



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE CUENCA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**“PREVALENCIA DE *Neospora caninum* EN CANINOS EN PARROQUIAS RURALES
DEL CANTON AZOGUES MEDIANTE ELISA COMPETITIVO”**

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

AUTOR: PEDRO FERNANDO GONZÁLEZ GONZÁLEZ

TUTOR: ING. MAURICIO XAVIER SALAS RUEDA, MSc.

Cuenca - Ecuador

2024

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

Yo, Pedro Fernando González González con documento de identificación N° 0703974485,
manifiesto que:

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

Cuenca, 22 de julio del 2024

Atentamente,



Pedro Fernando González González

0703974485

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

Yo, Pedro Fernando González González con documento de identificación N° 0703974485, 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 caninos en parroquias rurales del cantón Azogues mediante ELISA competitivo”, 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, suscrito este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 22 de julio del 2024

Atentamente,



Pedro Fernando González González

0703974485

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 CANINOS EN PARROQUIAS RURALES DEL CANTÓN AZOGUES MEDIANTE ELISA COMPETITIVO”, realizado por Pedro Fernando González González con documento de identificación N° 0703974485, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 22 de julio del 2024

Atentamente,



Ing. Mauricio Xavier Salas Rueda, MSc.

0603329681

DEDICATORIA

El presente trabajo experimental está dedicado para mis padres Efrén Gonzalez y Delia Gonzalez, ya que han sido un pilar fundamental en toda esta trayectoria académica y sobre todo porque siempre estuvieron apoyándome y dándome ánimos para seguir adelante.

Así también está dedicada a mis hermanos Efrén Gonzalez y Edison Gonzalez, porque durante todo este tiempo me han apoyado y me han aconsejado para seguir un camino de bien y poder cumplir mis metas establecidas.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a mis padres Efrén González y Delia González, por su apoyo incondicional, por los consejos y por toda la enseñanza que me han brindado en toda mi vida y formar la persona que soy hoy en día.

Agradecer a mis hermanos Efrén González y Edison González, por todos los ánimos y consejos de vida que me han brindado, así mismo como el apoyo en todo este tiempo para que pueda conseguir mi formación profesional que he anhelado.

A mis amigos y compañeros por compartir experiencias todo este tiempo académico y así mismo por ayudarme a complementar mi formación académica.

Agradecer a todos mis docentes que fueron un pilar fundamental en mi formación académica y que me han brindado la ayuda necesaria para poder llegar hasta donde estoy.

INDICE

RESUMEN.....	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCIÓN	14
1.1 Problema.....	15
1.2 Delimitación	15
1.2.1 Espacial	15
1.2.2 Temporal	16
1.2.3 Académica.....	16
1.3 Explicación del problema	16
1.4 Objetivos.....	16
1.4.1 Objetivo general.....	16
1.4.2 Objetivo específico	17
1.5 Hipótesis	17
1.5.1 Hipótesis nula.....	17
1.5.2 Hipótesis alternativa.....	17
1.6 Fundamentación Teórica	17
2. REVISION Y ANALISIS BIBLIOGRAFICO	18
2.1 Generalidades	18
2.2 Etiología y Taxonomía	18
2.3 Morfología.....	19

2.4	Epidemiología.....	20
2.5	Ciclo biológico	21
2.6	Hospedadores.....	21
2.7	Transmisión	22
2.8	Signos clínicos.....	22
2.9	Diagnostico.....	23
2.10	Tratamiento.....	24
2.11	Prueba de ELISA	25
2.12	Tipos de ELISA	26
2.13	ELISA Directo	26
2.14	ELISA Indirecto	27
2.15	ELISA Sándwich	28
2.16	ELISA Competitivo.....	29
2.17	Resumen del estado del arte del estudio del problema.....	30
3.	MATERIALES Y METODOS	32
3.1	Materiales	32
3.1.1	Materiales de oficina	32
3.2	Metodología.....	34
3.3	Análisis estadístico.....	34
3.4	Población y muestra.....	34
3.5	Procedimiento de campo	35

3.6	Procedimiento de laboratorio.....	35
3.6.1	Preparación de las muestras.	35
3.6.2	Preparación de la solución de lavado.	36
3.6.3	Procedimiento de ensayo de incubación corta.	36
3.7	Operacionalización de variables:.....	38
3.8	Consideraciones éticas.....	39
4.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	41
4.1.	<i>Prevalencia total</i>	41
4.1.	<i>Prevalencia por la Edad</i>	43
4.2	<i>Prevalencia por el lugar de origen</i>	45
4.3	<i>Prevalencia por raza</i>	47
4.4	<i>Prevalencia por sexo</i>	50
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
5.1	Conclusiones.....	51
5.2	Recomendaciones	51
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	52
	Trabajos citados.....	52
7.	ANEXOS.....	56

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales de oficina.	32
Tabla 2. Materiales de laboratorio.....	32
Tabla 3. Materiales de campo.	33
Tabla 4. Materiales químicos.	33
Tabla 5. Materiales biológicos.	34
Tabla 6. Variables independientes	38
Tabla 7. Variables dependientes.....	39
Tabla 8. Cuadro de prevalencia total: Cojitambo, Guapán y Luis Cordero	41
Tabla 9. Prevalencia por edad.	43
Tabla 10. Prevalencia por el lugar de origen.....	45
Tabla 11. Prevalencia por raza.	47
Tabla 12. Prevalencia por sexo.	50

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. ELISA Directo	27
Figura 2. ELISA Indirecto.....	28
Figura 3. ELISA Sándwich	29
Figura 2. Toma de muestras.	56
Figura 3. Muestras sanguíneas etiquetadas.	56
Figura 4. Plasma sanguíneo etiquetados.....	57
Figura 5. Kit de ELISA competitivo.	57
Figura 6. Muestras corridas con el kit de ELISA competitivo.	58
Figura 7. Equipo de ELISA.....	58
Figura 8. Registro de muestras Cojitambo.	59
Figura 9. Registro de muestras San Marcos/Luis Cordero.....	60
Figura 10. Registro de muestras Guapán.....	61

RESUMEN

La Neosporosis es una enfermedad que afecta directamente al ganado bovino pero con la utilización de un huésped definitivo para su propagación que en este caso es el perro; por lo que es de vital importancia realizar una detección de este parásito en dichos huéspedes que estén relacionados directamente con ganado bovino, por ello se vio la importancia de realizar un estudio de prevalencia de *Neospora caninum* en caninos para así determinar si presentan anticuerpos a cuyos pacientes que no han presentado síntomas clínicos en las parroquias rurales de Azogues como son: Guapán, Cojitambo y San Marcos/Luis Cordero. Para esta investigación se ha determinado realizar el estudio en 100 pacientes los cuales han sido separados de acuerdo con la zona, edad y sexo del animal, las muestras se procesaron mediante la técnica de ELISA competitivo con la utilización del “Kit de ELISA ID Screen *Neospora caninum* Competition – NCC”. Dando como resultado, una prevalencia baja, ya que, se obtuvo 2 de muestras positivas las cuales pertenecían a la parroquia San Marcos las cuales generan una prevalencia de 5,88% de las muestras pertenecientes a dicha parroquia lo que quiere decir que es una prevalencia general de 2% de las muestras recogidas para la realización de este trabajo.

Palabras claves: *Neospora caninum*, ELISA, prevalencia, caninos.

ABSTRACT

Neosporosis is a disease that directly affects cattle but with the use of a definitive host for its spread, which in this case is the dog; Therefore, it is vitally important to detect this parasite in these hosts that are directly related to cattle, which is why it was important to carry out a study of the prevalence of *Neospora caninum* in canines in order to determine if they present antibodies to whose patients. who have not presented clinical symptoms in the rural parishes of Azogues such as: Guapán, Cojitambo and San Marcos/Luis Cordero. For this research, it has been determined to carry out the study in 100 patients who have been separated according to the area, age and sex of the animal, the samples were processed using the competitive ELISA technique with the use of the “Elisa Kit ID Screen *Neospora caninum* Competition – NCC”. Resulting in a low prevalence, since 2 positive samples were obtained which belonged to the San Marcos parish, which generates a prevalence of 5.88% of the samples belonging to said parish, which means that it is a prevalence general of 2% of the samples collected to carry out this work.

Key words: *Neospora caninum*, ELISA, prevalence, canines.

1. INTRODUCCIÓN

Para generar una producción ganadera adecuada, debemos mantener a nuestros animales en condiciones óptimas de salud, para ello se debe estar pendiente sobre cada una de las enfermedades que afectan, una de las enfermedades que más afectan es la neosporosis cuya enfermedad afecta al sistema reproductor del ganado bovino provocando lo que son abortos.

N. caninum, un protozoo relacionado con *Toxoplasma gondii*, fue inicialmente identificado en Noruega en 1984 por Bjerkås y colegas. Este hallazgo surgió de la observación de quistes similares a los de *T. gondii* en perros afectados por trastornos neurológicos graves, como meningoencefalomielitis y miositis. La descripción inicial de esta especie marcó un hito importante en la comprensión de las enfermedades parasitarias en animales, especialmente en perros. (Arraz, 2016)

Cabe destacar que la transmisión de este parásito es de forma horizontal utilizando como hospedero definitivo al canino, ya que, mediante este se liberan los ooquistes para continuar con la propagación, así mismo tiene una transmisión vertical lo que provoca es que la enfermedad se transmita de madre – hijo durante la gestación.

Entre los daños más importantes generados por este parásito es afecciones al sistema nervioso que en algunos casos pueden ser irreversibles.

