martínez, J. (2008). DETERMINACIÓN SEROLÓGICA DE Neospora caninum EN Canis domesticus EN TRES GANADERÍAS LECHERAS DEL DEPARTAMENTO DE SONSONATE, DE EL SALVADOR. (*Tesis de grado*). Universidad de el Salvador, El Salvador. Obtenido de UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/1593/1/13100621.pdf>
- Gualan, A. (2021). Determinación de la Incidencia de Neospora caninum en Bovinos en el Trópico Húmedo (Provincia Sucumbíos - Shushufindi). (*Tesis de grado*). Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, Ecuador.
- Guaman, M. (2022). Prevalencia de Neospora caninum en bovinos en el cantón Guamote. (*Tesis de grado*). Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador.

- Gutiérrez, J., Palomares, G., Hernández, E., Leyva, J., Díaz, E., & Herrera, E. (2017). Enfermedades abortivas de los bovinos: Un problema económico y de salud en Oaxaca, México. *Abanico veterinario*, 10, e114. doi:<https://doi.org/10.21929/abavet2020.22>
- INNOVATIVE DIAGNOSTICS. (5 de octubre de 2022). *ID Screen® Neospora caninum Competition*. Obtenido de Innovative Diagnostics: <https://www.innovative-diagnostics.com/produit/id-screen-neospora-caninum-competition/>
- Jara, A. (2012). Detección de Anticuerpos contra *Neospora caninum* en búfalos del Perú. (*Tesis de grado*). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.
- Lewis, R. (2002). EL ABORTO EN EL GANADO DE CARNE. *El Sitio de la Producción Animal*, 65(628), 106-108.
- Macchi, M. (2019). Estudio epidemiológico de la neosporosis bovina del rodeo lechero en el Uruguay. (*Tesis de maestría*). Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Veterinaria, Uruguay.
- Magaña-Urbina, A., Solorio Rivera, J. L., & Segura-Correa, J. (2005). Rinotraqueitis infecciosa bovina en hatos lecheros de la región Cotzio-Téjaro, Michoacán, México. *Tecnica pecuaria en México*, 43(1), 27-37.
- Mainato, S. (2011). Neosporosis bovina. (*Tesis de grado*). Universidad de Cuenca, Cuenca.
- Márquez, D. (2003). *Nuevas Tendencias para el Control de los Parasitos de Bovinos en Colombia*. Bogotá: CORPOICA.
- Márquez, D. (2003). *Nuevas tendencias para el control del parasitos de bovinos en Colombia*. Bogotá: CORPOICA.

- Martínez, J., Schwerter, F., & Urrutia, N. (2018). Neosporosis bovina: signos clínicos, diagnóstico, prevención y control. *Instituto de investigaciones agropecuarias INIA REMEHUE*, 1-2.
- Martinov, S. (2017). *Q Fever*. Denmark: River Publishers.
- Miller, R. B. (1995). *Patología de la reproducción en el ganado vacuno*. España: Gobierno Vasco = Eusko Jaurlaritza.
- Ministro de Agricultura. (2010). Rinotraqueitis infecciosa Bovina. *SAG Ministerio de Agricultura*, 2. Obtenido de Rinotraqueitis infecciosa Bovina: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/f_tecnica_rinotraqueitis_infecciosa_bov.pdf
- Moles, L. P., & Dolores, R. (2002). Estudio serológico de leptospirosis bovina en Mexico. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 54(1), 24-27.
- Morales, E. (2016). *NEOSPOROSIS BOVINA: CONTROL Y PREVENCION*. Argentina: Sitio Argentino de Producción Animal. Obtenido de http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/bovinos/sanidad/enf_repro/NC2002.pdf.
- Muñoz, A. L., Motta-Delgado, P. A., Herrera, W., Polania, R., & Cháves, L. C. (2020). Prevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en el departamento del Caquetá, Amazonía Colombiana. *Red Med Vet ZOOT*, 67(1), 9-16.
- Nelson, R., & Couto, G. (2020). *Medicina interna de pequeños animales, 6a edición*. Zaragoza: Grupo Asis.
- Odriozola, E. (2001). *Leptospirosis*. Argentina: Estación Experimental Agropecuaria Balcarce INTA.

