

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**DIAGNÓSTICO DE Neospora caninum POR MEDIO DE FLOTACIÓN
FECAL EN CLORURO DE SODIO (NaCl), Y POSTERIOR CULTIVO, EN
PERROS ACOMPAÑANTES DE VAQUERÍA**

CARLOS RENÉ OVERALL SARMIENTO

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2008

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**DIAGNÓSTICO DE Neospora caninum POR MEDIO DE FLOTACIÓN
FECAL EN CLORURO DE SODIO (NaCl), Y POSTERIOR CULTIVO, EN
PERROS ACOMPAÑANTES DE VAQUERÍA**

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA

POR

CARLOS RENÉ OVERALL SARMIENTO

AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 2008

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA**

DECANO: Lic. Zoot. Marco Vinicio de la Rosa Montepeque.

SECRETARIO: Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina.

VOCAL I: Med. Vet. Yeri Edgardo Véliz Porras.

VOCAL II: Mag. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero.

VOCAL III: Med. Vet. Marco Antonio Motta González.

VOCAL IV: Br. David Granados

VOCAL V: Br. Guillermo Guerra

ASESORES

**Med. Vet. Manuel Eduardo Rodríguez Zea.
Med. Vet. Carlos Enrique Camey Rodas.
Med. Vet. Jaime Randolph Rosales Vásquez.**

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

**EN CUMPLIMIENTO A LO ESTABLECIDO POR LOS PRECEPTOS QUE
ESTABLECE LA LEY DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**PRESENTO A CONSIDERACIÓN DE USTEDES EL TRABAJO DE TESIS
TITULADO:**

**DIAGNÓSTICO DE Neospora caninum POR MEDIO DE
FLOTACIÓN FECAL EN CLORURO DE SODIO (NaCl), Y
POSTERIOR CULTIVO, EN PERROS ACOMPAÑANTES DE
VAQUERÍA**

**EL CUAL FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, PREVIO A
OPTAR EL TITULO DE**

MÉDICO VETERINARIO

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Por darme la bendición de entendimiento, fortaleza, y vida para terminar el camino en la universidad de forma satisfactoria.

A MI FAMILIA: A mi amada esposa Michelle por su apoyo incondicional, tanto emocional, espiritual como material en los momentos en que más los necesité sin ti no lo hubiera logrado. A mis hijos Fátima y Andrés por ser la razón de mi vida y todo mi esfuerzo, los amo. A mis Padres, Carlos Eduardo y Lidia Consuelo, a mis Hermanos Mario Eduardo y Maria Amelia, por su amor y sabiduría así como por su apoyo moral espiritual y económico a lo largo de mis estudios y mi vida

A MIS ASESORES: Dr. Carlos Camey y Dr. Manuel Rodríguez por su conocimiento, paciencia y apoyo durante sus cursos y en especial en todo el proceso de realización de la tesis, Dr. Randolph Rosales por su ayuda y paciencia en la selección y muestreo de las explotaciones trabajadas.

A MIS PADRINOS: Dr. Rolando Gudiel por ser catedrático, maestro y amigo; Dr. Mynor Galicia por su amistad, apoyo y conocimientos durante la realización de mi EPS; Y Dr. Alejandro Hun por todo lo que ha hecho por mí, académica y personalmente a lo largo de nuestra amistad ya que sin su ayuda e insistencia no hubiera completado la tesis.

A MIS AMIGOS: Elvis Xicara, Dra. Greta Bertrand, Willy Mejía, Claudio Urrutia, Dennis Ordóñez, Dennis Cano, César de León, Jorge Estrada y Mario Solís por su cariño, apoyo y confianza.

A MIS COMPAÑEROS: Silvia Guirola, Elvia Ulín, Juan Carlos Ochoa, Carlos Ramírez, Augusto Andrade, Ramón Osorio, Henry Chamalé, Luis Choc, Oswaldo Colón por los buenos y los malos momentos que pasamos durante nuestros estudios.

A TODOS, MUCHAS GRACIAS

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
2.1 General	2
2.2 Específicos	2
III. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1 <i>Neospora caninum</i>	3
3.1.1. Historia	3
3.1.2. Biología	4
3.1.3. Evolución Clínica	8
3.1.4. Diagnóstico	11
3.1.5. Profilaxis	12
3.1.6. Epidemiología	13
3.1.7. Impacto Productivo y Económico	14
3.2 Flotación fecal en solución de cloruro de sodio hipersaturada para la identificación de ooquistes de protozoarios	15
3.2.1. Método	16
3.3 Recuperación, conservación y cultivo para la esporulación de ooquistes de la <i>Saecocystis</i>	17
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	19
4.1 Materiales	19
4.1.1. Recursos Humanos	19
4.1.2. Materiales de Campo	19
4.1.3. Materiales Biológicos	19
4.1.4. Materiales de Laboratorio	20
4.1.5. Centros de Referencia	20
4.2 Metodología	20
4.2.1 Definición de la Muestra	20
4.2.2. Selección y Toma de la Muestra	21
4.2.3. Procesamiento de las Muestras en el Laboratorio	21
4.2.4. Análisis y Métodos Estadísticos a Utilizar	22
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
VI. CONCLUSIONES	27
VII. RECOMENDACIONES	29
VIII. RESUMEN	31
IX. BIBLIOGRAFÍA	33
XI. ANEXOS	35

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente en Guatemala se ha reportado la presencia del protozoo denominado ***Neospora caninum***, el cual provoca, en el bovino, muerte embrional temprana, aborto y nacimiento de crías débiles, con sintomatología nerviosa, o bien novillas de reemplazo aparentemente sanas seropositivas. Este parásito tiene como hospedero definitivo al perro, los cuales eliminan ooquistes del parásito que son la fase infectiva para el hospedero intermediario del parásito y definitivo de la enfermedad, que en este caso son los herbívoros. El control de los perros acompañantes de vaquería, y merodeadores de fincas, es importante, ya que pueden estar libres del parásito, pero si en la región se dan abortos causados por el parásito en cuestión, estos perros ingieren los restos de dichos abortos, y como resultado van a infestarse del parásito y posteriormente van a liberar ooquistes a los pastos y agua de la región, los cuales van a ser ingeridos por otros bovinos y van a adquirir la enfermedad denominada neosporosis bovina, diseminándose así la enfermedad.