Sin duda alguna, esta enfermedad ha despertado el interés de los veterinarios, debido a su afección, dado que hoy en día se han realizado numerosas investigaciones sobre este parásito como las afecciones que provoca, su epidemiología y como controlar esta enfermedad. (Arraz, 2016)

1.1 Problema

Neospora caninum es un parasito que ocasiona enfermedades tanto a caninos como a herbívoros, es una enfermedad de propagación rápida debido a que los huéspedes son animales silvestres o animales que no poseen un cuidado adecuado. Dado a que el incremento de caninos callejeros es acelerado también existe la posibilidad de que este parasito se propague con mayor facilidad y por ello genere problemas a un mayor grupo de animales susceptibles a este parasito. Este trabajo tiene como finalidad de conocer la presencia de este parasito en perros que habitan las zonas establecidas para esta investigación y así mismo dar a conocer a sus dueños las afecciones que provoca esta enfermedad y las consecuencias económicas que ocasiona.

1.2 Delimitación

1.2.1 Espacial

La siguiente investigación se realizó a partir de muestras recolectadas en parroquias rurales del cantón Azogues las cuales fueron: Guapán, Cojitambo y Luis Cordero.

Guapán se encuentra ubicado norte S 2° 36' 49.50" W 78° 49' 20.60", sur S 2° 43' 43.90" W 78° 50' 55.79", este S 2° 41' 46.61" W 78° 50' 20.02", oeste S 2° 40' 21.01" W 78° 51' 50.50", neutral S 2° 42' 42.86" W 78° 50' 51.13", con un clima frío, a una altitud de 2580msnm, a una distancia de 4km de la ciudad de Azogues (Google Earth, 2021).

Cojitambo se encuentra ubicado Norte S 2° 43' 55.87" W 78° 52' 7.83" Sur S 2° 46' 46.49" W 78° 52' 54.50" Este S 2° 45' 22.28" W 78° 52' 2.28" Oeste S 2° 45' 35.85" W 78° 54' 19.75" Neutral S 2° 45' 31.69" W 78° 53' 3.44", con un clima frío, a una altitud de 3000 msnm, a una distancia de 10km de la ciudad de Azogues. (Google Earth, 2021)

Luis Cordero se encuentra ubicado en los puntos más extremos Norte S 2° 42' 35.72" W 78° 48' 25.93" Sur S 2° 45' 48.69" W 78° 48' 45.99" Este S 2° 44' 23.48" W 78° 47' 36.40"

Oeste S 2° 44' 21.58" W 78° 50' 11.68" Neutral S 2° 44' 15.50" W 78° 49' 2.16" con un clima frío, con una altitud de 2862msnm, a una distancia de 5km de la ciudad de Azogues. (Google Earth, 2021)

1.2.2 Temporal

Este trabajo investigativo tuvo una duración de 400 horas, que estaban divididas en el trabajo experimental y la elaboración del informe final.

1.2.3 Académica

Este trabajo experimental está orientado a la sanidad animal fortaleciendo los conocimientos adquiridos en la rama de la Parasitología que posteriormente nos puede ayudar a un mejor diagnóstico y tratamiento óptimo y oportuno.

1.3 Explicación del problema

Al ser una enfermedad de carácter mundial se ha determinado que ha generado grandes afecciones en el campo productivo ocasionando abortos y disminución en la producción lechera y por ende disminución en los ingresos económicos del productor lechero, el impacto radica en la relación que existe entre las especies como son bovinos y caninos, porque esta enfermedad requiere de las dos especies para completar su ciclo biológico.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Determinar la prevalencia de *Neospora caninum* en poblaciones caninas mediante el método de ELISA competitivo en parroquias rurales del cantón Azogues.

1.4.2 Objetivo específico

Identificar la presencia de *Neospora caninum* en caninos mediante la prueba de ELISA competitivo.

Calcular la prevalencia del *Neospora caninum* en parroquias rurales del cantón Azogues.

1.5 Hipótesis

1.5.1 Hipótesis nula

Mediante la presente investigación se evidenciará una baja prevalencia de *Neospora caninum* en caninos en el cantón Azogues.

1.5.2 Hipótesis alternativa

Mediante la presente investigación se evidenciará una alta prevalencia de *Neospora caninum* en caninos en el cantón Azogues.

1.6 Fundamentación Teórica

Este trabajo experimental servirá como herramienta para comprobar si hay existencia de este parasito en las poblaciones en la que se va a realizar, con la finalidad de poder tomar medidas cautelares para prevenir futuros problemas que puede provocar este parasito, así como también garantizar que no existan pérdidas económicas para las personas que se dedican a la producción láctea.

2. REVISION Y ANALISIS BIBLIOGRAFICO

2.1 Generalidades

Neospora caninum, es un parasito intracelular obligado que produce vacuolas. Se forma una cavidad tisular, que dura largo tiempo (Álvarez, et ál., 2016) (p. ej., microgránulos, lofira y gránulos gruesos), que se identifican mediante microscopios electrónicos. La *N. caninum* tiene semejanza a *Toxoplasma gondii* y puede ser dañino para el ganado vacuno, animales de compañía y los animales silvestres (Álvarez, et ál., 2016).

2.2 Etiología y Taxonomía

“*Neospora caninum* es un parásito protozoario que pertenece al género Apicomplexa y de la familia Sarcocystidae que infecta a un gran número de mamíferos. Se han identificado perros y coyotes como los portadores definitivos del parasito, pero también hay estudios que los relacionan con otros animales silvestres.

La enfermedad se le denomina neosporosis, que ha sido estudiada en caninos y bovinos” (Retamal et ál., 2011).

N. caninum pertenece al phylum Apicomplexa, clase Sporozoea, subclase Coccidia, orden Eucoccidia, suborden Eimetiina y familia Sarcocystidae, y al género *Toxoplasma*, géneros *Sarcocysts*, *Hammendia* y *Besnoitia*. Los pertenecientes de la familia Sarcocystidae poseen diferentes ciclos de vida y creación de quistes en los huéspedes intermediarios. Todos utilizan a los herbívoros como huéspedes intermediarios y especies carnívoras como huéspedes permanentes. Los huéspedes definitivos eliminan en las heces los ooquistes no fértiles; después de la esporulación en el medio donde se encuentran, presenta dos esporoquistes con cuatro esporozoitos cada uno. Cabe destacar cuatro especies que están relacionadas: *N. caninum*, *T.*

Gandi, H. Hammendi y H. Heydorni, que presentan ooquistes similares, sin embargo, pero presentan diferencias en sus estructuras como en sus biología. (Álvarez, 2018, pp. 3-4).

2.3 Morfología

El ciclo de vida de *N. caninum* posee tres etapas diferentes: los taquizoítos, histocistos que contienen bradizoítos y ooquistes. Los taquizoítos miden de 3- 7 μm y 1-5 μm de ancho, y su morfología es ovoide, cilíndrica o semilunar, sobre todo depende de la etapa en la que se encuentren (Dubey & Lindsay, 1996).

Estructuralmente, los taquizoítos que se observan en un cultivo celular son iguales a los observados in vivo (Speer y Dubey, 1989; Lindsay et ál., 1993), con una membrana compuesta por una membrana intesta y una plasmalema, un complejo apical constituido por: 22 microtúbulos subpeliculares, un conoide, un anillo polar y dos anillos apicales; orgánulos secretores que constan de: 8-24 roptrias, micronemas, y gránulos densos; mitocondrias, núcleo, nucleolo, aparato de Golgi, ribosomas, polisomas, gránulos de amilopectina, cuerpos lipídicos, vesículas, retículo endoplásmico rugoso y poros posteriores (Speer y Dubey, 1989; Lindsay et ál., 1993; Speer et ál, 1999) y Los quiste poseen un tamaño aproximadamente 100 μm de diámetro, estos son esféricos u ovalados y pueden poseer hasta 200 bradizoítos. La pared del quiste (que puede contener más de 4 μm de tamaño) está integrada por dos membranas, una estructura interna más gruesa, granular con estructuras tubulares y membrana única externa densa en electrones (Peñata y Díaz, 2020; Dubey y Lindsay, 1996). Los bradizoítos poseen más gránulos de amilopectina (Speer y Dubey, 1989). Miden de 6- 8 μm de largo por 1-1,8 μm las mismas organelas que los taquizoítos, aunque en los bradizoítos contienen menos cilios y los ooquistes de *N. caninum* son anatómicamente iguales a los de *T. gondii* y *H. heydorni*; tienen forma redonde o semi redonda y tienen un tamaño de 11,7 μm de longitud y 11,3 μm de anchura. La pared del ooquiste es llana, de 0,6-0,8 μm de espesor y no posee micropilo. En su interior se

localizan dos esporoquistes elipsoidales (8,4 μm de largo por 6,1 μm de ancho) cada uno tiene 4 esporozoítos alargados (6,5 μm de largo por 2,0 μm de ancho) y un cuerpo de esporoquiste residual (Torrel, et ál., 2022).

2.4 Epidemiología

La *Neospora* fue relacionada en el año 1984 por Bjerkas en Noruega como causa del síndrome neuromuscular en los caninos, ya que es un parásito intracelular obligado.

En el año de 1988, se aisló un microorganismo llamado *Neospora caninum* de la misma especie en los Estados Unidos (Dubey et ál., 2004).

Hasta ese momento la enfermedad se confundía con la toxoplasmosis y *N. caninum* fue analizada por primera vez como una enfermedad de interés mundial (Lindsay et ál., 1999), porque se encontró que una de las principales causas es el de abortos en las vacas.

Diversos estudios también confirman que la patología perjudica a la producción de la leche; con una reducción de leche de animales enfermos (Pabón, 2007).