- Parrado, S. (2016). Prevencion de la neosporosis Bovina en Colombia. *ZOOCIENICA*, 3(2), 49-55.
- Peña Cortes, L. F. (2019). ESTUDIO SEROLÓGICO DE DIARREA VIRAL BOVINA EN LA MICRORREGIÓN DEL VALLE DEL CESAR. *Revista MVZ Cordoba*, 1, 309-312.
- Punin, H. (2022). Prevalencia de Neospora caninum en bovinos fenotipo lecheros mediante analisis de ELISA indirecto. (*Trabajo de titulación*). Universidad Politecnica Salesiana, Cuenca.
- Rodríguez , M., & Geovanny, E. (2003). Prevalencia de Brucelosis, tuberculosis, leptospirosis y antrax en los bovinos faenados en los camales de el Empalme, Pichinca y Quevedo desde 2001 a 2003. (*Tesis de grado*). Universidad Tecnica de Manabí, Manabi, Ecuador .
- Santana, O. I., Cruz-Vázquez, C., Medina-Esparza, L., Parra, M. R., Morales, C. C., & Gallardo, D. Q. (2010). Neospora caninum: Detección de ADN en sangre durante la primera gestación de vaquillas infectadas naturalmente. *Scielo México*, 41(2), 131-137.
- Serrano, A. (1993). *Conceptos sobre reproducción en bovinos*. Costa Rica: Orton IICA /CATIE.
- Sykes, J. E. (2014). *Neosporosis. En: Canine and Feline Infectious Diseases. Primera edición*. Barcelona, España: Editorial Elseiver. .
- Toman, R., Heinzen, R., Samuel, J., & Luis Mege, J. (2012). *Coxiella Burnetii: Recent Advances and New Perspectives in Research of the Q Fever Bacterium*. New York: Springer.
- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología*. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana.

- Williams, D. &. (1999). Evaluation of a commercial ELISA for detecting serum, antibody to *Neospore caninum* in cattle. *Vet. Record*, 145(20), 571-575.
- Winter, A., Line, S., & Aiello, S. (2023). *Manual Merck de Veterinaria*. Rahway, NJ: Grupo Asis.
- Zárate, J., Rosete, J., Ríos, A., Barradas, F., & Olazarán, S. (2014). Prevención de la leptospirosis en ranchos de la zona centro de Veracruz. *Nova Scientia*, 7(14), 202-217.

5. ANEXOS

Tabla 9. *Ubicación de las muestras bovinas en la microplaca.*

RESULTADOS DEL EQUIPO DE ELISA																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
A	-	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85	93	101	109	117	125	133	141	149	157
B	-	6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86	94	102	110	118	126	134	142	150	158
C	+	7	15	23	31	39	47	55	63	71	79	87	95	103	111	119	127	135	143	151	159
D	+	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	95	104	112	120	128	136	144	152	160
E	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89	97	105	113	121	129	137	145	153	161
F	2	10	18	26	34	41	50	58	66	74	82	90	98	106	114	122	130	138	146	154	162
G	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91	99	107	115	123	131	139	147	155	163
H	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84	92	100	108	116	124	132	140	147	156	164

