

SEROEPIDEMIOLOGIA DE *Neospora caninum* EN CANINOS EN EL
DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA, COLOMBIA

JHON ALEXANDER DAZA RODRÍGUEZ
SEBASTIÁN HINCAPIÉ MÁRQUEZ

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
TRABAJO DE GRADO
BERÁSTEGUI
2023

SEROEPIDEMIOLOGIA DE *Neospora caninum* EN CANINOS EN EL
DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA, COLOMBIA

JHON ALEXANDER DAZA RODRÍGUEZ
SEBASTIÁN HINCAPIÉ MÁRQUEZ

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Médico
Veterinario Zootecnista

Director: YONAIRO MANUEL HERRERA BENAVIDES, MVZ. MSc.

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
TRABAJO DE GRADO
BERÁSTEGUI
2023

Nota de aceptación

Jurado

Jurado

Berástegui, mayo de 2023.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	6
AGRADECIMIENTOS	7
LISTA DE TABLAS	8
GLOSARIO	9
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
INTRODUCCIÓN	13
1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	16
2. JUSTIFICACIÓN	18
3. OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GENERAL	19
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4. MARCO REFERENCIAL	20
4.1 ANTECEDENTES	20
4.2 <i>Neospora caninum</i>	21
4.3 ASPECTOS ZONÓTICOS DE <i>N. caninum</i>	22
4.4 VARIACIÓN DE LA DEFINICIÓN Y PATOGENICIDAD.	22
4.5 TRANSMISIÓN	23
4.5.1 TRANSMISIÓN DE <i>N. caninum</i> EN PERROS.	23
4.5.2 TRANSMISIÓN DE <i>N. caninum</i> EN BOVINOS.	24
4.5.3 TRANSMISIÓN POSNATAL (HORIZONTAL).	25
4.6 DIAGNOSTICO	26
4.6.1 PRUEBAS SEROLÓGICAS.	26
4.6.2 DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	30
4.6.3 INMUNOHISTOQUÍMICA	30
4.6.4 AISLAMIENTO.	30
4.6.5 PCR	31
5. DISEÑO METODOLÓGICO	32
5.1 TIPO DE ESTUDIO	32

5.2. LOCALIZACIÓN.	32
5.3. TAMAÑO DE LA MUESTRA Y ANIMALES DE ESTUDIO.	32
5.4. TOMA DE MUESTRA E INFORMACIÓN.	32
5.5. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.	33
5.6. TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS.	35
6. RESULTADOS.....	36
7. DISCUSION	38
8. CONCLUSIÓN.....	43
9. RECOMENDACIONES	44
BIBLIOGRAFÍA.....	45

DEDICATORIA

Agradecemos a Dios por todas y cada una de sus bendiciones, por mantener nuestra brújula siempre enfocada en el norte de nuestro camino, por cada paso que hemos dado en la vida y a cada persona conocida hasta el presente, donde cada una han dejado gratas experiencias y conocimientos. A nuestros padres por su gran motivación y apoyo. A nuestras hermanas que siempre nos han estado dando energía. A cada uno de los profesores involucrados por todas sus asesorías y tutorías durante esta gran meta a cumplir.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por su compañía y darme fuerza en cada acción y situación de adversidad y así poner la frente en alto

A nuestra familia por siempre estar como soporte y apoyo incondicional, antes y durante nuestros estudios profesionales

A nuestro director de trabajo de grado el profesor Yonairo Herrera Benavides por la oportunidad de esta grata experiencia

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Factores fijos asociados a la seropositividad a <i>N. caninum</i> en perros.....	36
Tabla 2. Factores relacionados con contacto con bovinos, asociados a la seropositividad a <i>N. caninum</i> en perros.....	37

GLOSARIO

***Neospora caninum*:** Género de protozoos parásitos de la subclase COCCIDIA. Sus especies son parásitos en perros, ganado vacuno, chivos y carneros, entre otros. *N. caninum*, especie que infecta principalmente al perro, es intracelular en las células neurales y de otros tipos del cuerpo, se multiplican por endodiogenia, no tienen vacuolas parasitóforo, y tienen numerosos roptries. Se conoce que producen lesiones en muchos tejidos, especialmente en el cerebro y en la médula espinal así como abortos en las madres embarazadas.

Transmisión vertical: La transmisión de enfermedades infecciosas o patógenos de una generación a la otra. Incluye la transmisión intrauterina o durante el parto por exposición a sangre y secreciones, y después del parto a través de la lactancia materna.

Transmisión horizontal: La transmisión de enfermedades o patógenos infecciosos. Cuando la transmisión se produce dentro de la misma especie, el modo puede ser horizontal o vertical.

Protozoario: Es un organismo unicelular eucariota con mitocondrias, capacidad para fagocitar y sin pared celular.

Hospedero u hospedador: Organismo que da albergue y/o alimento a otro individuo.

Hospedero intermediario: Es aquél en el que el parásito no alcanza la madurez sexual, albergando formas intermedias (ej. larvas) y/o se multiplica asexualmente.

Ciclo biológico: Etapas secuenciales del desarrollo de un parásito. Si existen fases sexuales, comprenden desde el cigoto hasta la generación de gametas (protozoarios), o desde el huevo hasta el estadio adulto (helmintos y artrópodos).

Frecuencia: La medida más básica que se utiliza para establecer la frecuencia de una enfermedad es el *número de casos o frecuencia absoluta*. Esta medida es de gran utilidad en planificación sanitaria y laboral para tomar decisiones en relación con la distribución de los recursos y adecuarlos a las necesidades. Sin embargo, es poco útil en investigación, dado que no permite realizar comparaciones lo que la inhabilita para investigar, comparar y establecer conclusiones. Un ejemplo de nº absoluto sería el número de trabajadores que sufren accidentes. Con la misma no podemos estimar el riesgo de accidentes, ni establecer el nivel de riesgo en relación a otra empresa o sector.

RESUMEN

Objetivo. Estimar la seroprevalencia de la *Neospora caninum* en caninos de áreas rurales del departamento de Córdoba, Colombia. **Materiales y métodos.** Se realizó un estudio de tipo descriptivo exploratorio de corte transversal a conveniencia en 180 perros de 5 municipios del departamento de Córdoba. Las muestras tomadas fueron desueros sanguíneos y analizados mediante la técnica de ELISA competitiva utilizando para ello el kit comercial ID Screen® *Neospora caninum* Competition (LMV S.A.S.). **Resultados.** La seropositividad general de anticuerpos contra *N. caninum* fue de 1,61% (3/180). En cuanto a la variable sexo, se obtuvo una frecuencia en machos del 1.11% (2/180) y hembras del 0.55% (1/180). En cuanto al grupo etario se obtuvo que la seropositividad a *N. caninum* únicamente en el grupo de adultos 1.61% (3/180), en la variable estado reproductivo y raza se evidenció que los individuos seropositivos fueron mestizos (3/180) y enteros (3/180), el grupo de talla grande fueron los únicos con seropositividad 1.61% (3/180). **Conclusión.** A pesar de ser una seropositividad muy baja con relación a otros estudios nacionales, permite evidenciar la presencia de *N. caninum* en el departamento de Córdoba y región Caribe, al ser el primer estudio en caninos.

Palabras claves: Elisa competitiva, frecuencia, neosporosis, seropositividad.

ABSTRACT

Objective. To estimate the seroprevalence of *Neospora caninum* in canines in rural areas of the department of Córdoba, Colombia. **Materials and methods.** An exploratory descriptive study of cross-sectional convenience was carried out in 180 dogs from 5 municipalities of the department of Córdoba. The samples were taken from blood sera and analyzed by competitive ELISA using the commercial kit ID Screen® *Neospora caninum* Competition (LMV S.A.S.). **Results.** The general seropositivity of antibodies against *N. caninum* was 1.61% (3/180). Regarding the sex variable, the frequency in males was 1.11% (2/180) and in females 0.55% (1/180). Regarding the age group, seropositivity to *N. caninum* was found only in the adult group 1.61% (3/180), in the reproductive status and race variable, it was found that the seropositive individuals were mestizos (3/180) and entire (3/180), the large size group were the only ones with seropositivity 1.61% (3/180). **Conclusion.** In spite of being a very low seropositivity in relation to other national studies, it allows evidencing the presence of *N. caninum* in the department of Córdoba and the Caribbean region, being the first study in canines.

Key words: competitive Elisa, frequency, neosporosis, seropositivity.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación se enfocó en estudiar la seroepidemiología de *Neospora caninum* (*N. caninum*) en caninos de zonas rurales de los municipios de Montería, Ciénaga de Oro, Sahagún, Cerete y San Carlos, ubicados en el departamento de Córdoba, Colombia. Este es un parásito coccidiano con una amplia gama de hospedadores. En general, es muy similar en estructura y ciclo de vida a *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), con dos diferencias importantes: (I) la neosporosis es principalmente una enfermedad del ganado, y los perros y cánidos relacionados son huéspedes definitivos de *N. caninum*, mientras que (II) La toxoplasmosis es principalmente una enfermedad de humanos, ovejas y cabras, y los felinos son los únicos huéspedes definitivos de *T. gondii* (1).