Transmisión Horizontal: se crea por la deglución de tejido infectado que tiene taquizoitos o quistes tisulares o por la ingesta de agua o alimentos infectados con ooquistes esporulados. Durante la fase aguda de la enfermedad, los taquizoitos se localizan en todos los tejidos y líquidos del huésped, también en la placenta y el líquido amniótico de las vacas preñadas. Una vez se localicen en el tejido cerebral, los bradizoitos pueden diferenciarse en bradizoítos, debido a la respuesta inmune antiprotozoaria, lo que conlleva a la creación de quistes tisulares (Almería y López, 2013, p.2).

Transmisión Vertical/congénita: Un acto atrayente del ciclo de vida de este parásito es su eficacia en la transmisión vertical, que se da en la preñez, de la madre a cría. Mediante se informa que eficacia de la transmisión es elevada entre un 90- 100% (Reichel et ál., 2014).

2.5 Ciclo biológico

El ciclo completo de este parásito no está determinado. Mediante la cual, como todos los Coccidios, tienen un ciclo de vida heteroxo con 2 huéspedes; la hipótesis que se plante y se ha confirmado científicamente que los caninos son los hospedadores definitivos intermediarios. En los humanos no han sido identificado casos de *Neospora caninum*, pero, se han infectado primates científicamente, lo que puede ser una posible causa de zoonosis potencial (Vargas y Cortés, 2001).

El ciclo biológico posee 3 fases: 1) Fase reproductiva rápida en la que se crean los taquizoides, 2) Fase reproductiva lenta en la que se forman los bradizoitos y 3) Fase sexual en la que se desechan los ooquistes.

“En las distintas especies, cuando un patógeno se establece a una población, la principal vía de transmisión y mantenimiento de la infección es mediante la placenta, y la enfermedad no se riega entre adultos. Cuando el ganado se infecta al consumir pastos o raciones contaminados, es probable que permanezca con los síntomas de infección de por vida, pero puede transmitir la infección a través de la placenta a sus sucesivas crías. Hasta el momento no se ha reportado transmisión a través del semen o embriones” (Sánchez, et ál., 2021).

2.6 Hospedadores

El *N. caninum* tiene un alto margen de huéspedes domésticos y salvajes. Se ha evidenciado que causa infección, en perros, vacas, cabras, ovejas, caballos, búfalos de agua, camellos, la liebre parda europea y los camélidos sudamericanos. Los animales silvestres, donde se desarrolla la enfermedad son: ciervos, antílopes, mapaches, coyotes, zorros, dingos, felinos salvajes y rinocerontes. No se llega a un estudio definitivo el papel de desarrollo que cumplen estas especies en el parásito (Pérez y Rojas, 2021).

2.7 Transmisión

Se tiene conocimiento de dos maneras de transmisión de *N. caninum* en los bovinos: horizontal y vertical. La transmisión horizontal o postnatal, se desarrolla por la ingesta de agua o alimentos con ooquistes eliminados por el hospedador definitivo. La transmisión vertical o transplacentaria se da cuando en una hembra gestante los taquizoítos penetran la placenta e infectan al feto, este modo de transmisión es la más eficaz, ya que, los márgenes están entre los 40 al 95% de eficacia de transmisión. (Dubey et ál., 2007), lo que lleva a una rápida propagación y persistencia de la enfermedad en el rebaño. Además, una hembra infectada congénitamente puede transmitir la enfermedad a otros animales, muchas veces durante diferentes gestaciones (Boulton et ál., 1995; Wouda et ál., 1998b; Guy et ál., 2001).

2.8 Signos clínicos

En esta especie animal, los síntomas clínicos de este parásito son similares a los de otra especie de enfermedad protozoaria, la toxoplasmosis. Sin embargo, en la neosporosis se han describe anomalías neurológicas y musculares predominantes con presentaciones no comunes, como dermatitis. Los cachorros y los perros mayores pueden infectarse, sin embargo, un gran número de casos clínicos, que presentan mayor gravedad, corresponden a perros jóvenes infectados congénitamente. Por ejemplo, se han encontrado síntoma multifocales del SNC, polimiositis, miocarditis y dermatitis, en perros mayores, mientras que se han informado casos que presentan parálisis ascendente en perros jóvenes o cachorros, donde las extremidades traseras presentan una mayor afección. Otras anomalías descubiertas en perros jóvenes incluyen debilidad muscular, parálisis de la mandíbula, disfagia, atrofia muscular e incluso insuficiencia cardiaca. En relación con las lesiones, se puede observar mineralización en los músculos y focos multifocales de necrosis, especialmente en el diafragma. El sistema nervioso central, también presenta signos de neumonía, hepatomegalia y malestar (Retamal et ál., 2011).

Signos clínicos en cachorros (dependen de los órganos atrofiados).

- Paresia que progresa a parálisis en el tercio posterior (hiperextensión de las extremidades posteriores)

- Disfagia, parálisis mandibular, flacidez/atrofia muscular e insuficiencia cardíaca

- Los casos más graves se evidencian en los cachorros con infección congénita. (Doug & Miró, 2013)

2.9 Diagnostico

El diagnóstico ante mortem se direcciona principalmente en la historia clínica y los resultados serológicos (Dubey et ál., 2007). Debido a que el aislamiento del parásito a partir de líquidos y tejidos y su detección mediante microscopía son difíciles, la serología es la prueba más utilizada (Sykes, 2014).

Cuando se realiza un perfil bioquímico completo, los resultados pueden ser variables y no se pueden diagnosticar en algunas ocasiones (Dubey y Lappin., 2008; Sykes, 2014). Los parámetros hematológicos, en algunos casos muestran una anemia baja no regenerativa (Sykes, 2014). La mayoría de los pacientes puede tener proliferación de célula mononucleares (linfocitos y monocitosmacrófagos) (Dubey et ál., 2017) y en ocasiones eosinofilia leve (Sykes, 2014).

Los caracteres bioquímicos dependen del sistema de órganos al que infecta; cuando el músculo está deteriorado, se evidencia un aumento de la creatina cinasa (CPK) y el aspartato aminotransferasa (AST). Y en el daño hepático se incrementan los margenes de alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (FA) (Dubey y Lappin., 2008). También se estudia el líquido cefalorraquídeo (LCR), mostrando un aumento leve de proteínas (20 a 150 mg/dl) y un aumento pequeño de las células nucleadas (10-100 células/dl) (Dubey y Lappin., 2008),

aunque en algunos pacientes el análisis de LCR está en parámetros normales (Dubey y Lappin., 2008; Dubey et ál. 2017).

2.10 Tratamiento

El uso de sulfadiazina, pirimetamina y clindamicina, solas o combinadas, ha sido hasta ahora, una de las alternativas más utilizadas para el tratamiento para la neosporosis (Dubey y Lappin, 2008; Sykes, 2014; Dubey et ál., 2017).

Los pacientes mayores a 16 meses que presenten parálisis aguda de la neurona motora inferior responden mejor a la terapia, porque tienen menos contracciones causadas por la fibrosis. (Gómez y Guida, 2010), ya que, para el éxito de la terapia dependerá del estado de la enfermedad, en la que se encuentre el perro (Dubey y Lindsay., 1996).

La clindamicina no es eficaz contra los bradizoítos, pero ayuda a la prevención del crecimiento y la propagación de taquizoítos (Dubey y Lappin., 2008). Puede administrarse por vía parenteral u oral en dosis de 7,5 a 22 mg/kg y es el fármaco de la neosporosis clínica en perros (Espinoza, et ál., 2022).

“Por otro lado, una combinación de trimetoprima y sulfadiazina en una dosis combinada de 15 mg/kg dos veces al día y pirimetamina a 1 mg/kg al día durante cuatro semanas tuvo éxito en aquellos caninos con parálisis asociada con *N. caninum*. Otra combinación eficaz es clindamicina 10 mg/kg, tres veces al día y trimetoprima y sulfonamida 15 mg/kg, dos veces al día” (Dubey y Lindsay., 1996). La duración del tratamiento es de 4 a 8 semanas (Dubey y Lappin., 2008).

Todos los cachorros de una camada deben ser tratados tan pronto como se les diagnostique la enfermedad para, lograr una buena respuesta al tratamiento (Dubey y Lappin., 2008, Sykes., 2014; Dubey et ál., 2017).

Hasta la fecha, no se ha elaborado ningún tratamiento para eludir que una hembra gestante transmita *N. caninum* a sus cachorros (Dubey y Lindsay., 1996).

2.11 Prueba de ELISA

La prueba ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), según Coello (2010), es un método de laboratorio utilizado en identificación y cuantificación de la presencia de antígenos por medio de los anticuerpos las cuales generan una reacción de las enzimas que posteriormente van a ser medibles. Esta prueba ha sido ampliamente utilizada en investigaciones de tipo biomédica. Vale la pena mencionar, que existen diversas variedades de inmunoensayos, entre las más destacadas se tiene a ELISA, mientras que el RIA es utilizado para la detección de micotoxinas de forma sensible y específica . Los anticuerpos monoclonales son una herramienta clave para estos análisis.

Para la implementación de la prueba ELISA, se parte con la muestra, la cual se aplica en un soporte sólido, conocido con el nombre de microplaca de 96 pozos, el cual es un dispositivo utilizado para la valoración de los antígenos o anticuerpos. En este dispositivo, se pretende que los elementos se adhieren de manera inespecífica a la superficie de los pozos durante un tiempo de incubación determinado. Posteriormente, se realiza un lavado riguroso para eliminar cualquier material no adsorbido, asegurando que sólo los antígenos o anticuerpos inmovilizados permanezcan en la superficie del soporte.