El control parasitario de los perros acompañantes de vaquería no se practica en nuestro medio, mucho menos el control en los perros merodeadores de fincas, debido a razones relacionadas a la cultura de indiferencia o la simple ignorancia de los productores. Otra razón de peso es el costo de dicho control parasitario, ya que para el diagnóstico de este parásito en los perros, no existe en el país una prueba serológica económica debido a que no se comercializan los antígenos necesarios para realizar dichas pruebas, las cuales son muy costosas, además que los perros eliminadores de ooquistes no siempre son positivos a dichas pruebas.

Lo anterior hace necesario el desarrollo de una prueba diagnóstica económica y sencilla para el diagnóstico de ***Neospora caninum*** en perros liberadores de ooquistes que pueden estar presentes en fincas con problema de dicho parásito, justificando así el presente trabajo de investigación.

II. OBJETIVOS

2.1. General:

- Contribuir con el estudio de una prueba de diagnóstico sencilla y de bajo costo para identificar el agente etiológico denominado ***Neospora caninum***, en explotaciones bovinas con problema de abortos.

2.2. Específicos:

- Identificar Ooquistes de ***Neospora caninum*** en las heces de perros acompañantes de vaquería y de comunidades cercanas a las explotaciones bovinas con problema de abortos.
- Determinar la efectividad de la prueba de Flotación Fecal en cloruro de sodio para el diagnóstico de ***Neospora caninum***, para el perro que es el mamífero transmisor del parásito.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. NEOSPORA CANINUM

3.1.1. Historia

Bjerkas (1984) en Noruega, reporta un caso de encefalitis y miocarditis en un canino producido por un protozooario que Dubey (1988) nombró ***Neospora caninum*** (2).

Dubey y colegas (1988), describieron por primera vez un nuevo género del Phylum Apicomplexa causante de aborto en el ganado bovino, así como el nacimiento de terneros débiles, los cuales eran negativos a pruebas serológicas de toxoplasma y sarcosystis, descubriéndose como causa de dicha enfermedad al parásito denominado ***Neospora caninum*** (1).

Thiltsdale y colegas (1989) comprobaron que el agente es capaz de transmitirse transplacentariamente en caninos, felinos, ovinos y bovinos. Conrad (1993) reportó que las cepas aisladas en caninos son idénticas a las aisladas en bovinos, comprobando su relación biológica. A pesar de los estudios realizados aún quedaban por definir algunos aspectos del ciclo de vida del parásito, específicamente del hospedero definitivo, lo cual fue dilucidado cuando se demostró la presencia de ooquistes en la materia fecal de perros alimentados, experimentalmente, con tejidos infectados con taquizooitos. Hasta que Venturini (2001) encontró ooquistes en un perro infectado naturalmente en Argentina (2, 9).

El oocisto de ***N. caninum*** es similar a los de ***Hammondia heydorni*** del perro, y a los de ***Toxoplasma gondii*** del gato. Los taquizoitos y bradizoitos también son similares al microscopio de luz, pero pueden ser diferenciados por medio del microscopio electrónico en base al número y forma de las inclusiones citoplasmáticas entre el núcleo y el polo

apical de la fase móvil del parásito (en inglés rhoptries), las cuales son diferentes, a los de otros géneros de apicomplexa catalogándolo como un nuevo agente (1).

3.1.2. Biología

a. Clasificación Taxonómica:

Reino: *Protozoo*

Orden: *Eucoccidiidae*

Suborden: *Eimeria*

Phylum: *Apicomplexa*

Clase: *Sporozoa*

Subclase: *Coccidia*

Familia: *Sarcocystidae*

Genero: *Neospora*

Especie: *caninum* (10)

b. Morfología:

El ***Neospora caninum*** es un protozoo de localización intracelular, que durante su ciclo de vida presenta las siguientes fases (2, 9):

Taquizoitos: Es uno de los tres estados infecciosos de ***N. caninum***, el cual se encuentra en el hospedero intermediario de forma intracelular, a nivel citoplasmático, específicamente en la vacuola parasitófaga de las células huésped, las cuales pueden ser neuronas, macrófagos, fibroblasto, células endoteliales, miocitos y hepatocitos (2).

Los taquizoitos se dividen por medio de endodiolénesis en forma rápida, midiendo 7 micras aproximadamente, tienen de 6 a 16 rhoptries, que en ocasiones pueden ser de 4 a 6 localizados en la porción posterior al núcleo. Son de forma ovoide, semilunar o globosa (2).

Bradizoitos: También se dividen por endodiolénesis, pero en forma más lenta que los taquizoitos. Se encuentran dentro de los quistes tisulares, midiendo entre 7 a 8 micras,

conteniendo las mismas estructuras que los taquizoitos pero con menos rhoptries. En forma son similares a los taquizoitos (2).

Quistes: Es un estado encontrado en los tejidos del hospedero intermediario. Son ovalados o redondos y miden hasta 107 micras de diámetro, encontrándose principalmente en el sistema nervioso central. Dentro de estos se encuentran de 50 a 500 bradizoitos, encerrados en una pared lisa y gruesa (2).