Para analizar esta problemática es necesario entender el ciclo de vida de la *N. caninum*, el cual se caracteriza por tener tres etapas infecciosas conocidas: taquizoítos, quistes tisulares y ooquistes (1). Las tres etapas infecciosas de *N. caninum* (taquizoítos, bradizoítos y ooquistes) están involucradas en la transmisión del parásito. Es probable que los carnívoros se infecten al ingerir tejidos que contengan bradizoítos, y los herbívoros probablemente se infecten por la ingestión de alimentos o agua potable contaminada por ooquistes esporulados de *N. caninum*. La infección transplacentaria puede ocurrir cuando los taquizoítos se transmiten de una madre infectada a su feto durante el embarazo (1). No se sabe nada sobre la supervivencia de los ooquistes de *N. caninum* en el medio ambiente. Debido a su estrecha relación con *T. gondii*, se supone que la resistencia ambiental de los ooquistes de *N. caninum* es similar a la de los ooquistes de *T. gondii* (2).

Respecto a la prevalencia general que se ha registrado de *N. caninum* en los diferentes continentes, se reportan valores en Norte y Centro América de 24%, Suramérica 18%, Asia 15%, Europa 13%, África y Oceanía 8% (3), valores que

son significativamente menores a los reportados en algunos lugares de Colombia (63- 74%) (4, 5). A diferencia del conocimiento que se tiene sobre *Neospora* en bovinos en Colombia, en los caninos es escasa la información que permita reconocer la importancia del perro en la transmisión del parásito a los bovinos situación que se agrava por la inexistencia de vacunas comerciales efectivas para proteger a los animales susceptibles y evitar la posterior infección (6).

El interés de analizar esta problemática se debe al escaso conocimiento de estudios en caninos que permita reconocer la importancia del perro en la transmisión del parásito a los bovinos, lo cual pone en evidencia la necesidad de estimar la prevalencia de anticuerpos en regiones con reconocida actividad ganadera y que a su vez cuentan con poco acceso a agua potable tanto para la población como para los animales, en donde los problemas reproductivos que ocasiona *N. caninum* podrían tener mayor impacto y por ende se desconocen.

El método diagnostico por el cual se detectará *N. caninum* será la ELISA competitivo para la detección de anticuerpos contra *N. caninum* en suero o plasma de rumiantes, perros u otras especies susceptibles, utilizando para ello el kit comercial ID Screen® *Neospora caninum* Competition (LMV S.A.S.).

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es estimar la frecuencia de la *N. caninum* en perros de zonas rurales de los municipios de Montería, Ciénaga de Oro, Sahagún, Cerete y San Carlos, ubicados en el departamento de Córdoba y determinar algunos factores asociados a la seropositividad. Información que ayudara a la elaboración de programas adecuados de prevención y control de este protozoario.

1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

N. caninum es un parásito protozoario de los animales. Hasta 1984, se diagnosticó erróneamente como *T. gondii* (7). Desde su primer reconocimiento en 1984 en perros en Noruega (8, 9) y la descripción del nuevo género y especie *N. caninum* (7), la neosporosis se ha convertido en una enfermedad grave tanto para el ganado bovino, como para los caninos en todo el mundo.

Los abortos y la mortalidad neonatal son un problema importante en las operaciones ganaderas y la neosporosis es una de las principales causas de aborto en el ganado. Según la literatura no se han encontrado reportes que demuestren la presencia del parásito en tejidos humanos. Por tanto, el potencial zoonótico es incierto.

El ciclo de vida se caracteriza por las tres etapas infecciosas conocidas: taquizoítos, quistes tisulares y ooquistes. Los taquizoítos y los quistes tisulares son las etapas que se encuentran en los hospedadores intermediarios y ocurren intracelularmente (10). Los taquizoítos miden aproximadamente 6 por 2 μm . Los quistes tisulares suelen tener forma redonda u ovalada, de hasta 107 μm de largo y se encuentran principalmente en el sistema nervioso central. La pared del quiste tisular tiene un grosor de hasta 4 μm y los bradizoítos encerrados miden de 7 a 8 por 2 μm (10).

Los tejidos extraneurales, especialmente los músculos, pueden contener quistes tisulares (11, 12). La etapa ambientalmente resistente del parásito, el oocisto, se excreta en las heces de los perros y coyotes en una etapa no esporulada (13,14). Los oocistos esporulan fuera del huésped en tan solo 24 h. No se sabe nada sobre la supervivencia de los ooquistes de *N. caninum* en el medio ambiente.

Este protozooario representa un alto riesgo para las hembras bovinas en estado de gestación, pudiendo provocar aborto, afectando considerablemente a las producciones ganaderas del departamento de Córdoba y Colombia en general. Teniendo en cuenta estos datos se puede inferir que, esta enfermedad presenta una serie de inconvenientes para los individuos que las contraigan, variando sus magnitudes de efectos en cada uno de ellos, pero se puede decir que es una enfermedad de mucho valor investigativo, ya que, no se tienen datos precisos y actualizados de la seroepidemiología en el departamento, en una especie clave para su transmisión como lo es el canino, el cual es un punto clave para obtener datos que ayuden a disminuir las problemáticas causadas por estas enfermedades.

El estudio buscó estimar la seroprevalencia del *N. caninum* en perros de zonas rurales del departamento de Córdoba y determinar algunos factores asociados a la seropositividad; por tanto, el presente proyecto de investigación pretende dar solución a la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál sería el grado de seropositividad de caninos a *N. caninum* que conviven en predios pecuarios (producciones ganaderas) del departamento de Córdoba, Colombia? Información que ayudara a la formación de programas de prevención y control de este protozooario.

2. JUSTIFICACIÓN

La investigación se enfocó en estudiar la seroepidemiología de *N. caninum* en caninos de zonas rurales de los municipios de Montería, Ciénaga de Oro, Sahagún, Cerete y San Carlos, ubicados en el departamento de Córdoba, debido a que este parásito genera una problemática en la salud de especies de interés zootécnico (ganado bovino), siendo *N. caninum* un parásito con efectos muy nocivos para la reproducción bovina. Sin embargo, en los caninos es escasa la información que permita reconocer la importancia del perro en la transmisión del parásito a los bovinos. Así, el presente trabajo permitió mostrar la seropositividad de este protozooario en la población canina estudiada, otorgando valores sobre el grado de infección por *N. caninum*, los cuales permiten profundizar en los conocimientos teóricos sobre la dinámica de transmisión de la neosporosis por parte de los perros hacia el ganado vacuno en el departamento, además de ofrecer una mirada integral sobre la problemática de salud pública producida por la falta de controles sanitarios del agua, falta de conocimiento frente a esta situación y demás factores que favorecen a la diseminación de esta enfermedad, ayudando a la concientización de los productores. Además, los datos arrojados por las pruebas de investigación contribuyen a temas de investigación futuros, en donde se necesiten de datos relevantes, precisos y actualizados a cerca de la seroepidemiología con la correspondiente seroprevalencia de dicho parásito en la población de caninos del departamento de Córdoba; y así, de esta forma generar aportes para la comunidad científica actual, brindando soluciones a las incógnitas que se presentan día a día en el campo investigativo. Aportes como lo son, cifras de prevalencia de casos de caninos positivos a *N. caninum* en el departamento, y así, poder tener base para investigaciones futuras.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Estimar la seropositividad de *Neospora caninum* en caninos de áreas rurales del departamento de Córdoba, Colombia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la frecuencia y factores de riesgo asociados a la seropositividad de los caninos a *N. caninum*.
- Obtener datos que permitan reconocer la importancia del perro en la transmisión del parásito *N. caninum* en los sistemas de producción ganaderos.
- Identificar posibles focos de infección que estarían contribuyendo a un ciclo enzoótico de la enfermedad

4. MARCO REFERENCIAL

Dentro de la literatura científica actual, con referencia a la temática de epidemiología de *N. caninum*, se pueden definir conceptos como la descripción del parásito, transmisión, aspectos zoonóticos, variación, patogenicidad, entre muchos temas más que abarca el tema en relación. La búsqueda de información de dicho tema tiene que realizarse en fuentes seguras, confiables y actualizadas, debido a que este es un tema que se va a mantener en constante investigación y, por ende, con conocimientos nuevos.

4.1 ANTECEDENTES

La literatura acerca de *N. caninum* en caninos actualmente cuenta con diversos estudios a nivel mundial (15, 16, 17, 18), situación contraria al panorama nacional donde las investigaciones que tienen como objetivo de estudio a los perros son reducidos, siendo éste el principal protagonista en la transmisión de la enfermedad a muchas especies, causando problemas económicos y de salud en general; sin embargo, en base de datos actualizadas y confiables se encontraron trabajos científicos nacionales e internacionales que evidencian cierta información epidemiológica.