El siguiente paso implica la detección específica del analito de interés. Para esto, se añade un anticuerpo o antígeno que reconoce específicamente al analito y que está conjugado con una enzima. Después de un nuevo lavado para eliminar cualquier exceso de reactivo no unido, se añade un sustrato específico para la enzima conjugada. La reacción entre la enzima y el sustrato produce un cambio de color en el pozo. Este cambio de color es proporcional a la cantidad de analito presente en la muestra y se mide utilizando un espectrofotómetro. La intensidad del

color es directamente cuantificable, permitiendo así determinar la concentración del antígeno o anticuerpo en la muestra original. (FUJIFILMS, 2021).

2.12 Tipos de ELISA

Existen diversos tipos de ELISA, los cuales están diseñados para condiciones y necesidades específicas de los investigadores y son:

- ELISA directo
- ELISA indirecto
- ELISA tipo sándwich
- ELISA competitivo.

2.13 ELISA Directo

El método ELISA Directo, es una técnica muy reconocida en la biología molecular y la inmunología y utilizada para la detección y cuantificación de sustancias; la cual fue descrita, por primera vez por Perlmann y Engvall, así como por Van Weemen y Schuurs en 1971, ofrece una herramienta eficiente y directa para la identificación de moléculas de interés, especialmente en aplicaciones de diagnóstico y en investigación científica. Para su procedimiento, se debe de recubrir la placa, con el antígeno para su incubación. Posteriormente, se realiza un lavado para eliminar cualquier material no unido. A partir de ello, se introduce un anticuerpo específico conjugado con una enzima, como es el caso de la peroxidasa de rábano picante (HRP), debido a su alta actividad y estabilidad. Este proceso se debe de realizar en dos ocasiones para minimizando así la posibilidad de señales falsas.

Se añade un sustrato específico para la enzima conjugada. La reacción enzimática produce un cambio de color en el pozo. La intensidad del color es directamente proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra original. La señal generada, que suele ser un cambio de

color, se mide utilizando un espectrofotómetro. La intensidad de esta señal se compara con una curva de calibración preestablecida, permitiendo la cuantificación precisa de la concentración de antígeno en las muestras desconocidas. Este proceso tiene varias ventajas como es el caso de la simplicidad y rapidez. A su vez, al utilizar solo un anticuerpo conjugado, se elimina la posibilidad de reactividad cruzada del anticuerpo secundario, que puede ser un problema en otros tipos de ELISA, como el ELISA indirecto (AllScience, 2019).

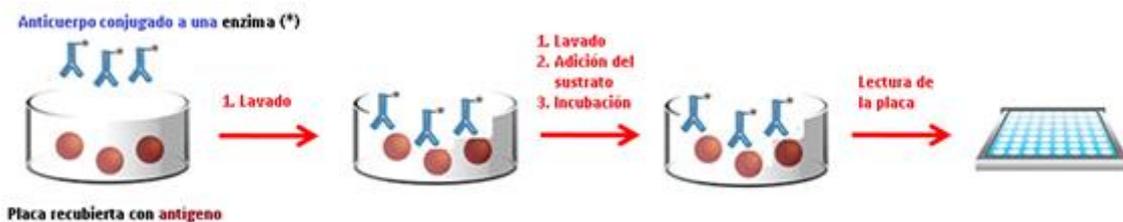


Figura 1. ELISA Directo

2.14 ELISA Indirecto

A su vez, el “ELISA indirecto”, es un método de inmunoenzimática utilizada para la detección de anticuerpos específicos en muestras de suero basada en la formación de complejos antígeno-anticuerpo y su detección mediante una reacción enzimática que produce un cambio de color cuantificable. El procedimiento implica varios pasos, en primera instancia se recubre una placa de microtitulación con un antígeno específico. Luego, se bloquean los sitios no específicos para evitar interferencias. La muestra de suero se añade a los pocillos, y si contiene anticuerpos específicos, estos se unirán al antígeno. Se añade un anticuerpo secundario conjugado con una enzima que se une a los anticuerpos de la muestra. Esta enzima actúa sobre un sustrato añadido posteriormente, produciendo un cambio de color cuya intensidad, medida con un lector de microplacas, es proporcional a la cantidad de anticuerpo presente. Esta prueba es altamente recomendada debido a su alta sensibilidad y especificidad permiten detectar niveles bajos de anticuerpos, esencial para diagnósticos tempranos. Es una técnica versátil,

aplicable a diversas enfermedades y condiciones. Además, proporciona resultados cuantitativos, ofreciendo una medida exacta de la concentración de anticuerpos (AllScience, 2019).



Figura 2. ELISA Indirecto

2.15 ELISA Sándwich

El método de ELISA sándwich se caracteriza por utilizar a dos anticuerpos específicos para capturar al antígeno entre sus paredes. el procedimiento comienza con el recubrimiento de una placa de microtitulación con un anticuerpo de captura específico. Este anticuerpo se une firmemente a la placa y está diseñado para reconocer y unirse al antígeno objetivo. Una vez que la placa está recubierta y bloqueada para evitar la unión inespecífica, se añade la muestra que puede contener el antígeno de interés. Si el antígeno está presente en la muestra, se unirá al anticuerpo de captura. Después de este paso, se añade un segundo anticuerpo, conocido como anticuerpo detector, que se une a una epítopa diferente del antígeno. Este anticuerpo detector está conjugado con una enzima, que cataliza una reacción que produce un cambio de color cuando se añade el sustrato adecuado. La intensidad del color producido es directamente proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra y se mide utilizando un lector de microplacas.

Las características principales del ELISA sandwich incluyen su alta sensibilidad y especificidad, lo que permite la detección precisa de antígenos incluso en bajas concentraciones. Además, el método es relativamente simple y puede ser automatizado, lo que lo hace adecuado

para su uso en laboratorios clínicos y de investigación. Su capacidad para proporcionar resultados cuantitativos es otra ventaja significativa, ya que permite medir la concentración exacta de antígenos en la muestra.

El ELISA sandwich también es versátil y puede adaptarse para detectar una amplia variedad de antígenos, lo que lo hace útil en el diagnóstico de diferentes enfermedades infecciosas, como infecciones bacterianas, virales y parasitarias. Además, su uso en el control de calidad en la industria farmacéutica asegura la pureza y eficacia de productos biológicos, como vacunas y terapias con anticuerpos (AllScience, 2019).

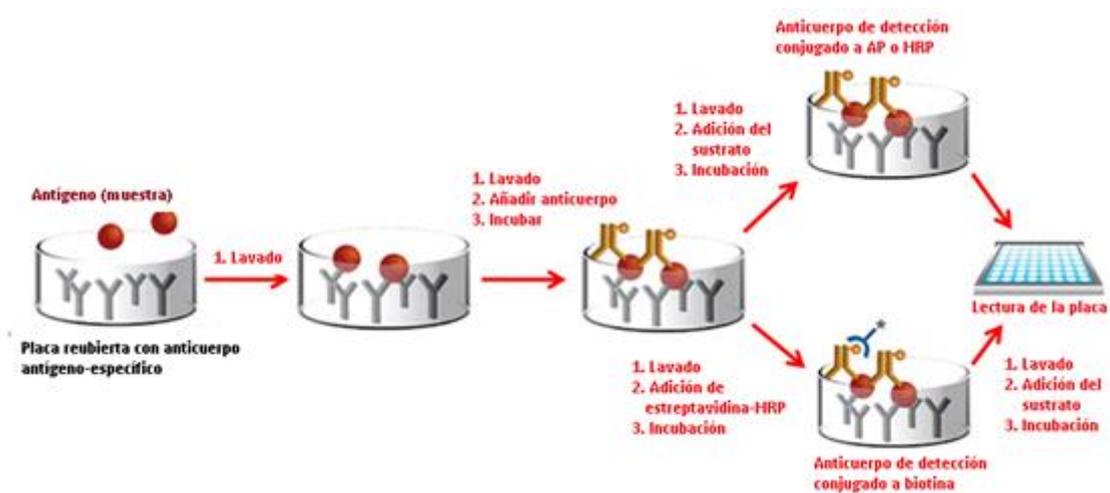


Figura 3. ELISA Sándwich

2.16 ELISA Competitivo

El ELISA competitivo mide la competencia entre el antígeno en la muestra y un antígeno marcado, resultando en una señal inversamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra. Esta metodología es particularmente útil cuando los niveles del analito son bajos o se requiere una alta especificidad en la detección. El procedimiento del ELISA competitivo comienza con la preparación de una placa de microtitulación recubierta con un anticuerpo específico para el antígeno de interés. Se añade la muestra que contiene el antígeno desconocido

y una cantidad fija de antígeno marcado con una enzima. Tanto el antígeno presente en la muestra como el antígeno marcado competirán por los sitios de unión del anticuerpo recubierto en la placa.

Tras la incubación, se realizan lavados para eliminar los antígenos no unidos. A continuación, se añade un sustrato que la enzima unida al antígeno marcado puede convertir en un producto detectable, generalmente manifestado como un cambio de color. La intensidad del color es inversamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra, es decir, a mayor cantidad de antígeno en la muestra, menor será la señal debido a la menor cantidad de antígeno marcado que puede unirse al anticuerpo.

El ELISA competitivo se caracteriza por su alta especificidad, dado que la competencia entre el antígeno de la muestra y el antígeno marcado permite discriminar eficazmente entre el antígeno objetivo y otras sustancias similares. También es altamente sensible, capaz de detectar concentraciones muy bajas del analito gracias a la alta afinidad de los anticuerpos utilizados. La naturaleza competitiva del ensayo reduce la variabilidad entre muestras, proporcionando resultados consistentes y reproducibles. Esta técnica es ampliamente aplicada en la detección de pequeñas moléculas, toxinas, hormonas y drogas en muestras biológicas, además de ser útil en estudios de farmacocinética y toxicología (AbYntek, 2019).