Ooquistes: Son de dos tipos:

- *No Esporulados:* Son eliminados por los perros infectados experimentalmente midiendo entre 11.3 a 11.7 micras de diámetro (2).
- *Esporulados:* Estos son los quistes que después de tres días en el medio ambiente contienen dos esporoquistes con cuatro esporozoítos cada uno. Deben diferenciarse morfológicamente de los ooquistes del ***Toxoplasma gondii*** del gato y a los de ***Hammondia heydorni*** del perro (2).

c. Ciclo Evolutivo:

El perro es el hospedero definitivo del parásito, aunque se sospecha que también puede participar en el ciclo como hospedero intermediario del mismo. Como hospedero definitivo el perro elimina los ooquistes en las heces luego de 5 a 17 días de haber ingerido tejido conteniendo el quiste. Luego de 3 días en el medio ambiente esporula formando 2 esporocistos, los cuales cada uno contienen 4 esporozoitos. Los hospederos intermediarios (bovinos, ovinos, caprinos, caninos y felinos), van a ingerir los ooquistes en alimentos y agua contaminada. Dentro del tracto gastrointestinal los quistes se rompen y liberan los esporozoítos, los cuales ingresan a las células y se transforman en taquizoítos, los cuales se replican asexualmente de forma muy rápida, rompiendo la célula huésped e infestando otras células vecinas de igual forma. Los taquizoitos van a encontrarse en

varios tipos de células como neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales vasculares, hepatocitos y células musculares, incluyendo las del miocardio. Se diseminan por todo el organismo por medio de macrófagos y linfocitos infestados, aunque no hay mayor información del método de migración de los taquizoitos. También se pueden encontrar en la placenta de vacas preñadas, por lo que los taquizoitos son transmitidos de forma vertical, al feto en desarrollo, a través de la placenta; dentro de las células neuronales del feto, los taquizoitos pueden convertirse en bradizoitos, los cuales se replican asexualmente, pero de forma más lenta dando como resultado la muerte del mismo o el nacimiento de una cría débil con encefalitis. Cuando una reacción inmunológica se desencadena en contra el parásito en otra parte del cuerpo, estos bradizoitos van a encerrarse dentro de un quiste para protegerse y quedan latentes hasta que el sistema inmune del hospedero se suprime, como por ejemplo durante la preñez, y se liberan los bradizoitos, los cuales se transforman en taquizoitos e invaden la placenta y el feto, pudiendo causar el aborto, o el nacimiento de una cría infectada. Estos quistes se pueden encontrar en cerebro, médula espinal y retina, así como en tejido no neuronal como hígado y miocardio. Cuando el perro consume estos quistes conteniendo bradizoitos, o bien cuando ingiere los taquizoitos que se encuentran en la placenta, éstos se implantan en los tejidos del tracto gastrointestinal, donde maduran y empiezan a eliminarse ooquistes cerrando el círculo de transmisión horizontal (1, 9).

Recientemente se demostró que el coyote también puede actuar como hospedero definitivo del parásito ya que se encontraron ooquistes en sus heces así como individuos positivos a pruebas serológicas como la Reacción en Cadena de las Polimerasas (PCR), lo que indica que otros canidos silvestres pueden actuar, también, como hospederos intermediarios del parásito (9).

Otro posible vehículo de transmisión vertical, además de la transplacentaria, es la transcolostral, la cual fue comprobada experimentalmente alimentando terneros bovinos con calostro contaminado con bradizoitos, los cuales se convirtieron en seropositivos,

aunque es desconocido aún si en condiciones naturales el calostro contaminado con taquizoitos pueda infectar a las crías (1).

Los hospederos intermediarios del parásito que han sido comprobados serológicamente incluyen: ganado bovino, ovino y caprino, caninos domésticos y silvestres (zorros, coyotes, dingos, etc.), equinos, cérvidos y prociénidos. Se ha sugerido que las aves pueden funcionar como hospederos de transporte, pero esto no ha sido comprobado (1).

d. Transmisión:

Dependiendo del hospedero, se van a encontrar varias vías de transmisión:

Hospedero Intermediario:

- *Vía Oral:* Por medio de la ingestión de ooquistes en pasto o agua contaminados (9).
- *Vía Lactogénica o Transcolostral:* Inducida en terneros recién nacidos por medio de calostro, al cual se le agregó taquizoitos, de forma experimental (9).
- *Infección Transplacentaria:* Se ha observado en fetos de bovinos y perros. Es la vía de mayor importancia, fue demostrada transplantando embriones de hembras seronegativas a hembras seropositivas a ***N. caninum***, las cuales parieron animales seropositivos al parásito. Es más efectiva en vacas jóvenes que en vacas adultas. Según la etapa en la que se produce, esta puede ocasionar la muerte perinatal, aborto o nacimiento de crías infectadas. Esta última condiciona la permanencia del agente en el hato (3, 9).

Hospedero Definitivo:

En el hospedero definitivo la infección es exclusivamente por vía oral, por medio de la ingestión de quistes tisulares conteniendo los bradizoitos, o bien por la ingestión de placentas o restos de abortos conteniendo taquizoitos. Se debe hacer notar que el perro

también puede participar como hospedero intermediario, si este ingiere ooquistes esporulados, o bien, por vía transplacentaria, a crías de madres intermediarias (1, 3, 9).

3.1.3. Evolución Clínica

a. Signos Clínicos:

Perros: Los signos clínicos predominan de forma muscular y nerviosa, aunque puede incluir piel, pulmones, hígado, corazón y otros órganos. Tanto adultos como cachorros pueden verse afectados, ya que la infección se puede transmitir de forma transplacentaria. La forma más severa se reporta en cachorros menores a 6 meses de edad, los cuales presentan parálisis ascendente de los miembros. Esta parálisis es degenerativa y usualmente se observa mayormente en el miembro pélvico, el cual se encuentra rígido y puede sufrir atrofia (6).

También se puede observar debilidad cervical, a la que se relaciona disfagia, megaesófago y finalmente muerte por asfixia o por neumonías por aspiración. Los perros no desarrollan afecciones intracraneales y se mantienen alertas durante todo el curso de la enfermedad (6).

Lo anterior se limita a perros que están actuando como hospederos intermediarios del parásito. Por otro lado los perros que actúan como hospederos definitivos del parásito, pueden no presentar sintomatología más que diarrea que puede o no ser sanguinolenta, la cual es autolimitante, lo cual no quiere decir que dejen de eliminar ooquistes en las heces al finalizar el cuadro diarreico. Los perros eliminadores de ooquistes no son positivos a pruebas serológicas, como PCR, lo cual indica la localización intestinal exclusiva sin invasión de tejidos extraintestinales. Dadas las dos formas de transmisión y lo dicho anteriormente, en relación al ganado bovino, no es suficiente eliminar vacas positivas para controlar la infección, ya que la presencia de perros eliminadores de ooquistes puede contribuir al mantenimiento de la enfermedad en los hatos de ganado relacionados con

esto perros, así como con otros animales que puedan funcionar como hospederos intermediarios (10).