En el trabajo realizado por Robbe, *et al.* en una región de Italia titulado seropositividad de *Neospora Caninum* y factores de riesgo reproductivos en perros, se informó una seropositividad global del 32% del total de la población de perros muestreados (100 perros), divididos en dos grupos, siendo el grupo 1 (50 perros) animales de granjas y grupo 2 (50 perros) animales de criaderos, mostrando mayor seropositividad a *N. caninum* en el grupo 1 (46%) con respecto al grupo 2 (18%); utilizando la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (15).

Entre tanto, en Australia Sloan, *et al.* realizaron un estudio sobre la alta seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros en Victoria, Australia, en comparación a hace 20 años, mediante las técnicas de Inmunofluorescencia indirecta y de Elisa competitiva, encontraron una seroprevalencia actual del 29,8% en la población total estudiada (483 perros) (16).

En cuanto al panorama nacional, Méndez, *et al.* llevaron a cabo una detección de anticuerpos contra *N. caninum* en 222 caninos del área urbana y rural de Cumaral, Meta-Colombia, de los cuales 82 (36.9%) de ellos fueron positivos a la presencia de IgG contra *N. caninum* (19). Además, en la clínica Dover de la ciudad de Bogotá-Colombia se realizó un estudio clínico serológico y coprológico de *N. caninum*, el cual se realizó con 50 caninos de diferentes raza y sexo, los cuales presentaban al menos un signo neurológico compatible con neosporosis, resultando positivos 6 caninos de los 50 totales (12%) por medio de la prueba de inmunofluorescencia indirecta y ninguno de ellos presento quistes en la materia fecal (20).

4.2 *Neospora caninum*.

N. caninum es un protozooario intracelular obligado, con características filogenéticas similares a *T. gondii*, su ciclo de vida se caracteriza por la capacidad del parásito de formar quistes en el huésped y ocasionar enfermedad neuromuscular en los perros, sin embargo, los mayores efectos ocurren sobre la reproducción bovina, especialmente abortos y mortalidad neonatal, que ocasionan pérdidas económicas a la producción ganadera mundial (1). Estudios experimentales, confirman que una vez el parásito alcanza el huésped, se mantiene en los perros domésticos y el ganado (21). Los caninos, los coyotes, el oso gris pueden actuar como huéspedes definitivos del protozooario, mientras algunas aves y otros mamíferos lo hacen como huéspedes intermediarios (22).

Dentro de la epidemiología de *N. caninum*, los perros son huéspedes definitivos del parásito, eliminando ooquistes (23) que luego de esporular en el medio ambiente, se constituyen en la forma infectiva para el ganado y otros huéspedes intermediarios (24). El parásito puede ser transmitido de forma horizontal o vertical, por varias generaciones, lo que hace que la enfermedad se perpetúe a través del tiempo (1). Otra forma de transmisión es a través de la leche contaminada con taquizoítos (1). Los perros afectados por *N. caninum*, especialmente en infecciones in útero, desarrollan desórdenes neuromusculares severos, con parálisis ascendente y sobre extensión de los miembros posteriores (25).

4.3 ASPECTOS ZONÓTICOS DE *N. caninum*.

Debido a que dos monos Rhesus (*Macaca mulatta*) han sido infectados con éxito con *N. caninum* (26), existe preocupación por el potencial zoonótico de *N. caninum*. Sin embargo, en la actualidad no hay pruebas firmes de que *N. caninum* infecte con éxito a los seres humanos, porque solo se han informado niveles bajos de anticuerpos (7), y no se ha demostrado ni el ADN de *N. caninum* ni el parásito en tejidos humanos.

4.4 VARIACIÓN DE LA DEFINICIÓN Y PATOGENICIDAD.

Ahora está bien establecido que *N. caninum* puede causar enfermedades graves en el ganado y los perros. Los aislados de *N. caninum* de varios huéspedes son genéticamente similares, aunque cada cepa tiene su propia firma (27). Se sabe poco de la variación de la cepa con respecto a la patogenicidad. No existen modelos animales adecuados para probar la variación de cepas. En estudios limitados realizados en ratones, algunas cepas de *N. caninum* fueron más patógenas para estos que otras (28, 29). Además, en otros estudios se han inducido abortos o infecciones fetales en bovinos mediante el uso de una variedad

de aislamientos en diferentes laboratorios (30), pero una comparación significativa con bovinos preñados sería económicamente prohibitiva.

4.5 TRANSMISIÓN.

N. caninum puede transmitirse posnatalmente (horizontalmente, lateralmente) por ingestión de tejidos infectados por taquizoítos o quistes tisulares o por ingestión de alimentos o agua potable contaminados por ooquistes esporulados, o puede transmitirse por vía transplacentaria (verticalmente, congénitamente) de una madre infectada a su feto durante la gestación. Recientemente, se han propuesto los términos “transmisión transplacentaria exógena” y “transmisión transplacentaria endógena” para describir con mayor precisión el origen de la infección transplacentaria del feto (31). La transmisión transplacentaria exógena ocurre después de una infección primaria derivada de oocistos de una madre gestante, mientras que la transmisión transplacentaria endógena ocurre en una madre infectada persistentemente después de la reactivación (recrudescencia) de la infección durante la gestación.

Los quistes tisulares y los bradizoítos pueden sobrevivir hasta 2 semanas a temperatura de refrigeración (4 ° C) pero mueren por congelación (4, 32). Los ooquistes infectaron por vía oral el ganado (33), cabras y ovejas (34) y roedores como ratones, jerbos (*Meriones unguiculatus*) y cobayas (*Cavia porcellanus*) (13, 34). La transmisión transplacentaria se ha inducido experimentalmente en bovinos, perros, ovejas, cabras, monos, gatos y ratones y se produce de forma natural en muchos huéspedes (35). La transmisión transplacentaria ocurre cuando los taquizoítos de la presa atraviesan la placenta. La ingestión de ooquistes es el único modo demostrado de transmisión posnatal (horizontal) en herbívoros (7).

4.5.1 TRANSMISIÓN DE *N. caninum* EN PERROS.

No se comprende completamente cómo los perros se infectan con *N. caninum* en la naturaleza. Históricamente, la transmisión vertical de la neosporosis se reconoció por primera vez en perros (2). Se ha demostrado la transmisión transplacentaria en perros infectados experimentalmente (36). En la mayoría de los casos de neosporosis neonatal, los signos clínicos no son evidentes hasta 5 a 7 semanas después del nacimiento (36). Estos datos sugieren que *N. caninum* se transmite de la madre a los recién nacidos hacia las etapas terminales de la gestación o posnatalmente a través de la leche. La transmisión vertical de *N. caninum* en perros se considera muy variable y no es probable que persista en ausencia de infección horizontal (37).

Si bien el consumo de fetos bovinos abortados no parece ser una fuente importante de infección por *N. caninum* en perros (38), el consumo de membranas fetales bovinas puede ser una fuente de *N. caninum* para perros. El parásito se ha encontrado en placentas naturalmente infectadas (39), y los perros alimentados con placentas de vacas seropositivas recién paridas pueden arrojar ooquistes de *N. caninum* (40). Se ha demostrado ampliamente que los perros pueden infectarse ingiriendo tejidos infectados (7), pero se desconoce si pueden infectarse mediante la ingestión de ooquistes.

4.5.2 TRANSMISIÓN DE *N. caninum* EN BOVINOS.

N. caninum es uno de los parásitos transmitidos por vía transplacentaria más eficazmente entre todos los microbios conocidos en el ganado. En ciertos rebaños, prácticamente todos los terneros nacen infectados pero asintomáticos. La evidencia de esta transmisión transplacentaria eficiente proviene de varias fuentes: familiar, comparación del estado de anticuerpos en las vacas y su progenie, estado de infección de la progenie y experimental (7).

En el ganado vacuno y otros rumiantes, no hay transferencia de anticuerpos de la madre al feto, ni siquiera a través de una placenta dañada por un proceso infeccioso. Por lo tanto, la detección de anticuerpos específicos en suero precolostral indica la síntesis de anticuerpos en el útero por parte del feto. Sin embargo, el hallazgo de ausencia de anticuerpos en el feto no es concluyente de la ausencia de infección, porque el feto podría haberse infectado al final de la gestación, dejando tiempo insuficiente para la síntesis de anticuerpos (7).

Rara vez es posible que una madre seronegativa dé a luz a un ternero seropositivo; esto puede deberse a que la vaca ha estado infectada durante algún tiempo y el nivel de anticuerpos ha disminuido a un nivel indetectable (41). Aunque varios grupos de investigación que utilizan muchas cepas han inducido la infección transplacentaria exógena por *N. caninum* y el aborto en vacas infectadas experimentalmente con taquizoítos u ooquistes (31), se sabe poco sobre la distribución y persistencia de *N. caninum* en tejidos de ganado adulto infectado postnatalmente. Los modelos matemáticos de infecciones por *N. caninum* dentro de los rebaños lecheros (42) indican que incluso niveles bajos de transmisión horizontal pueden ser importantes para el mantenimiento de la infección dentro de los rebaños, porque la transmisión por infección transplacentaria endógena es inferior al 100% y, por lo tanto, conduciría a una continua disminución de la prevalencia de la infección en los rebaños infectados.