2.17 Resumen del estado del arte del estudio del problema.

Las enfermedades en los hatos lecheros son una causa fundamental en pérdidas económicas para el ganadero, por ello, las entidades gubernamentales invierten en líneas de investigación para detectar el causal que provoca cada enfermedad. Es por esto que se han empleado nuevas tecnologías para realizar estas investigaciones.

Una de las enfermedades que más afectan es la “*Neospora caninum*”; dicho parasito tiene como huésped a la especie canina sin excepción alguna, debido a que estas dos especies están en estrecha relación, ya que, los caninos son utilizados por los ganaderos como un animal de apoyo para cuidar al ganado bovino, así como también como animal de compañía.

La propagación de este parasito en las parroquias rurales de Azogues ha generado el interés para realizar una investigación sobre la presencia de este parasito, para ello, se realizará un trabajo investigativo que se realiza a través de método de campo como la recolección de sangre y determinar la prevalencia mediante procesos de laboratorio los cuales se empleará en la Universidad Politécnica Salesiana.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Materiales de oficina

Tabla 1. *Materiales de oficina.*

Descripción	Unidad	Cantidad
Cuaderno	u	1
Esferos	u	2
Cámara	u	1
Computadora	u	1
Memoria USB	u	1
Impresora	u	1
Resma papel bond A4	u	1
Carpeta	u	1

3.1.2 Materiales de laboratorio.

Tabla 2. *Materiales de laboratorio.*

Descripción	Unidades	Cantidad
Pipeta de 1000 ul	u	1
Pipeta de 10 ul	u	1
Puntas azules	u	100
Puntas amarillas	u	100
Viales eppendorf	u	100
Gradillas	u	1

Multicanal de 12 puntas de 300 ul	u	1
Equipo de lector de ELISA	u	1

3.1.3 Materiales de campo.

Tabla 3. *Materiales de campo.*

Descripción	Unidad	Cantidad
Caja de mascarillas	u	1
Mandil	u	1
Caja de guantes	u	1
Agujas hipodérmicas	u	100
Tubos al vacío sin anticoagulante	u	100
Paquete de algodón	u	1
Alcohol	gl	1

3.1.4 Materiales Químicos

Tabla 4. *Materiales químicos.*

Descripción	Unidad	Cantidad
Agua destilada	ml	300
Solución de Parada (0,5 M)	ml	135
Solución de Revelación (TMB)	ml	135
Control Positivo	ul	1
Control Negativo	ul	1
Solución de lavado concentrado (20X)	ml	20

Conjugado concentrado (10X)	ml	20
Microplacas sensibilizadas con extracto purificado con <i>Neospora caninum</i> .	tira	100
Diluyente 14	ml	20
Diluyente 12	ml	20

3.1.5 Materiales Biológicos

Tabla 5. *Materiales biológicos.*

Descripción	Unidad	Cantidad
Canino	u	100
Suero sanguíneo	ml	1.5

3.2 Metodología

La presente investigación corresponde a un estudio epidemiológico de tipo descriptivo, prospectivo de corte transversal. Se determinará la presencia de anticuerpo para el agente etiológico y se calculará la prevalencia de la enfermedad en un momento establecido.

3.3 Análisis estadístico.

Por las características de la investigación, al ser un trabajo prospectivo y de corte transversal no se desarrolla un análisis estadístico analítico, sino que se opta por un análisis de tipo descriptivo mediante un diseño de gráficas.

3.4 Población y muestra.

Para realizar el cálculo de la muestra utilizamos la siguiente formula:

$$n = \frac{Z^2 * p * q}{e^2}$$

Dónde:

n = Tamaño de muestra buscado.

Z = Parámetro estadístico que depende del nivel de confianza. (95%)

p = Probabilidad de que ocurra el evento estudiado (éxito).

q = (1-p) = Probabilidad de que no ocurra el evento estudiado.

e = Error de estimación máximo aceptado.

$$n = \frac{196^2 * 0.07 * (1 - 0.07)}{0.05^2}$$

$$n = 100$$

3.5 Procedimiento de campo

La muestra que se aplicará en el presente trabajo será de 100 sueros sanguíneos que provienen de los cuatro grupos a investigar se ha programado trabajar con este número divisible para los cuatro grupos.

Las muestras sanguíneas serán tomadas de la vena cefálica y yugular, mediante el uso de vacutainer y con las medidas de asepsia que requiere cada una. Se obtendrá 5 ml de sangre y se colocará en los tubos de ensayo estériles previamente rotulados. Las muestras se mantendrán a una temperatura entre 4°C y 7°C. Posteriormente se centrifugará a 3000 rpm durante 5 minutos; se extraerá el Suero de todas las muestras mediante una micropipeta en tubos estériles para suero sanguíneo con previa rotulación.

3.6 Procedimiento de laboratorio.

3.6.1 Preparación de las muestras.

Para evitar diferencias en los tiempos de incubación entre las muestras, se preparará 4 pool, 1 en relación a cada cantón rural que se va a analizar, a cada pool se agregó 100 µl de suero de cada individuo para después correr la técnica de ELISA por incubación corta. Para la detección de anticuerpos de la *Neospora caninum* se utilizará un Kit Id Screen ® *Neospora caninum* Competition multi species ELISA Kit.

3.6.2 Preparación de la solución de lavado.

Se equilibrará la Solución de Lavado Concentrada (20X) a temperatura ambiente ($21^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$) y se agitó bien hasta que la Solución Concentrada esté completamente solubilizada.

Se preparará la Solución de Lavado (IX) diluyendo 1:20 la Solución de Lavado Concentrada (20X) en agua destilada. (Diagnostics, 2022).

3.6.3 Procedimiento de ensayo de incubación corta.

Los reactivos estarán equilibrados a temperatura ambiente $21^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ antes de la utilización. Se homogenizará por medio de la inversión utilizando un vortex. (Diagnostics, 2022)

1. Se añadirá
 - 50 µl de Diluyente 14 a cada pocillo.
 - 5 µl de Control Positivo a los pocillos A1, B1 y C1.
 - 45 µl de Control Negativo a los pocillos D1, E1, F1.
 - 50 µl de la muestra a ensayar en los pocillos restantes.
2. Se cubrirá la placa y se incubo por 45 min a 21°C .
3. Se vaciará los pocillos y se lavará cada pocillo 3 veces con 300 µl de Solución de Lavado.

4. Se preparará el Conjugado IX haciendo una dilución 1:10 del Conjugado Concentrado 10X con el diluyente 12.
5. Se añadirá 100 µl del Conjugado IX a cada pocillo.
6. Se cubrirá la placa y se incubará por 30 min a 21°C±5°C.
7. Se vaciará los pocillos y se lavará cada pocillo 3 veces en 300 µl de Solución de Lavado. Durante todos los procesos de lavados se evitará que los pocillos se sequen entre los lavados.
8. Se añadirá 100 µl de la Solución de Revelación a cada pocillo.
9. Se cubrirá la placa y se incubará por 15 min a 21°C±5°C en la oscuridad.
10. Se distribuirá 100 µl de Solución de Parada a cada pocillo, en el mismo orden que en el paso 8, para detener la reacción.
11. Consecutivamente se leerán en el espectrofotómetro la densidad óptica (DO) de 450nm. (Diagnostics, 2022)

Una vez que se obtengan los resultados de los sueros analizados hacer una revisión de cómo fue el método para la interpretación de los resultados obtenidos, los mismo que se detallan a continuación:

Validación:

- El valor medio de la DO del control Negativo (DO_{CN}) es mayor que 0.7.

$$DO_{CN} > 0.700$$

- La razón entre el valor de medio de la DO del Control Positivo (DO_{CP}) y el valor de medio de la DO del Control Negativo (DO_{CN}) es menor que 0.3

$$DO_{CP} / DO_{CN} < 0.3$$

Interpretación:

Por cada muestra, se calculará el porcentaje de competición (S/N %)

$$s\% = \frac{DO_{Muestras}}{n \cdot DO_{CN}} * 100$$

Donde:

- DO = Densidad óptica.
- CN = Control negativo.
- $\frac{S}{N}\%$ = Muestra al positivo

Las que presenta un $\frac{S}{N}\%$:

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

El análisis de datos se realizó con el programa ID softTM, que permite calcular los diferentes parámetros del Kit de criterios de validación y valores S/P. (Diagnostics, 2022)

3.7 Operacionalización de variables:

3.7.1 Variables independientes: Suero sanguíneo de caninos.

Tabla 6. *Variables independientes*

Concepto	Categoría	Indicadores	Índice
Unidad experimental que nos facilitará los indicadores.	Físico	Machos	Numérico
		Hembras	Numérico
		Calidad de suero	Mi
	Biológico	Positivo	Numérico
Negativo		Numérico	

3.7.2 Variables dependientes: ELISA competitivo para *Neospora caninum*

Tabla 7. *Variables dependientes.*

Concepto	Categoría	Indicadores	Índice
Método analítico que depende de la Ag-Ac.	Biológico	Cantidad de uniones Ag-Ac	Numérico

3.8 Consideraciones éticas

El Código Sanitario para los Animales Terrestres establecido por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) emite directrices, para la utilización de animales en la investigación y educación.