Herbívoros: Se caracteriza por presentar abortos en varias formas, como desde esporádicos, enzoóticos y tormentas de abortos (10).

Cuando una vaca se infecta de ***N. caninum***, existen 2 factores importantes, de los cuales van a depender la aparición de 4 manifestaciones:

- Muerte embrional temprana
- Aborto
- Nacimiento de crías muertas
- Nacimiento de crías anormales, presentando signos de encefalitis

Además se puede dar el caso de que las crías nazcan sin efectos de infección por ***N. caninum***. Estas manifestaciones dependen de que si el animal está preñado durante la infección o no, y si está preñada, en que momento de la preñez se da la infección por el parásito, temprana, media o tardía (1).

Si la vaca no se encuentra preñada cuando se da la infección, no presentará signos clínicos, pero si habrá una seroconversión y reacción inmunológica mediada por células, dando lugar a una replicación moderada de los taquizoitos intracelulares (1).

Si la vaca se infecta en fase temprana de preñez (menor a 2 o 3 meses de gestación), la enfermedad se presenta como una muerte embrional temprana, debido a la liberación de citocinas inflamatorias en la placenta (por la migración del parásito a dicha estructura), debido a la respuesta inflamatoria al antígeno parasitario (1).

Si la vaca se infecta durante la mitad de la gestación, la infección produce el aborto, o el nacimiento de una cría débil con signos de encefalitis, dependiendo del mes de

gestación donde se dio la infección. Durante esta edad de gestación, el feto tiene un sistema inmune poco desarrollado, el cual es incapaz de combatir la infección. Debido a la acción de las citocinas inflamatorias y a la pobre respuesta celular placentaria a la rápida infestación por taquizoitos en el tejido placentario, el feto tiene poca ayuda por el sistema inmune de la madre. Si la replicación de taquizoitos sobrepasa la respuesta inmune del feto y de la placenta, el daño tisular es tan grande que se produce el aborto de un feto autolizado. Si el sistema inmune del feto se encuentra más desarrollado, y puede controlar la replicación de los taquizoitos, se da el nacimiento de una cría débil anormal y pobre formación del sistema nervioso central, o bien padeciendo de encefalomielitis, debido al daño tisular causado por los taquizoitos, lo que causa síntomas nerviosos y bajo peso al nacimiento (1).

Si la infección se da en una etapa tardía o a término de la preñez, se da el nacimiento de una cría débil o bien normal que es seropositiva a ***N. caninum***. Durante esta etapa de gestación el sistema inmune de la cría ya está más desarrollado que en etapas tempranas, por lo que es capaz de controlar la infección, lo que da como resultado pocos síntomas clínicos o ningunos en el neonato (1).

Los signos clínicos en el neonato abarcan síntomas neurológicos como la incapacidad de ponerse en pie, y/o presentar los miembros flectados o hiperextendidos. Al examen neurológico se pueden identificar signos como la ataxia, disminución del reflejo patelar, pérdida de propiocepción conciente, exoftalmia y anisocoria, y en algunos casos hidrocefalia (9).

b. Lesiones a la Necropsia:

Las lesiones características son una encefalitis, miocarditis o hepatitis. De estos los más afectados, histológicamente, son el sistema nervioso central y el miocardio, en ciertos casos puede verse afectado el parénquima pulmonar, el hígado y los riñones. En el cerebro se observan hemorragias multifocales, gliosis multifocal en sustancia gris, infiltración

linfocitaria perivascular y focos de malasia en sustancia gris y blanca. Estas lesiones no tienen distribución establecida y aparecen al azar, pero son reconocidas usualmente en el tallo cerebral, ya que esta región se autolisa más lentamente que otras partes del órgano. En los fetos autolisados se puede diferenciar, difícilmente, necrosis del tejido nervioso con o sin hemorragias (9).

Los corazones afectados presentan miocarditis y pericarditis difusa con infiltración de mononucleares, acompañada, en algunas ocasiones, de necrosis focal con o sin calcificación. La hepatitis es más común encontrarla en fetos de abortos enzoóticos que en esporádicos (9).

En placenta pueden encontrarse lesiones, aunque es muy difícil encontrar el parásito. Pueden encontrarse algunos taquizoítos al microscopio de luz sin necesidad de técnicas de inmunohistoquímica, pero es difícil su observación si no se tiene alguna experiencia en la identificación de protozoarios de apicomplexa (9).

3. 1.4. Diagnóstico

Existe un gran número de pruebas serológicas que pueden ser utilizadas para el diagnóstico de la neosporosis en bovinos y en otros animales que funcionan como hospederos intermediarios. En el hospedero definitivo es complicado ya que existen perros eliminadores de ooquistes que son seronegativos. Para el diagnóstico de perros eliminadores de ooquistes se puede utilizar el método coproparasitológico de flotación fecal utilizado para el diagnóstico de *Toxoplasma gondii*, utilizando la flotación fecal en sacarosa o bien otros medios de flotación. La microscopía de contraste de fases puede ayudar en la identificación de los ooquistes y de sus esporocistos (7, 9).

En el perro con sintomatología nerviosa se puede utilizar el examen del líquido cefalorraquídeo, el cual puede contener células huésped así como taquizoitos. Este método

es utilizado con éxito en el diagnóstico de *Toxoplasma gondii*, que es muy similar a *Neospora caninum* (4).

En relación al diagnóstico en los hospederos intermediarios las pruebas que pueden ser utilizadas son:

- Histopatología.
- Reacción en cadena de la polimerasas (PCR).
- Prueba Indirecta de Anticuerpos fluorescentes (IFAT).
- ELISA.
- Prueba directa en placa por aglutinación (DAT).
- Western Blot (WB).
- Aislamiento e inoculación en ratones (1, 11).

Todas presentan ventajas y desventajas desde el punto de vista de sensibilidad y especificidad, así como en relación a la determinación de la prevalencia en el hato (1).