4.5.3 TRANSMISIÓN POSNATAL (HORIZONTAL).

La ingestión de ooquistes de *N. caninum* esporulados del medio ambiente es el único modo natural demostrado de infección en el ganado después del nacimiento (34). Hasta la fecha, no se ha observado la transmisión de vaca a vaca de *N. caninum*. Actualmente no hay evidencia de que *N. caninum* in vivo esté presente en las excreciones o secreciones de vacas adultas asintomáticas. Los terneros recién nacidos pueden infectarse después de la ingestión de leche contaminada

con taquizoítos (43) y se ha demostrado el ADN de *N. caninum* en la leche, incluido el calostro (44). Sin embargo, no hay evidencia concluyente de que la transmisión lactogénica de *N. caninum* ocurra en la naturaleza (40). La transmisión venérea puede ser posible, pero poco probable.

4.6 DIAGNÓSTICO.

Para la detección de *N. caninum* existen diversas técnicas con sus respectivos procedimientos, como las siguientes.

4.6.1 PRUEBAS SEROLÓGICAS.

Las pruebas serológicas más usadas son la de inmunofluorescencia indirecta, aglutinación y ELISA (45).

- En el inmunoensayo enzimático heterogéneo, conocido con el nombre ELISA, siempre se realiza una separación entre el inmunocomplejo formado sobre la fase sólida y las biomoléculas no fijadas. Esta separación puede hacerse por simple aspiración y lavado, lo que permite eliminar todos los componentes de la muestra que podrían interferir en el ensayo. La separación entre los inmunorreactantes libres y fijados puede hacerse también por sedimentación, captura de los inmunocomplejos de interés, filtración, difusión radial y otros principios inmunocromatográficos que han servido de base a ensayos rápidos, sencillos y que no requieren equipamiento, muy apropiados para el diagnóstico individual. No obstante, los lavados continúan siendo el procedimiento de elección y son necesarios entre cada paso de reacción, lo que obstaculiza la automatización. Esta limitante se ha superado con el uso de ensayos, cuando es posible, en un solo paso, en el que se añaden simultáneamente los inmunorreactantes, dirigidos contra diferentes epítomos; de esta forma se requiere lavar tan sólo en el paso previo al substrato (46).

La técnica ELISA se fundamenta en la premisa de que luego de acoplar antígenos solubles o anticuerpos a una matriz sólida insoluble, éstos retienen la actividad inmunológica y en que estas biomoléculas también pueden unirse a una enzima, reteniendo el conjugado resultante, tanto la actividad enzimática como inmunológica (46).

Existen diferentes clasificaciones para los ELISAs, algunas de ellas contradictorias, aunque basadas fundamentalmente en los principios de reacción. Generalmente se proponen una serie de métodos básicos a partir de los cuales se derivan una serie de variantes. Los ELISAs pueden ser competitivos o no competitivos (46).

En los ensayos competitivos, los anticuerpos o los antígenos son inmovilizados sobre la fase sólida y su unión con el conjugado antígeno-enzima o anticuerpo-enzima, es inhibida por la presencia de analito no marcado en la muestra. Las incubaciones entre muestras y conjugados pueden ser simultáneas o secuenciales. Esta última variante no es estrictamente competitiva, con ella se alcanza una mayor detectabilidad y es recomendada cuando se quieren detectar anticuerpos de baja afinidad. En general, la sensibilidad y detectabilidad de estos ensayos es inferior a otros ELISAs que luego describiremos (46).

Algunos autores consideran el principio de inhibición como no competitivo; sin embargo, ocurre una competencia tal y como sucede con otros ensayos fundamentados en este principio, ya que, aunque el antígeno en solución reaccione con el anticuerpo libre, la reacción puede desplazarse hacia el inmunorreactante de captura, sobre todo cuando es simultánea. Estos ensayos, en especial el de inhibición de antígeno, son útiles para la evaluación de la respuesta inmune humoral, al favorecer la interacción antígeno-anticuerpo que se realiza en

la fase líquida, correlacionando habitualmente bien con los ensayos in vivo; no obstante, son más laboriosos, sobre todo cuando se requiere procesar un gran número de muestras (46).

Los ensayos heterogéneos no competitivos pueden subdividirse de acuerdo al inmunorreactante inmovilizado, serán, por tanto, ensayos de captura de anticuerpos o de antígenos. Entre los primeros se destaca el principio de ensayo indirecto, en el cual los antígenos capturan a los anticuerpos y la reacción se evidencia por el conjugado antiinmunoglobulina-enzima, o proteína A-enzima. La cantidad de enzima enlazada indica la cantidad de anticuerpos en el suero y puede ser medida por la degradación de su sustrato. No obstante, debe tenerse en cuenta que su correlación con los ensayos in vivo se afecta cuando la concentración de anticuerpos es baja, ya que el ELISA indirecto tiende a sobrestimar los sueros de bajos títulos, probablemente esto se deba a la presencia de inmunoglobulinas inespecíficas o anticuerpos de baja afinidad. Este método es el de elección para detectar anticuerpos de clase IgG o IgA. La IgM puede estudiarse previa absorción de los anticuerpos IgG, aunque este isotipo debe evaluarse preferentemente con ensayos de captura IgM. Los ensayos indirectos presentan una alta detectabilidad que depende de la densidad de epítomos de relevancia diagnóstica presentes en la fase sólida (46).

El ELISA tipo sándwich doble anticuerpo es el ejemplo clásico de métodos para la detección de antígenos, el primer anticuerpo captura el antígeno de la muestra que es detectado a través del conjugado anticuerpo-enzima o amplificado con un conjugado dirigido contra el segundo anticuerpo (sándwich doble anticuerpo modificado) u otros procedimientos (46).

Los ensayos sándwich doble antígeno, son usados para la detección de anticuerpos y son muy útiles para la evaluación de la respuesta inmune inducida

por vacunas; en estos ensayos, al igual que en los indirectos, los antígenos capturan los anticuerpos, pero en esta ocasión en lugar de un conjugado anti-inmunoglobulina-enzima, usamos antígeno-enzima, de esta forma se alcanza la máxima sensibilidad y detectabilidad al no ser necesario diluir las muestras; sin embargo, detectamos todas las clases de inmunoglobulinas, lo que en ocasiones no es conveniente (46).

En general, los ensayos sándwich son más apropiados para la automatización de los sistemas ELISA, ya que puede disminuirse un paso de reacción añadiendo simultáneamente muestras y conjugado, aunque hay que prever las posibles interferencias del conjugado a elevadas concentraciones de antígenos o anticuerpos en la muestra (46).

Los ensayos de captura IgM deben usarse si queremos estudiar, mediante la detección de IgM, la respuesta primaria inducida por inmunógenos vacunales timo dependientes, o la producción de IgM en los timos independientes, estos ensayos son también usados en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. Los anticuerpos anti-IgM inmovilizados capturan la IgM de la muestra, que a su vez reacciona con el antígeno conjugado con una enzima, o sin marcar, lo que requiere de un paso adicional con un anticuerpo marcado. De esta forma se verifica si están presentes los anticuerpos específicos para el isotipo capturado (46).

La detectabilidad de todos estos ensayos puede incrementarse usando métodos de amplificación no inmunológicos (por ejemplo, el sistema avidina-biotina y cascadas enzimáticas) o inmunológicos (como el sistema peroxidasa-antiperoxidasa) (46).

La selección de uno u otro principio depende principalmente de los propósitos del ensayo, la disponibilidad y calidad de los reactivos, su utilización en la práctica y la necesidad o no de su ajuste a un formato de estuche de reactivos. Para evaluar la inmunogenicidad de un candidato vacunal o realizar estudios seroepidemiológicos de enfermedades inmunoprevenibles, deben valorarse los ensayos sándwich doble antígeno o los de inhibición, cuyas ventajas hemos descrito, aunque es insustituible el ensayo indirecto con el uso de conjugados específicos de clase, sobre todo IgG para estudiar la respuesta secundaria, e IgA cuando se requiera evaluar la inmunidad de mucosa (46).

- La prueba de inmunofluorescencia indirecta se utiliza para detectar anticuerpos anti-Neospora en el suero de las vacas que abortan o en el suero o líquidos fetales. En vacas, se consideran como indicador de aborto por este parásito las reacciones positivas a con títulos altos, pero no excluyen otras etiologías. A la inversa, la ausencia de detección de anticuerpos excluiría la neosporosis como causante de aborto. El título de 1:25 en suero o líquidos fetales indica infección fetal, pero las reacciones negativas no indican ausencia de infección (45).

4.6.2 DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO.

La detección de lesiones compatibles con las ocasionadas por *N. caninum* orientan el diagnóstico que se confirmaría definitivamente si el feto tiene serología positiva o con una reacción positiva por inmunohistoquímica (45).