Que, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), reconoce la función esencial del uso de animales vivos en la investigación y la educación. Las pautas de orientación de la OIE para el bienestar animal estipulan que dicho uso aporta una importante contribución al bienestar humano y animal y subraya la importancia de las Tres R;

Que, en la DECLARACION DE HELSINKI de la Asociación Médica Mundial- Principios básicos para toda investigación médica- en el punto 12 indica que “La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

Que, el artículo 244 del Reglamento General de la Ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria, publicada establece que “Para la regulación de la utilización de animales para actividades de investigación, educación, recreación o actividades culturales, la Agencia tomará como base los lineamientos internacionales que en la materia de bienestar animal ha establecido la Organización Mundial de Sanidad Animal”.

Que, el artículo 247 del Reglamento General de la Ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria, establece que “Las instituciones de educación superior y empresas que utilicen animales con fines educativos o de investigación deberán estructurar un comité de ética bajo los lineamientos y requisitos establecidos por la Agencia. Para la utilización de animales con fines de investigación y educación, se deberá contar con la aprobación previa del proyecto de investigación por parte del comité de ética para la investigación y educación con animales” (Mejía, 2021).

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Prevalencia total

Tabla 8 Cuadro de prevalencia total: Cojitambo, Guapán y Luis Cordero

Prevalencia	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
NEGATIVO	98	98,00 %	92,96 %	99,76 %
POSITIVO	2	2,00 %	0,24 %	7,04 %
Total	100	100,00 %		

En la tabla 8 se ve reflejado el total de caninos que fueron analizados (100) por medio de la técnica de ELISA competitivo en la cual se observó un 2% (2/100) de casos es positivos lo que representa 2 animales del total de los muestreados y se observó un 98% (98/100) de casos negativos mismos que se encuentran sin la enfermedad.

Discusión

En el presente trabajo investigativo experimental se realizó con muestras serológicas tomadas en caninos en la parroquia Chorocopte, provincia del Cañar, donde es una zona de explotación ganadera bastante alta. Las muestras analizadas mediante el Kit de ELISA competitivo frente a *Nespora caninum* de 188 (100%) muestras en total, obteniendo los siguientes resultados: 8 animales sospechosos o positivos que representan el 4,25%, 180 animales negativos que serían el 95,74%. Según el sexo de los animales muestreados, del total de 8 casos dudosos o positivos, 6 (75%) fueron hembras y 2 (25%) machos. (Mayancela, 2022)

Dicho estudio se podría extrapolar al panorama de parroquias rurales, donde por su número de casos analizados nos genera muchos más casos positivos con relación al estudio que se realizó, pero mediante este quiere decir que en los sectores rurales hay prevalencias positivas para *Neospora caninum*, donde se recalca que dicho parasito no tiene ningún tipo de relación con el sexo del animal al que infecta.

En un trabajo realizado en diferentes lugares y las 3 regiones del Ecuador donde se obtuvieron resultados positivos primero en la región costa se evidencia resultados positivos en los cantones de Santo Domingo con una prevalencia del 12.5% (5/40) y Daule con una prevalencia del 8,1% (3/37), seguido vemos que existe una prevalencia en la región sierra siendo Ibarra con una prevalencia del 12.9% (4/31), seguido por Urcuqui con 12.2% (6/49) y Santa Isabel con 4,5% (2/44) y por último se evidencio una prevalencia en la región amazónica sientto Tena con una prevalencia del 7,7% (3/39) (Rodriguez, 2024).

Lo que nos quiere decir con relación a nuestro trabajo es que las prevalencias no son muy altas, pero, que si existe en diferentes sectores del País presencia del parasito de *Neospora caninum*.

4.1. Prevalencia por la Edad

Tabla 9. Prevalencia por edad.

EDAD	Negativos				Positivos			
	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
Adultos	84	85,71 %	77,19 %	91,96 %	1	50,00 %	1,26 %	98,74 %
Cachorros	7	7,14 %	2,92 %	14,16 %	1	50,00 %	1,26 %	98,74 %
Geriátrico	7	7,14 %	2,92 %	14,16 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Total	98	100,00 %			2	100,00 %		

En la tabla 9 se observó que existen 84 caninos adultos, 7 cachorros y 7 geriátricos, lo que representa el 98% (98/100) de casos negativos de los 100 analizados, se reflejaron los casos que nos dieron positivos a *Neospora caninum* siendo los resultados por edad los siguientes: 1 adulto y 1 cachorro lo que representa un 2% (2/100) del total de los casos analizados.

Discusión

En un estudio realizado en la Universidad Estatal de Cuenca con base a la edad nos dice que la frecuencia de anticuerpos específicos contra *N. caninum* en los machos fue de 22.4% y en las hembras 10.3%, mientras que en los cachorros fue del 7.7% y en los perros adultos del 21.4%, no se encontró una asociación entre el sexo de los perros y su edad con el resultado positivo de anticuerpos específicos contra *N. caninum*, en total la frecuencia encontrada fue del 22.4% machos, 10.3% en hembras, 7.7% en cachorros y 21.4% en adultos, a pesar de que la proporción de adultos con anticuerpos específicos contra *N. caninum* fue superior. (Tigmasa & Romero, 2023)

Con relación del trabajo realizado se evidencia que existe casos positivos en animales de diferentes edades con lo cual, la enfermedad afecta tanto a cachorros, adultos y geriátricos, pero, los índices poblacionales no son iguales, por ello, no es un factor la edad del animal.

En otro estudio realizado en la ciudad de Cuenca vemos evidenciado que la población con mayor afección pertenece animales adultos donde de los 279 animales analizados tenemos que 6 animales adultos dan positivo para *Neospora caninum*. (Luna, 2023)

Cabe recalcar que según dicho estudio la población de animales adultos supera a la población de animales cachorros o geriátricos por ello no se puede tomar como un factor la edad.

4.2 Prevalencia por el lugar de origen

Tabla 10. Prevalencia por el lugar de origen.

Origen	Negativo				Positivo			
	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
Cojitambo	33	33,67%	24,44%	43,93%	0	0,00%	0,00%	84,19%
Guapán	33	33,67%	24,44%	43,93%	0	0,00%	0,00%	84,19%
Luis Cordero	32	32,65%	23,52%	42,87%	2	100%	15,81%	100%
Total	98	100%			2			

En la tabla 10 se ve reflejados los datos por el lugar donde se extrajeron las muestras, siendo de la siguiente manera 33 en Cojitambo, 33 en la parroquia Guapán y 34 en la parroquia Luis Cordero/San Marcos, en la que, los resultados que se obtuvieron los siguientes resultados: en la parroquia Cojitambo los 33 casos analizados nos dieron negativo lo que representa un 33,67% (33/100) del total de muestras analizadas, en la parroquia Guapán así mismo nos dieron los 33 casos negativos lo que representa un 33,67% (33/100) del total de caninos analizados, pero en la parroquia Luis Cordero se obtuvieron 32 casos negativos lo que es un 32,65% del total de casos analizados y también se obtuvieron

analizados y también se obtuvieron 2 casos positivos para *Neospora caninum* lo que representa el 100% de casos positivos y el 2% (2/100) del total de muestras recogidas.

4.3 Prevalencia por raza

Tabla 11. Prevalencia por raza.

Raza	Negativos				Positivos			
	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
Bull frances	2	2,04 %	0,06 %	11,10 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Cocker spanier	1	1,02 %	0,03 %	5,55 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
French poodle	7	7,14 %	2,76 %	18,81 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Golden	1	1,02 %	0,03 %	5,55 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Husky	3	3,06 %	0,64 %	8,69 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Labrador	1	1,02 %	0,03 %	5,55 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Mestizo	65	66,29 %	54,22 %	78,99 %	2	100,00 %	15,81 %	100,00 %
Pastor alemán	1	1,02 %	0,03 %	5,55 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Pekines	1	1,02 %	0,03 %	5,55 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %

Pitbull	1	1,02 %	0,03 %	5,55 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Roffweiler	1	1,02 %	0,03 %	5,55 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Schnauzer	4	4,08 %	1,12 %	10,12 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Shitzu	10	10,20 %	5,00 %	17,97 %	0	0,00 %	0,00 %	84,19 %
Total	98	100,00 %			2	100,00 %		

En la tabla 11 observamos todas las razas que han sido evaluadas a lo largo de la investigación siendo las más relevantes con mayor número de individuos mestizo que se analizaron un total de 65 muestras, seguido por, shitzu con 10 muestras y French poodle con 7 muestras, por ello, todos estos casos nos dieron negativo a *Neospora caninum*. Se evidencia que caninos mestizos arrojaron datos positivos para *Neospora caninum*, existiendo 2 casos positivos con relación a los 100 muestreados.

Discusión

Un estudio realizado en la ciudad de Cuenca donde se toma 279 muestras a caninos que se localicen en albergues, fincas y clínicas veterinarias, donde se evidencia que existe una prevalencia según las razas de los caninos donde los datos que se obtuvieron son 6 casos positivos donde, 1 pertenece a la raza french poodle y 5 caninos son mestizo, en dicho caso no existe una relación entre la enfermedad con las razas de los perros. (Luna, 2023)

Conjuntamente con el trabajo investigado y el realizado se concuerda que no existe una relevancia que conlleve una relación que animales de alguna raza sea predisponentes a contraer *Neospora caninum*, ya que, el factor principal es la zona en donde vivan los animales y la que convivan con ganado bovino.

4.4 Prevalencia por sexo

Tabla 12. *Prevalencia por sexo.*

Sexo	Prevalencia = NEGATIVO				Prevalencia = POSITIVO			
	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
Hembra	40	40,82 %	30,99 %	51,21 %	1	50,00 %	1,26 %	98,74 %
Macho	58	59,18 %	48,79 %	69,01 %	1	50,00 %	1,26 %	98,74 %
Total	98	100,00 %			2	100,00 %		

La tabla 12 nos refleja que, de los 100 casos muestreados, nos dieron positivos 1 macho y 1 hembra, dando como resultado que cada uno es el 50% de casos positivos.