3.1.5. Profilaxis

Existen vacunas en el mercado y otras en desarrollo, las cuales no son efectivas en producir una inmunidad efectiva para la protección del ganado bovino, por lo tanto, es importante tener en cuenta algunos aspectos de manejo (2):

- ***Eliminación de animales seropositivos:*** Iniciar con vacas que tengan historia de aborto. Si las vacas no pueden ser eliminadas, se deben inseminar con semen de ganado de carne. Antes de eliminar vacas con historia de aborto se debe diagnosticar y diferenciar el aborto, ya que vacas seropositivas pueden tener otros agentes que coexistan con *N. caninum* (1, 2).
- ***Control de la transmisión vertical:*** Controlar por medio de serología a las hembras de reemplazo, ya sea propias o adquiridas de otros hatos. Si son propias, sólo dejar

como hembras de reemplazo las nacidas de vacas seronegativas. En el caso de utilizarse transplante de embriones, asegurarse que las receptoras son seronegativas (1, 2).

- ***Control de transmisión horizontal:*** Evitar el acceso de perros y otros carnívoros a los potreros, almacenes de alimentos y otros recintos, para evitar la contaminación fecal. Asegurarse de eliminar placentas, fetos abortados y animales muertos, para evitar su ingestión por perros acompañantes (1, 2).

En relación al manejo del hospedero definitivo, hay que restringir el uso de perros al máximo y alojar a los utilizados, en forma aislada, para impedir la diseminación de heces en el medio ambiente, así como también el contacto directo con el ganado y con materiales abortados. El muestreo semestral de dichos perros, por medio de cualquier método de diagnóstico es vital para asegurar su negatividad (1, 2).

El rol de los cánidos salvajes en la propagación de la enfermedad aún es discutido, por lo que es conveniente intentar el control del agente en dicha fauna (2, 9, 10).

3.1.6. Epidemiología

La neosporosis bovina es considerada una importante causa de abortos en explotaciones bovinas de muchos lugares del mundo, llegando a presentar una prevalencia de 7.5 % a 65 % en vacas lecheras en algunos países con dicho problema como Argentina, Chile, Canadá y Estados Unidos, en Sudamérica y Norte América Respectivamente. En dichos países la vía de transmisión más importante es la transplacentaria, cuando la vaca se infecta en las últimas etapas de la preñez. Cuando se presentan abortos es cuando la infección es durante las primeras etapas de la preñez (2).

La prevalencia en los perros es casi desconocida, ya que existe muy poca información acerca de su infección tanto como hospederos definitivos o intermediarios de

la enfermedad. La poca información relacionada con los perros es debida a que no se han estandarizado las pruebas diagnósticas utilizadas en bovinos para su uso en perros (1).

La otra vía de transmisión es la horizontal, cuando los animales ingieren ooquistes del medio ambiente (hospedero intermediario del agente), o bien cuando el hospedero definitivo del agente ingiere tejidos que contengan quistes llenos de bradizoitos (2).

El perro es el hospedero intermediario de la enfermedad, además de ser el hospedero definitivo del agente, aunque también puede participar como hospedero definitivo de la enfermedad. Una gran variedad de animales, que incluyen a los bovinos, ovinos, caprinos, cerdos y perros son los hospederos definitivos de la enfermedad y a su vez son hospederos intermediarios del agente etiológico (1, 2, 9).

3.1.7. Impacto Productivo y Económico

El principal impacto en la productividad de un hato infectado radica en pérdidas reproductivas, baja en la producción de leche, retiros prematuros y poca ganancia de peso (1).

Las pérdidas reproductivas se ven influenciadas por los abortos, los cuales pueden ser esporádicos, endémicos o bien en forma de tormentas de abortos. En hatos con prevalencia baja (menor al 5%) los abortos varían entre 1 a 2 en cada 100 preñeces al año. Por otro lado, en hatos con prevalencia moderada o media (del 10 al 20%), así como en prevalencias altas (mayores al 20%) los abortos pueden ser frecuentes durante todo el año, presentándose tormentas de abortos en hasta el 60% de las vacas del hato, siendo indiferente entre vacas con infección reciente, o bien con vacas seropositivas comprobadas (1).

La edad es un factor determinante en la ocurrencia del aborto, ya que vacas de reemplazo en su primer preñez, infectadas de forma transplacentaria, tienen 7 veces más

probabilidad de abortar que una vaca seropositiva en su quinta preñez, la cual tiene una probabilidad de aborto de 1.7 (1).

La relación entre vacas seropositivas y bajas en la producción de leche, depende en gran número si existen abortos, causados por ***N. caninum***, o no en dichas vacas, influyendo en la cantidad de días en producción y cantidad de leche producida. Una vaca seronegativa puede llegar a 305 días de producción mientras que una vaca seropositiva se ve afectada en 40 a 60 días menos de producción. La cantidad de leche se ve afectada en un promedio de 2.5 a 3 litros al día (1).

3.2. FLOTACIÓN FECAL EN SOLUCIÓN DE CLORURO DE SODIO HIPERSATURADA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE OOQUISTES DE PROTOZOARIOS

Los exámenes fecales han sido una gran ayuda en el diagnóstico de enfermedades parasitarias, tanto en animales como en el hombre, en el control de dichas infestaciones como para la evaluación del tratamiento. El examen coprológico es importante para mantener la salud de animales de producción como de animales de compañía, identificando huevos y larvas de helmintos, ooquistes y formas móviles de protozoos. Entre estos exámenes se pueden contar los métodos directos para la identificación de formas móviles de protozoos, métodos de sedimentación para la identificación de huevos muy pesados y grandes de helmintos como en el caso de ***Physaloptera sp.*** y huevos operculados de tremátodos, los cuales no flotan ya que no son afectados por el efecto hipertónico de soluciones hipersaturadas (4).

Los métodos de flotación son los más utilizados en el diagnóstico de enfermedades parasitarias, los cuales se basan en las diferencias en la gravedad específica de los huevos, ooquistes y otros sedimentos fecales. La gravedad específica de los huevos de helmintos y ooquistes de protozoos varían entre 1.05 a 1.23, por lo que la solución en la que flotarán tendrá que tener una gravedad específica mayor a la de los huevos, con lo que se logrará

que los huevos floten y mantengan sus características morfológicas, mientras que otros restos fecales se precipitan por su gravedad específica mayor a la de la solución (4).