4.6.3 INMUNOHISTOQUÍMICA.

La tinción por inmunohistoquímica también confirma la infección (45).

4.6.4 AISLAMIENTO.

El aislamiento del parásito a partir de tejidos fetales se obtiene poco frecuentemente, probablemente porque se muere por la lisis de los tejidos que ocurre desde la muerte del feto hasta su expulsión (45).

4.6.5 PCR.

La prueba de PCR es un valioso auxiliar para el estudio de esta parasitosis. La detección de ADN del parásito en tejidos confirma la infección (45).

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 TIPO DE ESTUDIO

El estudio fue de tipo descriptivo exploratorio de corte transversal.

5.2. LOCALIZACIÓN.

El estudio se desarrolló en 5 municipios del departamento de Córdoba, Colombia, ubicado entre las coordenadas 7° 23' y 9° 26' de latitud Norte y los 74° 52' y 76° 32' de longitud Oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 30 msnm, con temperatura promedio anual de 28°C, humedad relativa del 82 %, precipitación media anual de 1.400mm y pertenece a la formación climática de bosque tropical lluvioso. Se presentan dos estaciones bien definidas (época de lluvia y época seca) (47)

5.3. TAMAÑO DE LA MUESTRA Y ANIMALES DE ESTUDIO.

Se realizó un estudio seroepidemiológico a conveniencia en 180 individuos caninos de todas las edades, razas y sexo de áreas rurales aledañas a sistemas de producción ganaderos del departamento de Córdoba, Colombia.

5.4. TOMA DE MUESTRA E INFORMACIÓN.

Se tomaron 5 ml de muestra sanguínea por venopunción de la vena radial en tubos vacutainer® (Becton Dickinson, USA) al vacío sin anticoagulante tapón amarillo y se esperó a temperatura ambiente hasta la contracción del coagulo, para luego ser almacenadas en cajas de frio a 4°C y transportadas al Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Córdoba donde se obtuvo el suero por

centrifugación a 5000 rpm durante 10 minutos y conservados a -80°C en alícuotas de 1,5 ml hasta la realización del ensayo.

También se tomó información epidemiología de los caninos mediante entrevista a los propietarios sobre el sexo, edad, raza, talla, alimentación, ubicación y estado reproductivo de cada animal. Se agruparon de acuerdo a las variables edad, sexo, talla y raza, siendo los grupos etarios los siguientes, cachorros (<12 meses), jóvenes (12 – 24 meses) y adultos (>24 meses).

5.5. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.

Las muestras obtenidas fueron procesadas a través de la técnica diagnóstica de ELISA competitivo utilizando para ello el kit comercial ID Screen® Neospora caninum Competition (LMV S.A.S.), realizando los siguientes procedimientos:

Para iniciar con el procedimiento, las muestras se prepararon en dos microplacas de 96 pocillos con los controles positivos y negativos antes de transferirlos a las microplacas de ELISA con la ayuda de la pipeta multicanal.

Posterior a esto, se preparó la solución de lavado (1x) diluyendo 1:20 la solución de lavado concentrada (20X) en agua destilada. Todos los reactivos a utilizar se encontraban a temperatura ambiente 21 °C (+/- 5 °C) y homogenizados con un vortex.

Para la incubación corta, en la microplaca 1 se añadieron 50 ul de diluyente 14 a cada pocillo, 50 ul de control positivo a los pocillos E12 y F12, 50 ul de control negativo a los pocillos G12 y H12, y 50 ul de la muestra a ensayar a los pocillos restantes, en la microplaca 2 se añadieron 50 ul de diluyente 14 a cada pocillo, 50 ul de control positivo a los pocillos B12, C12, G12 y H12, 50 ul de control negativo a los pocillos D12, E12 y F12, y 50 ul de la muestra a ensayar a los pocillos restantes. Luego, se cubrieron las placas y se incubaron 45 minutos a 37 °C.

Para llevar a cabo el ensayo, se vaciaron los pocillos y se lavaron 3 veces cada pocillo con 300 ul de solución de lavado, después se preparó el conjugado 1X diluyendo 1:10 del conjugado concentrado 10X con el diluyente 12 y se añadieron 100 ul de conjugado 1X a cada pocillo para luego cubrir la placa y dejar en incubación 30 minutos a 21 °C. Cumplido el tiempo de incubación, se vaciaron los pocillos y se lavaron 3 veces cada pocillo con 300 ul de solución de lavado y luego, se le agregó 100 ul de la solución de revelación a cada pocillo, para después cubrir las placas e incubarlas a 15 minutos a 21 °C en la oscuridad. Por último, ya pasado el tiempo de incubación se le agregaron 100 ul de solución de parada a cada pocillo para detener la reacción y así obtener los resultados a través de la lectura de D.O a 450 nm.

El ensayo se validó según lo propuesto por el inserto del kit ID Screen® *Neospora caninum* Competition, el cual indicaba lo siguiente:

El ensayo es validado si:

- El valor medio de la D.O. del Control Negativo (DOCN) es mayor que 0.7.

$$DO_{CN} > 0.700$$

- La razón entre el valor medio de la D.O. del Control Positivo (DOCP) y el valor medio de la D.O del Control Negativo (DOCN) es menor que 0.3.

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

De igual manera su interpretación se realizó con la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de competición (S/N%):

$$\frac{S}{N} \% = \frac{DO \text{ MUESTRA}}{DO \text{ CN}} \times 100$$

Las muestras que presentan un S/N%:

- 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.

5.6. TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS.

Toda la información se tabuló en hojas de Microsoft Excel 2016 y posteriormente se analizaron las variables epidemiológicas de estudio con los casos seropositivos determinando asociatividad o no mediante la prueba de independencia de chi cuadrado.

6. RESULTADOS

La seropositividad general de anticuerpos contra *N. caninum* fue de 1,61% (3/180). La variable sexo no se encontró asociada a la seropositividad a *N. caninum*, debido a que no hubo diferencia notoria entre los dos grupos; machos 1.11% (2/180) y hembras 0.55% (1/180). En cuanto a la variable grupo etario se obtuvo que la seropositividad fue asociada a el grupo de adultos 1.61% (3/180), en la variable estado reproductivo y raza se evidenció que los individuos seropositivos fueron mestizos (3/180) y enteros (3/180), lo cual se relaciona al tamaño de la población que se encuentran en estos grupos. En la variable talla, el grupo de talla grande fueron los únicos seropositivos 1.61% (3/180).

Los resultados arrojados por cada una de las variables de interés: sexo, grupo etario, estado reproductivo, raza y talla se encuentran establecidos de manera específica en la tabla 1.

Tabla 1. Factores fijos asociados a la seropositividad a *N. caninum* en perros

Variable	Condición	Seropositividad <i>N. Caninum</i>	Porcentaje de seropositivos	p valor*
Sexo	Machos	2/180	1.11%	0,7533
	Hembras	1/180	0.55%	
Grupo etario	Cachorro	0/180	0%	0,5638
	Joven	0/180	0%	
	Adulto	3/180	1.61%	
Estado reproductivo	Castrado	0/180	0%	0,8201
	Entero	3/180	1.61%	
Raza	Mestizo	3/180	1.61%	0,7253
	De raza	0/180	0%	
Talla	Pequeño	0/180	0%	0,0040
	Mediano	0/180	0%	
	Grande	3/180	1.61%	

* un valor de $p \leq 0.05$ indica diferencia significativa en la variable analizada. Prueba chi cuadrado.

Otras variables que se evaluaron en el estudio fueron: ubicación y alimentación. La variable ubicación no presentó diferencia significativa, debido a que los individuos seropositivos se distribuyeron en los municipios de Cereté, Montería y San Carlos con 0.55% (1/180) cada uno. En cuanto a la variable alimentación, los del grupo de alimentación mixta poseen la mayor cantidad de seropositivos 1.11% (2/180) y los del grupo de alimentación casera un 0.55% (1/180).

En la tabla 2 se observan los resultados de cada una de estas variables (ubicación y alimentación).

Tabla 2. Factores relacionados con contacto con bovinos, asociados a la seropositividad a *N. caninum* en perros

Variable	Condición	Seropositivos <i>N. caninum</i>	Porcentaje de seropositivos	p valor*
Ubicación	Ciénaga de Oro	0/180	0	0,6887
	Cereté	1/180	0.55%	
	Montería	1/180	0.55%	
	Sahagún	0/180	0	
	San Carlos	1/180	0.55%	
Alimentación	Casera	1/180	0.55%	0,9090
	Concentrado	0/180	0%	
	Mixta	2/180	1.11%	

* un valor de $p \leq 0.05$ indica diferencia significativa en la variable analizada. Prueba chi cuadrado.