Tabla 10. Resultados del equipo de ELISA.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
A	0,242	1,488	1,208	1,517	1,089	1,374	1,308	0,292	1,670	1,248	0,137	1,525	1,714	1,513	1,675	1,486	1,628	0,144	1,655	1,675	1,688
B	0,116	1,329	1,189	1,312	1,285	1,511	1,096	1,170	1,468	1,097	0,179	1,411	1,367	1,360	1,852	1,484	1,159	1,533	1,476	0,740	0,192
C	1,401	0,213	1,308	1,271	1,176	1,304	0,321	1,278	1,489	1,072	0,981	1,313	0,957	1,280	1,292	1,623	1,328	0,706	1,292	1,486	1,680
D	1,318	1,354	1,127	1,140	1,127	1,239	1,237	1,203	0,249	1,086	1,187	0,120	1,355	1,400	1,541	1,460	0,172	1,647	1,642	0,137	1,287
E	1,365	1,418	1,374	1,229	0,842	1,360	1,542	1,354	1,155	0,933	1,236	1,284	1,602	0,917	1,284	1,346	1,075	1,213	0,986	1,004	0,493
F	1,384	1,319	0,814	0,814	1,111	0,124	1,274	1,229	0,167	0,632	1,102	1,254	1,296	0,164	1,234	1,260	1,047	1,472	1,081	1,406	1,367
G	1,048	0,218	1,156	1,156	1,341	1,630	1,446	1,317	1,462	0,160	0,878	0,510	0,622	1,345	0,968	0,412	1,095	1,356	1,080	1,290	0,127
H	1,557	1,339	1,430	1,430	1,184	1,307	1,253	1,503	1,380	1,296	1,265	1,429	1,850	1,263	1,544	1,614	1,062	1,453	1,130	1,024	1,579

Tabla 11. Resultados ya transformados con la fórmula que nos da el propio kit de ELISA INDIRECTO.

RESULTADOS DE ELISA																					
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
A	16,892	103,862	84,318	105,886	76,012	95,905	91,298	20,382	116,566	87,110	9,563	106,445	119,637	105,607	116,915	103,723	113,634	10,051	115,519	116,915	117,822
B	8,097	92,764	82,992	91,577	89,693	105,468	76,501	81,666	102,466	76,570	12,494	98,488	95,416	94,928	129,269	103,583	80,898	107,003	103,025	51,652	13,402
C	97,790	14,867	91,298	88,716	82,085	91,019	22,406	89,204	103,932	74,826	68,474	91,647	66,799	89,344	90,181	113,285	92,694	49,279	90,181	103,723	117,264
D	91,996	94,509	78,664	79,572	78,664	86,482	86,342	83,969	17,380	75,803	82,852	8,376	94,579	97,720	107,562	101,908	12,006	114,960	114,611	9,563	89,832
E	95,277	98,976	95,905	85,784	58,772	94,928	107,631	94,509	80,619	65,123	86,273	89,623	111,819	64,007	89,623	93,951	75,035	84,667	68,823	70,079	34,411
F	96,603	92,066	56,817	56,817	77,548	8,655	88,925	85,784	11,657	44,114	76,919	87,529	90,461	11,447	86,133	87,948	73,081	102,745	75,454	98,139	95,416
G	73,150	15,216	80,689	80,689	93,602	113,774	100,931	91,926	102,047	11,168	61,284	35,598	43,416	93,881	67,566	28,758	76,431	94,649	75,384	90,042	8,865
H	108,678	93,462	99,814	99,814	82,643	91,228	87,459	104,909	96,324	90,461	88,297	99,744	129,130	88,157	107,771	112,657	74,128	101,419	78,874	71,475	110,214

5.1. Anexos Fotos

Foto 1. Centrifugación y obtención de suero sanguíneo



Foto 2. Kit de ELISA competitiva



Foto 3. Pipeteo de sueros de bovinos



Foto 3. Preparación de solución de lavado



Foto 4. Pipeteo de muestras en microplaca previo a la lectura en equipo

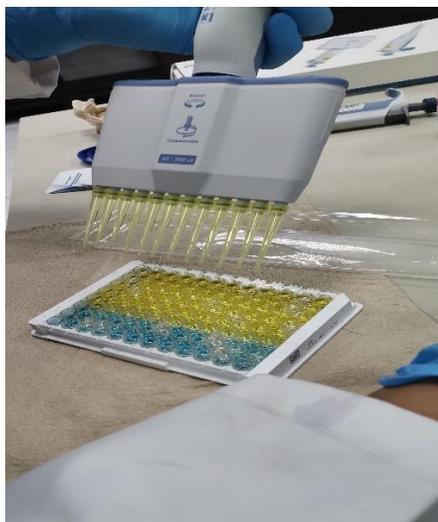


Foto 5. Lectura en el equipo de Elisa