Las soluciones hipersaturadas para flotación fecal se preparan agregando una cantidad establecida de sal o de azúcar a cierta cantidad de agua, para obtener una solución con la gravedad específica deseada. Entre las soluciones de flotación más comunes, fáciles de preparar y de bajo costo se encuentran la de cloruro de sodio (NaCl con gravedad específica de 1.18 a 1.20), la de azúcar (solución de Sheather, con gravedad específica de 1.27 a 1.33), la solución de nitrato de sodio (NaNO_3 de 1.18 a 1.20 de gravedad específica), y la solución de sulfato de magnesio (MgSO_4 con gravedad específica de 1.20) (4).

Los métodos de flotación varían, de simples a muy complicados, dependiendo del grado de refinamiento a utilizar, desde solo dejar reposar y flotar, hasta la utilización de centrífuga para eliminar la mayor cantidad de ditritos (4).

3.2.1. Método:

Una pequeña cantidad de heces, aproximadamente 1 gramo, se disuelve en 10 ml de solución saturada de cloruro de sodio (NaCl), esto es vertido a un tubo y se deja que el menisco sobresalga de la entrada del tubo. Se espera que la solución repose por 15 minutos hasta que los huevos floten y el resto de sedimentos caigan al fondo. Luego se coloca una laminilla cubre objetos sobre el menisco para que recoja los huevos u ooquistes que se encuentren flotando. Se retira del tubo y se coloca en una lámina porta objetos para su observación al microscopio (4).

Antes que el líquido repose, se puede pasar a un tubo de centrífuga para eliminar la mayor cantidad de sedimentos por medio de centrifugar la solución durante 5 minutos (4).

3.3. RECUPERACIÓN, CONSERVACIÓN Y CULTIVO PARA LA ESPORULACIÓN DE OOQUISTES DE LA FAMILIA SARCOCYSTIS

Los ooquistes de coccidios pueden ser recuperados a partir de la flotación, después de su reconcentración por medio de la centrifugación, así como directamente de pacientes con infecciones latentes, por medio de raspados intestinales o bien la homogenización de trozos de intestino sospechoso, los cuales son homogenizados y concentrados por medio de su centrifugación en agua. Otro método de recuperación de ooquistes es por medio de diluciones seriales de ooquistes en suspensión, obtenidas de animales libres de otras coccidias, inoculados por un único ooquiste de determinada especie de coccidia, obteniéndose grandes cantidades de ooquistes en la última colecta. Los ooquistes recuperados son almacenados a una temperatura de 4 °C, en una solución balanceada de sal con un pH de 7.0 a 7.4 (Solución de Hank, HBSS-PSFM), con antibióticos (10,000 U.I./ml de penicilina y 0.01 g/ml de estreptomicina) y fungicidas (0.05 g/ml de Fungizone y 500 U.I./ml de nistatina). Tomando en cuenta que los ooquistes recuperados de las heces son más limpios que los recuperados de la lámina propia intestinal (7, 8).

Otras soluciones utilizadas son las de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) al 2.5% que presenta contaminación con bacterias y hongos, hipoclorito de sodio al 1%, pero puede eliminar la capa externa de los ooquistes, pero no la interna, sin afectar su posterior esporulación; ácido sulfúrico al 2% (8).

Los ooquistes pueden hacerse esporular por medio del método de Cawthorn con una solución al de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5.3%, incubándose por 30 minutos a 4 °C (8).

Los ooquistes o esporocistos colectados de las heces deben de estar libres de desechos fecales para su cultivo, ya que estos desechos pueden causar daños a las formas deseadas del parásito, así como al medio de cultivo. La limpieza se logra por medio de varias filtraciones en redes cada vez más finas, luego de la filtración los ooquistes deben

sedimentar durante 12 a 24 horas, eliminando el sobrenadante y conservando el sedimento que contiene los ooquistes y/o esporocistos (7).

Es conveniente dejar esporular los ooquistes a temperatura ambiente durante 1 a 7 días antes de su refrigeración. Para lograr la esporulación se debe de agitar la solución lentamente o bien por medio de burbujas de aire. Se debe de mantener un control de la esporulación por medio del examen con el microscopio de luz (7).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MATERIALES

4.1.1. Recursos Humanos:

- Estudiante: Investigador.
- Personal de Laboratorio del Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Personal de vaquería de las fincas en las que se realizará el estudio.

4.1.2. Materiales de Campo:

- Guantes de exploración de látex.
- Bolsas Ziplock.
- Marcador de tinta indeleble (permanente).
- Hielera.
- Unidades de enfriamiento.
- Hielo.
- Bolígrafos.
- Libreta de notas.

4.1.3. Materiales Biológicos:

- Heces de 36 perros acompañantes de vaquería.

4.1.4. Materiales de Laboratorio:

- Pistilo y Mortero de cerámica.
- Tubos de ensayo de 10 ml.
- Tubos de centrífuga.
- Frascos de fondo plano.
- Beaker graduado de 100 ml.
- Colador metálico.
- Balanza.
- Incubadora.
- Microscopio de luz.

4.1.5. Centros de Referencia:

- Biblioteca Central de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Biblioteca del Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Internet.

4.2 METODOLOGÍA

4.2.1 Definición de la Muestra:

El muestreo se realizará con todos los perros acompañantes de vaquería de cinco explotaciones en diferentes regiones del país, donde se permitirá el ingreso para realizar el estudio, y que como característica común tienen problema de aborto bovino:

1. Finca El Amatal, Moyuta, Jutiapa.
2. Finca La Selva, Chiquimulilla, Santa Rosa.
3. Finca La Montaña, Chiquimulilla, Santa Rosa.