7. DISCUSION

El presente estudio mostró por primera vez la presencia de anticuerpos específicos contra *N. caninum* en perros que viven en zona rural del departamento de Córdoba. A pesar de que la seropositividad no fue muy elevada y los perros evaluados no representan la población canina general del departamento, los resultados demuestran que el patógeno puede circular en poblaciones seleccionadas de perros en áreas geográficas particulares que nunca han sido investigadas por neosporosis. Por lo tanto, los resultados establecidos son de particular relevancia en aquellos entornos donde las actividades zootécnicas son de importancia económica, debido a que la especie canina es considerada el huésped definitivo de este protozoario y por ende juega un papel de vital importancia en su transmisión, tanto horizontal como vertical. Teniendo en cuenta que, en investigaciones realizadas en el país, se encontró que en departamentos como Córdoba donde se ha tenido como objeto de estudio las especies bovina y ovina (huésped intermediario), mostraron seropositividad del 10.2% (10/196) en diferentes hatos bovinos del municipio de Montería (48) y la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en el 78.6% (22/28) de los ovinos muestreados en los municipios de Ciénaga de Oro y Sahagún (49). Por su parte, Motta *et al.* (2014) en el departamento del Caquetá, obtuvo porcentajes en vacunos para *N. caninum* del 45,4%. (50) y en Antioquia López *et al.* (2007) reportó una seroprevalencia de 34,6% para el municipio de Fredonia (51).

Otros estudios recientes en el departamento de Boyacá se han evidenciado porcentajes de seropositividad más altos que los obtenidos en el resto del país, en el año 2013 se determinó una seroprevalencia del 57,5% en vacas de la provincia de Sugamuxi (52). Por su parte, Pulido-Medellín *et al.* (2016) encontró una seropositividad del 64% en el municipio de Toca (53). Adicionalmente, en un estudio posterior en el municipio de Sotaquirá se registró una seropositividad de anticuerpos contra *N. caninum* en vacas lecheras con un resultado del 45% (54),

valor similar a los obtenidos por Estupiñan *et al.* (2019), el cual obtuvo porcentajes en bovinos del 52% (195/375) (55). Los valores anteriormente mencionados se podrían considerar elevados si se tiene en cuenta los datos de seropositividad que reporta la literatura en otras regiones del país.

Respecto a la seropositividad en caninos en otros departamentos de Colombia se realizaron estudios para la identificación de *N. caninum*, en el municipio de Rosal, Cundinamarca, se examinaron por PCR excretas de 60 perros, residentes en 30 fincas del sistema de lechería especializada, con presencia de material genómico de *N. caninum* en un 21,6% (13/60) de la población total y en el restante de las muestras (47/60) ninguna permitió reconocer la presencia del parásito (56). En Cumaral Meta, la seroprevalencia general de anticuerpos IgG contra *N. caninum* en perros fue 36.9% (82/222) (19).

En Latinoamérica los resultados son diversos, por ejemplo, en Uruguay, Satragno *et al* (2020), reporta una seropositividad del 47,3% (222/469) en la ciudad de Montevideo (17). Por su parte, García *et al*, (2022), en un estudio realizado en México con 146 caninos analizados, encontraron que 75 mostraron reacción positiva a *N. caninum*, por lo que la identificación de anticuerpos específicos en los perros fue de 51.3% (18).

En países más cercanos como Perú y Venezuela la seropositividad ha sido más baja en comparación con los estudios mencionados anteriormente. En Perú, vega *et al.* (2010), reportan seropositividad en caninos del 14,8 % (18/122) (57), cifra muy similar a la obtenida en Venezuela donde los porcentajes han sido del 12,93% (30/232) (58).

En una región de Italia se informó una seropositividad global del 32% del total de la población de perros muestreados (100 perros), divididos en dos grupos, siendo el grupo 1 (50 perros) animales de granjas y grupo 2 (50 perros) animales de

criaderos, mostrando mayor seropositividad a *N. caninum* en el grupo 1 (46%) con respecto al grupo 2 (18%); utilizando la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (15).

Entre tanto, en Australia Sloan, *et al.* realizaron un estudio sobre la alta seroprevalencia de *N. caninum* en perros en Victoria, Australia, en comparación a hace 20 años, mediante las técnicas de Inmunofluorescencia indirecta y Elisa competitiva, encontraron una seroprevalencia actual del 29,8% en la población total estudiada (483 perros) (16).

Con respecto a los resultados obtenidos en el presente estudio y comparándolos con los trabajos investigativos realizados a nivel nacional se puede inferir que, no fueron los resultados esperados, debido a que se esperaba una mayor seropositividad, teniendo en cuenta que los muestreos se realizaron en una zona con mucha presencia de hatos ganaderos y con factores de riesgo descritos en otros estudios (59). Cabe resaltar que algunos autores como Moore *et al.* (2005) destacan que existen individuos que se encuentran infectados después de ingerir tejidos con el parásito y pueden permanecer seronegativos, sirviendo aún como transmisores de la enfermedad (60).

Teniendo en cuenta que en la literatura científica describen que el mejor diagnóstico para *N. caninum* se realiza a través de pruebas serológicas, tal como se realizó en esta investigación (Elisa competitiva), lo cual genera una mayor certeza en los resultados obtenidos, al igual que en otros estudios realizados en el país, donde se hizo uso de Inmunofluorescencia indirecta y PCR.

En cuanto a las variables de interés en el estudio: sexo, grupo etario, estado reproductivo, raza y talla. Tal como mencionan algunos autores, en la variable sexo y estado reproductivo, la seropositividad a *N. caninum* no se encuentra asociada a ningún sexo en específico, ya que esta afecta de igual forma tanto a

machos como a hembras, enteros o esterilizados. Sin embargo, para la variable del grupo etario Dubey *et al.* (2017) mencionan que esta enfermedad puede presentarse tanto en jóvenes como en adultos, pero el mayor reporte de casos se evidencia en animales adultos, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en la investigación (61). En trabajos científicos se establece que las razas puras se encuentran predispuesta a infectarse con este parásito en zona rurales, sin embargo, esto difiere con los resultados obtenidos, debido principalmente a la proporción de muestras de individuos de raza pura que se tomaron con relación a las muestras de individuos mestizos (61). Según Pérez, (2019) la seropositividad de las tallas grande se debe principalmente a la presencia de mayor masa muscular, lo que se confirma con los resultados, donde la presencia de los seropositivos corresponde al grupo de talla grande (59).

Una hipótesis que puede explicar la alta seroprevalencia del protozooario en los bovinos de Colombia, se relaciona con la presencia de ooquistes en las pasturas, el forraje o el agua de consumo, las cuales representan un factor de riesgo para la infección post-natal del ganado, siendo el departamento de Córdoba una región con condiciones climatológicas (alta humedad) que favorecen la conservación de este estadio en el medio ambiente, además de que gran parte de la población cuenta con micro-producciones ganaderas que no cuentan con planes sanitarios mínimos, permitiendo que las vacas puedan parir o aborten cerca de los comederos, atrayendo a los perros que consumirán placentas o fetos infectados, generando la probabilidad de que al adquirir la infección estos defequen en el alimento o agua de consumo de los bovinos ooquistes. Por otro lado, en un estudio realizado en Francia, observó que el agua concentrada en estanques, representó un factor de riesgo para los bovinos que la bebían, situación que es muy común en Córdoba (62).

De igual forma algunos estudios indican que, aunque pase un tiempo prolongado de estar expuesto a una primo infección en caninos, teniendo estos pocos títulos

de anticuerpos contra *N. caninum* pueden seguir eliminando ooquistes entre 8 y 20 meses después de esta infección inicial (62), dato significativo que puede dar explicación de la seropositividad tan baja en caninos comparándolos con los bovinos, debido a que la mayoría de animales muestreados se caracterizan por estar rondando constantemente por diferentes predios ganaderos, ya que no hay forma de regular la presencia de ellos en las fincas, razón por la cual un solo individuo canino con neosporosis puede diseminar ooquistes e infectar a gran cantidad de vacas que pastoreen en los lugares que el perro elimino este estadio del *N. caninum*, además de que los ganaderos por falta de conocimiento referente al tema no le dan importancia a esto, factor que deriva en que no se tomen estrategias al respecto, motivo por el cual sería lógico que los individuos bovinos presenten tasas de seropositividad considerablemente más elevada.

Por último, es importante destacar que hasta ahora las pruebas serológicas para detectar anticuerpos de *N. caninum* han sido el método más común para diagnosticar el estado de infección en hatos y caninos. Sin embargo, los títulos fluctúan considerablemente y animales crónicamente infectados pueden llegar a convertirse en seronegativos, por lo que los resultados serológicos en un solo estudio no siempre reflejan el estado real de infección en una zona determinada (63). Por lo que se hace necesario llevar a cabo pruebas en serie en el transcurso de varios años para evaluar la sensibilidad y especificidad de realizar un solo muestreo.

Los resultados de este estudio marcan el inicio de las investigaciones de seroepidemiología de *N. caninum* en el departamento de Córdoba y la región Caribe, tomando a la especie canina como objeto de estudio; para de esta forma complementar con otras investigaciones del país y así establecer un panorama nacional actualizado del estado de prevalencia del parásito en los caninos.