Discusión

En una investigación realizada en la ciudad de Cuenca, donde se analizaron 188 pacientes nos da como resultado 6 hembras positivas lo que representa el 75% de casos positivos con relación a los machos que son 2 lo que representa el 25% de muestras positivas (Mayancela, 2022).

Una investigación realizada en la Universidad Politécnica de Cuenca donde se analizaron 279 muestras con una obtención de 6 casos positivos para *Neospora caninum*, donde, 2 casos pertenecen a caninos hembra que representa un 33,34% de casos positivos con relación a los machos que son 4 casos positivos lo que representa el 66,67% del total de casos positivos (Luna, 2023).

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Con los datos obtenidos en este trabajo de investigación utilizando la técnica de ELISA competitivo se concluye que se observó una prevalencia del 2% de los 100 casos muestreados.

Se concluye que en las parroquias rurales del cantón Azogues hay una prevalencia baja en cuanto se refiere a *Neospora caninum* y que esta enfermedad está relacionada estrechamente con los hatos ganaderos.

Así también se concluye con que no existe una relevancia en los factores de riesgo según el sexo, edad, raza o zona de procedencia de las muestras, pero se recalca que los datos obtenidos positivos pertenecen a la parroquia Luis Cordero.

5.2 Recomendaciones

Considerando que la *Neospora caninum* es un parasito que tiene un impacto económico en la producción en los sectores rurales, por ello, se recomienda a realizar charlas informativas a los propietarios de fincas que tengan caninos como mascotas, ya que, pueden ser un foco de propagación de la enfermedad.

Así mismo como la neosporosis ataca animales que se encuentren inmuno deprimidos se recomienda a los propietarios realizar análisis a sus mascotas con la finalidad que tenerles en óptimas condiciones de salud para que, la enfermedad no pueda infectar y no desarrollarse.

6. BIBLIOGRAFÍA

Trabajos citados

- AbYntek. (27 de Jun de 2019). *Tipos de ELISA, ¿Conoces las diferencias?* Obtenido de <https://www.abyntek.com/tipos-de-elisa/>
- AllScience. (17 de abril de 2019). *ELISA ¿Qué es?, ¿En que consiste? ¿Cuáles son los distintos tipos de en este ensayo y en que se diferencian?* Obtenido de <https://www.e-allscience.com/blogs/articulos/elisa-que-es-en-que-consiste-cuales-son-los-distintos-tipos-de-este-ensayo-y-en-que-se-diferencian>
- Almería, S., & López, F. (2019). Bovine neosporosis: clinical and practical aspects. *Research in veterinary science*, 95 (2), 303-309.
- Álvarez, D., Asesor, S., Andrés, J., & Torres, P. (2016). Neospora Caninum y sus alteraciones sobre la salud reproductiva bovina. (*Tesis de grado*). Corporación Universitaria Lasallista, Caldas – Antioquia.
- Arraz, D. (2016). Nuevos modelos animales para el estudio de la infección por "Neospora caninum" durante la gestación. (*Tesis de Doctorado*). Universidad Complutense de Madrid, Madrid. Obtenido de <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/5766c43f-1785-4ece-932a-8a7e9226fdbf/content>
- Boulton, J., Gill, P., Cook, R., Fraser, G., Harper, P., & Dubey, J. (1995). Bovine Neospora abortion in north-eastern New South Wales. *Australian Veterinary Journal*, 72(3), 119-120.
- Coello, D. (10 de sep de 2010). *Metodo de Elisa y Microelisa*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/slideshow/metodo-de-elisa-y-microelisa/5176716#9>
- Diagnostics, I. (5 de Octubre de 2022). Obtenido de <https://www.innovative-diagnostics.com/produit/id-screen-neospora-caninum-competition/>
- Doug, C., & Miró, G. (2013). *Atlas de información al propietario: Parásitos*. In *Atlas de información al propietario: Parásitos*. Madrid: Grupo Asís Biomedica. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=738939>.

- Dubey, J., & Lappin, M. (2008). *Toxoplasmosis y neosporosis. Pp 843- 850. En Enfermedades infecciosas del perro y gato Volumen 2. Tercera edición. Greene, C.E . Buenos Aires, Argentina: Editorial Inter Médica.*
- Dubey, J., & Lindsay, D. (1996). A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary parasitology*, 67(1-2), 1-59.
- Dubey, J., Schares, G., & Ortega, L. (2007). Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical microbiology reviews*, 20(2), 323-367.
- Dubey, J., Sreekumar, C., Knickman, E., Miska, K., Vianna, M., Kwok, O., & Greiner, E. (2004). Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. *International journal for parasitology*, 34, 1157-1167.
- Espinoza, J., López, E., Dabanch, J., & Cruz, R. (2022). Recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento de la infección por *Toxoplasma gondii*. *Revista chilena de infectología*, 39(2), 132-137.
- FUJIFILMS. (13 de sep de 2021). *Kits ELISA. ¿Qué son, cómo funcionan y qué información me dan?* Obtenido de <https://www.wakolatinamerica.com/blog-reactivos/noticias-wako/post/kits-elisa-que-son-como-funcionan-y-que-informacion-me-dan/>
- Google Earth. (2021). Obtenido de https://www.google.com/maps/place/GUAP%C3%81N/@-2.6056399,-79.1454732,11.25z/data=!4m6!3m5!1s0x91cd6fd14288d613:0x49d04925bc465a70!8m2!3d-2.7092732!4d-78.851623!16s%2Fg%2F1pv0l0pl_?authuser=0&entry=ttu
- Guy, C., Williams, D., Kelly, D., McGarry, J., Guy, F., Björkman, C., & Trees, A. (2001). *Neospora caninum* in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *The Veterinary record*, 149(15), 443-449.
- Lindsay, D., Dubey, J., & Duncan, R. (1999). Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Veterinary parasitology*, 82(4), 327-333.
- Lindsay, D., Speer, C., Toivio-Kinnucan, M., Dubey, J., & Blagburn, B. (1993). Use of infected cultured cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. *American Journal of Veterinary Research*, 54(1), 103-106.

- Luna, D. (2023). Prevalencia de *Neopora caninum* en poblaciones caninas (Albergues, fincas y clínicas) mediante ELISA competitivo. (*Tesis de grado*). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca.
- Mayancela, L. (2022). Prevalencia de Neosporosis (*Neospora caninum*) en caninos (*Canis lupus familiaris*) mediante el método Elisa Cuantitativa. (*Tesis de grado*). UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE CUENCA, Cuenca.
- Mejía, C. (25 de 10 de 2021). Agencia de Regulación y control Fito y Zoonosanitario. *RESOLUCIÓN 0227*. Quito, Ecuador: Ministerio de Agricultura y Ganadería.
- Pabón, M. (2007). *Estudio de la neosporosis en vacuno lechero en Cataluña*. Cataluña: Universidad Autónoma de Barcelona.
- Peñata, C., & Díaz, V. (2020). Descripción morfológica y anatómica de un granuloma inflamatorio crónico en Gallo Jabaq colombiano (*Gallus gallus domesticus*). *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 12(1), 1.
- Pérez, D., & Rojas, O. (2021). Neosporosis en caninos y bovinos. *Revista Veterinaria*, 32(2), 238-241. Retrieved from https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Neosporosis+en+caninos+y+bovinos+perez+&btnG=#d=gs_cit&t=1713624731463&u=%.
- Reichel, M., McAllister, M., Pomroy, W., Campero, C., Ortega, L., & Ellis, J. (2014). . Control options for *Neospora caninum*--is there anything new or are we going backwards? . *Parasitology*, 141(11), 1455-1470.
- Rodriguez, A. B. (2024). A first insight into seropositivity of *Neospora caninum* and associated risk factors in free-roaming dogs from Ecuador. *Acta Tropica*, 256, 107245.
- Sánchez, Y., Iglesias, A., López, M., & Rodríguez, J. (2021). Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de brucelosis en hatos bovinos de Xochimilco, Ciudad de México. *Revista de Salud Animal*, 43(3).
- Speer, C., & Dubey, J. (1989). Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum*. *The Journal of protozoology* , 36(5), 458-463.

- Speer, C., Dubey, J., McAllister, M., & Blixt, J. (1999). Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *International journal for parasitology*, 29(10), 1509-1519.
- Sykes, J. (2014). *Neosporosis*. En: *Canine and Feline Infectious Diseases*. España: Elsevier.
- Tigmasa, A., & Romero, M. (2023). Frecuencia de anticuerpos anti *Neospora caninum* en perros que conviven con bovinos de leche y carne. (*Tesis de grado*). Universidad de Cuenca, Cuenca.
- Torrel, T., Vargas, L., Murga, C., & Huaman, V. (2022). Prevalencia de *Eimeria* sp y estudio morfométrico de ooquistes hallados en canes domésticos de Perú. *Revista veterinaria*, 33(1), 59-62.
- Vargas, J., & Cortés, J. (2001). *Neospora caninum*, ¿Una Zoonosis Potencial? . *Rev Salud Anim*, 3(1), 89-93. Retrieved from <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/32025/18669-60646-1-PB.pdf?sequence=1>.
- Wouda, W., Moen, A., & Schukken, Y. (1998). Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology*, 49(7), 1311-1316.

7. ANEXOS



Figura 4. Toma de muestras.



Figura 5. Muestras sanguíneas etiquetadas.



Figura 6. Plasma sanguíneo etiquetados.



Figura 7. Kit de ELISA competitivo.