4. Finca El Rosario, Puerto de San José, Escuintla.
5. Finca Pasajinak, Tecpán Chimaltenango.

4.2.2. Selección y Toma de la Muestra:

Las muestras serán tomadas directamente del recto de los perros acompañantes de vaquería (ver anexos foto 1), mayores a un año de edad que tengan contacto con las instalaciones donde se tienen a las vacas afectadas y susceptibles, siendo estos perros potenciales portadores y eliminadores del parásito *Neospora caninum*, ya que están expuestos a contraer el parásito por la ingestión de restos de abortos contaminados y posteriormente al desarrollo del parásito en el interior de dichos perros les permita eliminar los ooquistes del parásito contaminando dichas instalaciones. La colecta de la muestra se realizará por medio de palpación digital del ano, utilizando guantes de exploración de látex. Las muestras serán almacenadas en bolsas plásticas zip-lock, identificadas de la siguiente manera:

- Identificación de la explotación donde fue tomada la muestra (nombre de la finca y ubicación).
- Número de muestra en la explotación (Correlativo en cada finca).
- Identificación del animal muestreado (Nombre del animal).

Las muestras, una vez identificadas (ver anexos foto 2), serán transportadas en refrigeración por medio de una hielera con unidades de enfriamiento que contienen un agente congelado sintético, a una temperatura de entre 3 a 7 °C para ser trasladadas al laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

4.2.3. Procesamiento de las Muestras en el Laboratorio:

Las muestras serán procesadas por medio del método de flotación fecal en solución saturada de cloruro de sodio, el cual consiste en una pequeña cantidad de heces, aproximadamente 1 gramo, que se disuelve en 10 ml de solución saturada de cloruro de

sodio (NaCl), la cual se prepara agregando 450 g de cloruro de sodio a 1 lt de agua caliente tratando de que se disuelva la mayor parte del cloruro de sodio. La preparación es filtrada y luego es vertida a un tubo dejando que el menisco sobresalga de la entrada del tubo. Se espera que la solución repose por 15 minutos hasta que los huevos floten y el resto de sedimentos caigan al fondo. Luego se coloca una laminilla cubre objetos sobre el menisco para que recoja los huevos u ooquistes que se encuentren flotando. Se retira del tubo y se coloca en una lámina porta objetos para su observación al microscopio (ver anexos foto 3).

Antes que el líquido repose, se puede pasar a un tubo de centrifuga para eliminar la mayor cantidad de sedimentos por medio de centrifugar la solución durante 5 minutos.

Posteriormente se recuperarán los ooquistes de la flotación tomando el tubo luego de filtrada la preparación y antes de que la misma se deje reposar y pasar la preparación a un tubo de centrifuga y centrifugándolo para lograr la sedimentación de la mayor cantidad de ooquistes. El sedimento será trasladado a un recipiente donde se harán esporular por medio del método de Cawthorn con una solución al de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5.3%, incubándose por 30 minutos a 4 °C, para su posterior observación y confirmación del diagnóstico por medio de microscopía de luz (ver anexos foto 4).

4.2.4. Análisis y Métodos Estadísticos a Utilizar:

Las muestras se tomarán y se transportarán al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria para su procesamiento y análisis por los métodos anteriormente descritos. Las características de los perros a muestrear serán perros acompañantes de vaquería mayores a un año de edad, que se relacionen con instalaciones de la explotación donde se desarrollan las actividades de los animales productivos.

Una vez obtenidos los resultados del análisis de laboratorio de las muestras se utilizará estadística descriptiva, elaborando tablas, gráficas y porcentuales que expresarán la presencia o no del agente.

PRESUPUESTO

• 100 bolsas Ziplock	Q. 40.00
• 100 pares de guante de latex	Q. 60.00
• 5 libras de cloruro de sodio químico	Q. 30.00
• 4 unidades refrigerantes	Q. 100.00
• Hielo	Q. 50.00
• Hielera	Q. 75.00
• Gasolina	Q. 1,000.00
• Gastos de Oficina:	
- Hojas de papel bond	Q. 35.00
- Tinta de impresora	Q. 100.00
• Alimentación	Q. 200.00
• Hospedaje	Q. 300.00
Total	Q. 1,990.00

Todos los gastos fueron por cuenta del investigador

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó el muestreo en 5 fincas que permitieron realizar el muestreo en sus instalaciones, que llenaran las condiciones de incidencia de aborto bovino, que se encontraran libres de otras enfermedades que causen aborto y preferentemente que tuvieran un diagnóstico de ***N. caninum***, como causa del aborto. Dichas fincas fueron:

1. Finca El Amatal, Aldea el Obraje, Moyuta, Jutiapa.
2. Finca La Selva, Aldea Los Cerritos, Chiquimulilla, Santa Rosa.
3. Finca La Montaña, Aldea Casas Viejas, Chiquimulilla, Santa Rosa.
4. Finca El Rosario, Puerto de San José, Escuintla¹.
5. Finca Pasajinak, Tecpán Chimaltenango.

Donde se obtuvieron muestras directamente del recto de 36 perros, mayores a 1 año de edad, relacionados con la explotación como perros acompañantes de vaquería y perros vecinos merodeadores. Dichas muestras fueron sometidas a las pruebas de laboratorio, las que consistieron en flotación fecal en solución hipersaturada de cloruro de sodio (NaCl) y observación a microscopio de luz para la identificación de ooquistes del Phylum Apicomplexa, lo cual se dificultó por la presencia de huevos de helmintos, los cuales enmascaran la observación de ooquistes de protozoarios. Las muestras positivas a esta prueba fueron cultivadas hasta su esporulación por medio del método de Cawthorn, el cual consiste en centrifugar la muestra y pasar el sedimento a una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 5.3% por 30 minutos a 4 °C, para luego ser observado nuevamente al microscopio de luz para diferenciarlos de otros Ooquistes del Phylum Apicomplexa, los cuales requieren de diferentes tiempos para su esporulación y se observan sin esporular, o no completamente esporulados, a diferencia de ***N. caninum*** que se presenta totalmente esporulado.

Después de realizar las pruebas de laboratorio y de tabular los datos se realizó el siguiente análisis:

¹ Los perros acompañantes de vaquería fueron eliminados antes de que se realizara el muestreo por lo que se trabajó con animales vecinos a la explotación que se consideran merodeadores.