8. CONCLUSIÓN

A partir de los resultados que se obtuvieron con esta investigación se puede inferir que, a pesar de ser una seropositividad muy baja, esta información es importante para establecer la presencia del parásito en caninos en el departamento de Córdoba y la región Caribe y, de esta forma promover futuras investigaciones con un enfoque más global, donde se enfatice en las especies canina y bovina de manera conjunta, y con un tamaño de muestras proporcional a la población del departamento y la región, que proporcionen más información epidemiológica a las bases de datos nacionales y posteriormente, establecer controles sanitarios, si sean necesarios. Teniendo en cuenta que Córdoba es uno de los departamentos con mayor población de ganado vacuno del país y al evidenciar la presencia de *N. caninum*, se convertiría en una problemática que requiere control y seguimiento para evitar que se incremente la prevalencia de esta enfermedad y, por ende, aumenten las pérdidas económicas para pequeños, medianos y grandes productores bovinos.

9. RECOMENDACIONES

Después de haber llevado a cabo esta investigación y haber realizado el análisis de los resultados obtenidos, se procede a presentar las siguientes recomendaciones.

Realizar otras investigaciones referentes a la seroepidemiología de la *N. caninum* de forma complementaria en individuos caninos y bovinos del departamento de Córdoba, con una mayor cantidad de animales, de forma que tanto el tamaño de la muestra, como los resultados obtenidos sean más significativos y permitan ver de forma precisa la prevalencia de este protozoario en dichas especies de la región.

De igual forma, se hace necesario concientizar al gremio ganadero sobre los manejos permitentes que deben en cuanto a los caninos presentes en las instalaciones, teniendo en cuenta que la mayoría de finca ganaderas cuenta con la presencia de ellos, con el fin de disminuir tanto el índice de abortos producidos por neosporosis como la transmisión de otras enfermedades posiblemente transmisibles por los perros.

Con el fin de incentivar la investigación por parte de los estudiantes de medicina veterinaria y zootecnia, de forma que incrementen los estudios que aporten y enriquezcan tanto a la institución como a los mismos alumnos, sugerimos a la Universidad de Córdoba más apoyo con respecto a la logística y desarrollo de las investigaciones (viáticos, laboratorio, reactivos, etc.).

BIBLIOGRAFÍA

1. Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. Clin Microbiol Rev. 2007; 20(2):323-367. Doi: <https://doi.org/10.1128/CMR.00031-06>.
2. Dubey JP. Toxoplasmosis - una zoonosis transmitida por el agua. Parasitología veterinaria 2004;126(1):57-72.
3. Ribeiro CM, Soares IR, Mendes RG, de Santis Bastos PA, Katagiri S, Renato Zavilenski RB. Meta-analysis of the prevalence and risk factors associated with bovine neosporosis. Tropical Animal Health and Production. 2019; 51(7):1783-1800. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01929-8>.
4. Cardona JA, Martínez Y, Betancur CA. Seroepidemiología de hembras bovinas naturalmente infectadas por *Neospora caninum* en Córdoba, Colombia. Rev UDCA Act & Div Cient. 2015; 18(2):401-408. <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/166/1281>
5. Vargas-Niño A, Vargas J, Parra J, Vásquez M, Góngora A, Mogollón-Waltero EM. Estado serológico a IBR, DVB, Leucosis, Leptospira y *Neospora caninum* en hembras bovinas del Departamento de Santander, Colombia. Rev MVZ Córdoba. 2018; 23(2):6671-6680. Doi: <https://doi.org/10.21897/rmvz.1341>
6. Silva R, Machado G. Canine neosporosis: perspectives on pathogenesis and management. Vet Med. 2016; 26(7):59–70. Doi: <https://doi.org/10.2147/VMRR.S76969>

7. Dubey JP, Barr BC, Barta JR, et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int J Parasitol.* 2002; 32(8):929-46. Doi: 10.1016/s0020-7519(02)00094-2. PMID: 12076623.
8. Perez F. variabilidad adaptativa y patogénica en *Neospora caninum*[tesis]. Madrid: universidad complutense de Madrid. 2004. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/5362/1/T27453.pdf>
9. Dubey JP, Sreekumar C, Knickman E, et al. Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. *Int J Parasitol.* 2004; 34(10):1157-67. Doi: 10.1016/j.ijpara.2004.07.005. PMID: 15380687.
10. Peters M, Lütkefels E, Heckeroth AR, Schares G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. *Int J Parasitol.* 2001; 31(10):1144-8. Doi: 10.1016/s0020-7519(01)00221-1. PMID: 11429181.
11. Gondim LF, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 2004; 34(2):159-61. Doi: 10.1016/j.ijpara.2004.01.001. PMID: 15037103.
12. Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol.* 1999; 82(4):327-33. Doi: 10.1016/s0304-4017(99)00054-0. PMID: 10384909.
13. Bjerkås I, Mohn SF, Presthus J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenkd.* 1984; 70(2):271-4. doi: 10.1007/BF00942230. PMID: 6426185.

14. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol. 1998; 28(9):1473-8. PMID: 9770635.
15. Robbe D, Passarelli A, Gloria A, Di Cesare A, Capelli G, Iorio R, et al. *Neospora caninum* seropositivity and reproductive risk factors in dogs. ExpParasitol 2016;164:31-35. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.02.003>
16. Sloan S, Šlapeta J, Jabbar A, Hunnam J, De Groef B, Rawlin G, et al. High seroprevalance of *Neospora caninum* in dogs in Victoria, Australia, compared to 20 years ago. Parasites Vectors 2017 -10-19;10 (1). Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2464-2>
17. Satragno Dinora, Rocha Aldo Josué Pavón, Castro Jaime Luis Rábago, Hernández Ned Ivánd de la Cruz. Alta seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros con sospecha clínica de neosporosis en Montevideo, Uruguay. Rev. argent. microbiol. 2020; 52(2):114-117. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2019.03.007>.
18. García-Rubio Virginia, Espinosa-Ayala Enrique, Hernández-García Pedro, Flores-Pérez Erika, Reyes-Sandoval Raúl, Ojeda-Carrasco Juan. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros rurales y urbanos del suroriente del Estado de México. Abanico vet. 2022;12: 103. Doi: <https://doi.org/10.21929/abavet2022.3>.
19. Mendez-Ramirez P, Marin-Hena J, Gongora-Orjuela A, Parra-Arango J, Piedrahita D, Chaparro-Gutierrez J. Detección de anticuerpos contra *Neospora caninum* en caninos del área urbana y rural de Cumaral, Meta-Colombia. Revista MVZ (Medicina Veterinaria y Zootecnia) 2020 Sep 01;25(3):1-88. Doi: <https://doi.org/10.21897/rmvz.1879>

20. Ravelo Salcedo, L. Estudio clínico, serológico y coprológico preliminar de *Neospora Caninum* en caninos de la clínica veterinaria Dover Bogotá Colombia. 2009. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/296
21. Regidor-Cerrillo J, Díez-Fuertes F, García- Culebras A, et al. Genetic diversity and geographic population structure of bovine *Neospora caninum* by microsatellite genotyping analysis. PLoS ONE. 2013; 8(8):e72678. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072678>
22. Prandini da Costa Reis R, Crisman R, Roser M, Malik R, Slapeta J. Neonatal neosporosis in a 2-week-old Bernese mountain dog infected with multiple *Neospora caninum* strains based on MS10 microsatellite analysis. Vet Parasitol. 2016; 15(221):134–138. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.03.023>
23. Nazir MM, Maqbool A, Akhtar M, et al. *Neospora caninum* prevalence in dogs raised under different living conditions. Vet Parasitol. 2014; 204(3–4):364–368. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.05.041>
24. Arunvipas P, Inpankaew T, Jittapalapong S. Risk factors of *Neospora caninum* infection in dogs and cats in dairy farms in Western Thailand. Trop Anim Health Prod. 2012; 44(5): 1117–1121. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11250-011-0048-2>
25. Langoni H, Matteucci G, Medici B, Camossi LG, Richini- Pereira VB, Silva RC. Detection and molecular analysis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* from dogs with neurological disorders. Rev Soc Bras Med Trop. 2012; 45(3):365–368. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822012000300016>

26. Barr BC, Conrad PA, Sverlow KW, Tarantal AF, Hendrickx AG. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. *LabInvest.* 1994; 71(2):236-42. PMID: 8078303.
27. Regidor-Cerrillo J, Pedraza-Díaz S, Gómez-Bautista M, Ortega-Mora LM. Multilocus microsatellite analysis reveals extensive genetic diversity in *Neospora caninum*. *J Parasitol.* 2006; 92(3):517-24. Doi: 10.1645/GE-713R.1. PMID: 16883994
28. Atkinson R, Harper PA, Ryce C, Morrison DA, Ellis JT. Comparison of the biological characteristics of two isolates of *Neospora caninum*. *Parasitology.* 1999; 118 (Pt4):363-70. Doi: 10.1017/s0031182098003898. PMID: 10340326.
29. Lindsay DS, Dubey JP. Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). *J Parasitol.* 1990 Jun; 76(3):410-3. PMID: 2112599.
30. Dubey JP, Buxton D, Wouda W. Pathogenesis of bovine neosporosis. *J Comp Pathol.* 2006; 134(4):267-89. Doi: 10.1016/j.jcpa.2005.11.004. Epub 2006 May 18. PMID: 16712863.
31. Trees AJ, Williams DJ. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitol.* 2005; 21(12):558-61. Doi: 10.1016/j.pt.2005.09.005. PMID: 16223599.
32. Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey JP. Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues. *J Parasitol.* 1992; 78(1):70-2. PMID: 1738071.