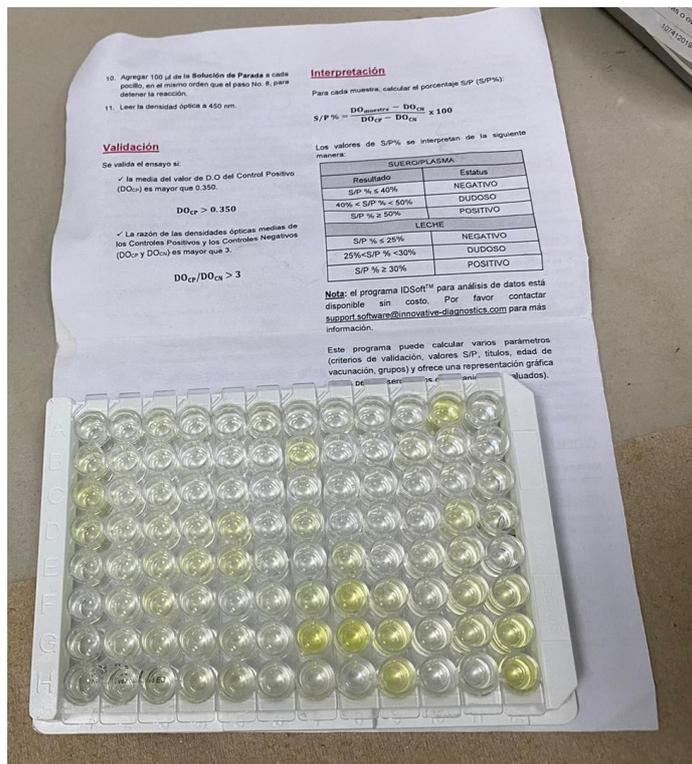


Figura 8. Muestras corridas con el kit de ELISA competitivo.



Figura 9. Equipo de ELISA.

Muestras obtenidas en Cojitambo					
Muestra	Raza	Edad	EDAD	Sexo	Prevalencia
C1	Mestiza	3 años	Adulto	H	NEGATIVO
C2	French poodle	5 años	Adulto	M	NEGATIVO
C3	Mestiza	8 meses	Cachorro	H	NEGATIVO
C4	Mestizo	2 años	Adulto	M	NEGATIVO
C5	Mestizo	7 años	Adulto	M	NEGATIVO
C6	Mestizo	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
C7	Mestizo	5 años	Adulto	H	NEGATIVO
C8	Mestizo	2 años	Adulto	M	NEGATIVO
C9	Cocker spanier	5 años	Adulto	H	NEGATIVO
C10	French poodle	10 años	Adulto	H	NEGATIVO
C11	French poodle	4 años	Adulto	H	NEGATIVO
C12	Pekines	3 años	Adulto	H	NEGATIVO
C13	Bull francés	4 años	Adulto	H	NEGATIVO
C14	Husky	6 años	Adulto	H	NEGATIVO
C15	Husky	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
C16	Golden	5 años	Adulto	H	NEGATIVO
C17	Mestizo	2 años	Adulto	M	NEGATIVO
C18	Husky	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
C19	Schnauzer	10 años	Adulto	M	NEGATIVO
C20	Roffweiler	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
C21	Mestizo	9 años	Adulto	M	NEGATIVO
C22	Mestizo	8 años	Adulto	M	NEGATIVO
C23	Mestizo	7 años	Adulto	M	NEGATIVO
C24	Mestizo	1 años	Adulto	H	NEGATIVO
C25	Mestizo	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
C26	Mestizo	1 año	Adulto	H	NEGATIVO
C27	Mestizo	1 año	Adulto	H	NEGATIVO
C28	Mestizo	1 año	Adulto	M	NEGATIVO
C29	Mestizo	1 año	Adulto	M	NEGATIVO
C30	Mestizo	6 años	Adulto	M	NEGATIVO
C31	Mestizo	4 años	Adulto	M	NEGATIVO
C32	Mestizo	5 años	Adulto	M	NEGATIVO
C33	Mestizo	1 año	Adulto	H	NEGATIVO

Figura 10. Registro de muestras Cojitambo.

Muestras obtenidas de San Marcos/Luis Cordero					
Muestra	Raza	Edad	EDAD	Sexo	Prevalencia
SM1	Mestizo	5 años	Adulto	H	NEGATIVO
SM2	Mestizo	6 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM3	Mestizo	2 años	Adulto	H	NEGATIVO
SM4	Mestizo	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM5	French	4 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM6	Mestizo	1 año	Adulto	H	NEGATIVO
SM7	Mestizo	8 meses	Cachorro	M	NEGATIVO
SM8	Mestizo	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM9	Mestizo	3 años	Adulto	H	NEGATIVO
SM10	Mestizo	4 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM11	Mestizo	2 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM12	Mestizo	9 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM13	Pastor alemán	2 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM14	Schnauzer	6 años	Adulto	H	NEGATIVO
SM15	Pitbull	2 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM16	Mestizo	8 meses	Cachorro	M	NEGATIVO
SM17	Mestizo	8 meses	Cachorro	H	NEGATIVO
SM18	Mestizo	8 meses	Cachorro	M	POSITIVO
SM19	Mestizo	2 años	Adulto	H	NEGATIVO
SM20	French	4 años	Adulto	H	NEGATIVO
SM21	Mestizo	2 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM22	Shitzu	4 años	Adulto	H	NEGATIVO
SM23	Shitzu	5 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM24	French	8 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM25	French	7 años	Adulto	H	NEGATIVO
SM26	Mestizo	5 años	Adulto	H	POSITIVO
SM27	Mestizo	2 años	Adulto	H	NEGATIVO
SM28	Shitzu	6 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM29	Mestizo	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM30	Mestizo	9meses	Cachorro	H	NEGATIVO
SM31	Mestizo	2 años	Adulto	H	NEGATIVO
SM32	Mestizo	4 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM33	Mestizo	6 años	Adulto	M	NEGATIVO
SM34	Mestizo	1 año	Adulto	H	NEGATIVO

Figura 11. Registro de muestras San Marcos/Luis Cordero.

Muestra obtenida de Guapán					
Muestra	Razo	Edad	EDAD	Sexo	Prevalencia
G1	Mestizo	2 años	Adulto	M	NEGATIVO
G2	Bulldog F	8meses	Cachorro	M	NEGATIVO
G3	Labrador	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
G4	Mestizo	7 años	Adulto	M	NEGATIVO
G5	Mestizo	8 años	Adulto	M	NEGATIVO
G6	Mestizo	6 años	Adulto	M	NEGATIVO
G7	Mestizo	2 años	Adulto	H	NEGATIVO
G8	Mestizo	1 año	Adulto	H	NEGATIVO
G9	Mestizo	2 años	Adulto	H	NEGATIVO
G10	Mestizo	5 años	Adulto	M	NEGATIVO
G11	Schnauzer	5 años	Adulto	H	NEGATIVO
G12	Shitzu	7 años	Adulto	M	NEGATIVO
G13	Schnauzer	4 años	Adulto	M	NEGATIVO
G14	Shitzu	2 años	Adulto	H	NEGATIVO
G15	Shitzu	6 años	Adulto	M	NEGATIVO
G16	Shitzu	6 años	Adulto	H	NEGATIVO
G17	Shitzu	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
G18	Shitzu	1 año	Adulto	M	NEGATIVO
G19	Shitzu	1 año	Adulto	M	NEGATIVO
G20	Mestizo	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
G21	Mestizo	4 años	Adulto	H	NEGATIVO
G22	Mestizo	8 años	Adulto	H	NEGATIVO
G23	Mestizo	12 años	Adulto	M	NEGATIVO
G24	Mestizo	3 años	Adulto	H	NEGATIVO
G25	Mestizo	1 año	Adulto	M	NEGATIVO
G26	Mestizo	6 años	Adulto	H	NEGATIVO
G27	Mestizo	11 meses	Cachorro	H	NEGATIVO
G28	Mestizo	1 año	Adulto	H	NEGATIVO
G29	Mestizo	7 años	Adulto	M	NEGATIVO
G30	Mestizo	3 años	Adulto	M	NEGATIVO
G31	Mestizo	2 años	Adulto	M	NEGATIVO
G32	Mestizo	5 años	Adulto	M	NEGATIVO
G33	Mestizo	6 años	Adulto	M	NEGATIVO

Figura 12. Registro de muestras Guapán.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-8,21	-4,31	1,81	-5,98	-9,04	-2,36	-11,54	-9,04	-5,70	-10,15	37,69	-6,54
B	8,21	2,36	-5,42	-3,48	-9,87	-9,04	16,55	-9,32	-10,43	-5,15	-5,98	-12,10
C	115,58	2,09	-2,09	-0,42	-7,09	-10,43	-7,09	-5,42	-4,31	-7,65	-6,26	-4,03
D	84,42	-0,97	-3,20	-0,42	12,93	-10,43	4,03	-8,48	-9,60	-9,60	12,93	-1,81
E	-6,82	-0,42	1,25	10,99	10,43	-7,93	-12,10	6,82	-11,82	-1,81	-0,42	#¡VALOR!
F	-10,43	1,25	9,04	-2,92	-9,04	-2,92	9,87	36,02	6,54	-9,04	12,38	#¡VALOR!
G	3,76	10,71	8,76	11,82	9,60	4,03	62,17	68,01	33,52	10,99	25,17	#¡VALOR!
H	-3,20	1,53	0,97	8,21	2,64	-3,48	-0,14	-7,93	38,53	-4,59	-8,48	#¡VALOR!

Figura 10. Cuadro de resultados con el lector de ELISA.