33. De Marez T, Liddell S, Dubey JP, Jenkins MC, Gasbarre L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *Int J Parasitol.* 1999; 29(10):1647-57. Doi: 10.1016/s0020-7519(99)00154-x. PMID: 10608451.
34. Schares G, Heydorn AO, Cüppers A, Conraths FJ, Mehlhorn H. *Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. *Parasitol Res.* 2001; 87(10):808-16. Doi: 10.1007/s004360100445. PMID: 11688886.
35. Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol.* 1996; 67(1-2):1-59. Doi: 10.1016/s0304-4017(96)01035-7. PMID: 9011014.
36. Cole RA, Lindsay DS, Blagburn BL, Sorjonen DC, Dubey JP. Vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *J Parasitol.* 1995; 81(2):208-11. PMID: 7707195.
37. Barber JS, Trees AJ. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Int J Parasitol.* 1998; 28(1):57-64. Doi: 10.1016/s0020-7519(97)00171-9. PMID: 9504335.
38. Bergeron N, Fecteau G, Villeneuve A, Girard C, Paré J. Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *Neospora caninum*. *Vet Parasitol.* 2001; 97(2):145-52. Doi: 10.1016/s0304-4017(01)00396-x. PMID: 11358630.
39. Bergeron N, Girard C, Paré J, Fecteau G, Robinson J, Baillargeon P. Rare detection of *Neospora caninum* in placentas from seropositive dams giving birth to

full-term calves. J Vet Diagn Invest. 2001; 13(2):173-5. Doi: 10.1177/104063870101300216. PMID: 11289218.

40. Dijkstra T, Eysker M, Schares G, Conraths FJ, Wouda W, Barkema HW. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. Int J Parasitol. 2001; 31(8):747-52. Doi: 10.1016/s0020-7519(01)00230-2. PMID: 11403764.

41. Conrad PA, Sverlow K, Anderson M, et al. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. J Vet Diagn Invest. 1993; 5(4):572-8. Doi: 10.1177/104063879300500412. PMID: 8286457.

42. French NP, Clancy D, Davison HC, Trees AJ. Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. Int J Parasitol. 1999; 29(10):1691-704. Doi: 10.1016/s0020-7519(99)00131-9. PMID: 10608456.

43. Davison HC, Guy CS, McGarry JW, et al. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. Res Vet Sci. 2001; 70(2):163-8. Doi: 10.1053/rvsc.2001.0457. PMID: 11356096.

44. Moskwa B, Pastusiak K, Bien J, Cabaj W. The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. Parasitol Res. 2007; 100(3):633-6. Doi: 10.1007/s00436-006-0288-7. Epub 2006 Oct 6. PMID: 17024360.

45. Pintos L. Estudio de *Neospora caninum* en perros rurales de la provincia de salta. Especialización en diagnostico veterinario de laboratorio. 2019. Disponible: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/133028/Documento_completo.pdf?sequence=1

46. Ochoa R. TÉCNICAS INMUNOENZIMÁTICAS PARA ENSAYOS CLÍNICOS DE VACUNAS Y ESTUDIOS INMUNOEPIDEMIOLÓGICOS. La Habana. 2012. Disponible: <http://www.finlay.sld.cu/ediciones.htm>
47. PABÓN J.; ESLAVA J.; GÓMEZ R. Generalidades de la distribución espacial y temporal de la temperatura del aire y de la precipitación en Colombia. Meteorol. Col. 2001; 4:47-59.
48. Oviedo S T, Betancur H C, Mestra P A, González T M, Reza G L, Calonge G K. Estudio serológico sobre neosporosis en bovinos con problemas reproductivos en Montería, Córdoba, Colombia. Revista MVZ (Medicina Veterinaria y Zootecnia) 2007 Jan 01,;12(1):929-933. Doi: <https://doi.org/10.21897/rmvz.437>
49. Patarroyo S J, Vargas V M, Cardona Á J, Blanco M R, Gomez L V. Frecuencia de anticuerpos anti-Neospora caninum en ovinos del departamento de Córdoba, Colombia. Rev MVZ Córdoba. 2013;18(3):3886-90. Doi: <https://doi.org/10.21897/rmvz.161>
50. Motta L, Clavijo A, Waltero I, Abeledo MA. Prevalencia de anticuerpos a Brucella abortus, Leptospira sp. y Neospora caninum en hatos bovinos y bubalinos en el departamento de Caquetá, Colombia. Revista Salud Animal. 2014; 36(2): 80-89.
51. López G, Restrepo B, Restrepo M, Lotero MA, Murillo V, chica A, Giraldo M. 2007. Estudio para evidenciar la presencia de Neospora caninum en bovinos de la hacienda san pedro en el municipio de Fredonia. Rev Ces. 2007; 2(1900–9607): 7–19. Disponible en: <http://bdigital.ces.edu.co:8080/repositorio/bitstream/10946/3265/1/8.pdf>.
52. Pulido-Medellín MO, Díaz-Anaya AM, García DJ, Becerra RJ. Determinación de anticuerpos anti Neospora caninum en vacas de la provincia de Sugamuxi,

Colombia. *Rev Mex Cienc Pec.* 2013; 4(4): 501–506. Doi: <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i2.4439>.

53. Pulido-Medellín MO, García-Corredor DJ, VargasAbella JC. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en un Hato Lechero de Boyacá, Colombia. *Rev Inv Vet Perú.* 2016; 27(2): 355–362. Doi: <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11658>.

54. Pulido-Medellin M, Días-Anaya AM, Becerra Andrade R. Asociación entre variables reproductivas y anticuerpos anti *Neospora caninum* en bovinos lecheros de un municipio de Colombia Association between reproductive variables and anti *Neospora caninum* antibodies in dairy cattle herds from a Colombian municipality. *Rev Mex Cienc Pecu.* 2017; 8(2):167–174. Doi: <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i2.4439>.

55. Cruz-Estupiñan, S.; Díaz-Anaya, A.; Bulla-Castañeda, D.; Garcia-Corredor, D.; Pulido-Medellín, M. Diagnóstico serológico de *Neospora caninum* en vacas del municipio de Tuta, Boyacá Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. 2019; 66 (3): 197-207. Doi: <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v66n3.84256>

56. Bulla Blanco, K. D., & Vanegas Rojas, P. X. Identificación de *neospora caninum* en materia fecal de 60 caninos en hatos lecheros en el municipio El Rosal, Cundinamarca. 2015. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/104

57. Vega O. Luis, Chávez V. Amanda, Falcón P. Néstor, Casas A. Eva, Puray Ch. Nidia. Prevalencia de *Neospora caninum* en perros pastores de una empresa ganadera de la sierra sur del Perú. *Rev. investig. vet. Perú.* 2010; 21 (1): 80-86. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172010000100012&lng=es.

58. Escalona, Jorge J, Corro, Ana C, Suárez, Claribel E, Castillo, Thayira A, & Pineda, Yilber A. Seropositividad a *Neospora caninum* en Perros de Áreas Rurales y Urbanas del estado Yaracuy, Venezuela. *Rev Fac Cien Vet.* 2013; 54(1),29-34.

Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-65762013000100004&lng=es&tlng=es.

59. Pérez J, Giangreco S, Guerrero I. Neosporosis canina: la enfermedad y sus factores de riesgo [Tesis]. Tandil: Facultad de Ciencias Veterinarias UNCPBA; 2019. Disponible en: file:///C:/Users/Administrador/Downloads/PEREZ%20LOPEZ,%20JULIETA.pdf

60. Moore, D.P.; Odeón, A.C; Venturini, M.C.; Campero, C.M. Neosporosis bovina: Conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. Revista Argentina de Microbiología. 2005; 37: 217-228

61. Dubey, J.P.; Hemphill, A.; Calero Bernal, R.; Schares, G. Neosporosis in Animals. Primera edición. Editorial Tailor& Francis Group. 2017.

62. Quiroz H, Figueroa J-A, Ibarra F, Lopez M-E. epidemiologia de las enfermedades parasitarias en animales domésticos. Primera edición. Mexico. 2011. P 88- 119.

63. Dijkstra T, Barkema HW, Eysker M, Wouda W. 2001. Evidence of post-natal transmission of Neospora caninum in Dutch dairy herds. International Journal for Parasitology. 2001; 31(2): 209–215. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00160-0](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00160-0).