Analizando los datos en general se obtiene un 16.6 % de casos positivos y un 83.3 % de casos negativos (ver anexos Gráfica No. 1), lo cual representa una baja presencia del agente, pero se debe tomar en cuenta que las explotaciones no se encuentran relacionadas geográficamente; asimismo, la situación del agente etiológico es diferente en cada finca, por lo que se debe evaluar la presencia del este en cada una de ellas (ver anexos Cuadro y Gráfica No. 2), por lo que se puede observar que los porcentajes de casos positivos varían de un 20 a un 30% (ver anexos Cuadro 2.1), obteniendo un promedio de 25% de casos positivos en cada explotación. Es importante evaluar los resultados de esta manera, ya que hay riesgo de que los animales positivos de cada explotación, eliminen el agente contaminando pastos e instalaciones en cada una.

En relación a las edades de los perros de las explotaciones estudiadas, se puede observar que la mayoría se ubica en el rango de 1 a 4 años de edad (ver anexos Cuadro No. 3), constituyendo el 94.4% de los animales muestreados, y en menor medida los animales mayores a los 5 años de edad, que constituyen el 5.5% de los mismos (ver anexos Gráfica No. 3). De los animales de entre 1 a 4 años de edad el 14.7% son positivos, lo que indica que los animales más jóvenes son los que más probablemente van a adquirir el agente, posteriormente eliminándolo sobre los pastos de la explotación constituyendo un riesgo de infección para los bovinos relacionados. Por otro lado, los perros viejos pueden presentar una mayor resistencia inmunológica al agente etiológico, indicando que en algún momento de su vida estos animales también adquirieron el parásito y constituyeron una fuente de contaminación a potreros e instalaciones.

Al analizar el sexo de los perros muestreados se puede observar que aunque el 33.33% de las muestras provienen de perras, el 25% de las mismas se encontraron positivas a las pruebas de laboratorio, en contraste con un 66.66% de la población muestreada son perros machos de los cuales sólo un 12.5% de los mismos resultaron positivos (ver anexos Cuadro y Gráfica No. 4). Lo anterior nos hace indicar que las perras son más propensas a adquirir y posteriormente eliminar el parásito, debido a la demanda

de alimento es mayor, especialmente durante la cría, donde las perras consumirán más frecuentemente restos de partos y abortos que los machos.

Otro aspecto importante en la investigación es la relación de los perros muestreados en el experimento con la explotación bovina, en el cual se puede observar que el 55.55% de los perros en el experimento son acompañantes de vaquería, de los cuales el 30% resultaron positivos a las pruebas de laboratorio, mientras que el 44.44% (ver anexos Cuadro y Gráfica No. 5), son perros visitantes merodeadores, de los cuales ninguna muestra evidencia presencia del agente etiológico, esto indica que los perros acompañantes de vaquería son los que mas probabilidades de adquirir y eliminar el parásito por su estrecha relación con los bovinos que puedan padecer de la enfermedad.

En relación con la prueba propiamente, sólo las muestras que resultaron positivas a ooquistes de protozoarios fueron sometidas al cultivo, éstas representan un 33.33% (ver anexos Cuadro y Gráfica No. 6) de las muestras. En estas muestras cultivadas se esperó que los ooquistes sufrieran esporulación para confirmar el diagnóstico. El 50% de las muestras sometidas a esporulación resultaron positivas confirmando el diagnóstico de la prueba de flotación fecal, lo que indica que la prueba es efectiva en la identificación de ooquistes de ***N. caninum*** considerando el cultivo por el método de Cawthorn como un complemento necesario a la prueba de flotación fecal.

VI. CONCLUSIONES

1. La prueba de flotación fecal en solución sobresaturada de de cloruro de sodio para el diagnóstico de *Neospora caninum*, en perros, es sencilla en relación a la toma de la muestra y su procesamiento, el único proceso que puede representar dificultad es la observación inicial, ya que se debe de conocer bien el ooquiste de protozoarios del Phylum Apicomplexa. En relación al costo de la prueba, ésta es barata en su realización ya que los materiales y reactivos son económicos y fáciles de adquirir.
2. Es posible identificar al parásito *N. caninum* en los perros relacionados con explotaciones bovinas con problemas de aborto bovino, libres de otros agentes responsables de dicha etiología, relacionando a los perros acompañantes de vaquería con dicho problema, debido al consumo de restos de abortos y restos placentarios, así como la posterior contaminación de pastos e instalaciones que representan un riesgo para los bovinos sanos.
3. La efectividad de la prueba está relacionada con la habilidad del observador en la identificación de ooquistes del Phylum Apicomplexa y lo más importante, no tomar en cuenta los huevos de otros parásitos que puedan encontrarse en el campo visual; también depende del cultivo complementario de dichos ooquistes por medio del método de Cawthorn, ya que la flotación fecal por si sola, no permite un diagnóstico definitivo y debe de ser confirmado por medio del cultivo.
4. Los perros que representan un mayor riesgo de contaminación de potreros e instalaciones son los acompañantes de vaquería, por su estrecha relación con la explotación, lo que aumenta la probabilidad de que consuman restos placentarios contaminados con el parásito; y, en menor importancia los perros vecinos, merodeadores, que no tienen una relación directa con los potreros o con los animales y que tienen menos oportunidad de consumir materiales contaminados.

5. Las perras son las que más probabilidades tienen de consumir abortos y restos de éstos, contaminados con ***N. caninum***, debido a que la demanda de alimento es mayor en ellas, en especial durante la preñez y la cría.

VII. RECOMENDACIONES

1. Es importante mantener un control de parásitos en los perros acompañantes de vaquería, por medio del examen coproparasitológico, en base a la prueba descrita en este documento, para identificar al *Neospora caninum* antes de que se presenten los abortos en la población bovina de las explotaciones.
2. Realizar el diagnóstico diferencial de las enfermedades como Brucelosis o Leptospirosis, es importante en las explotaciones afectadas por abortos, ya que son zoonóticas en la región.
3. Es importante implementar un programa periódico de tratamiento preventivo y/o curativo en los perros acompañantes de vaquería, con Sulfatiazol a razón de 400 mg/día PO por 5 a 6 días, como se utiliza en el caso de *Toxoplasma gondii* en los gatos, evaluando dicho tratamiento para comprobar su efectividad en el caso de *N. caninum*.
4. Evaluar la situación epidemiológica del *N. caninum* es importante en el país a través de realizar muestreos en perros no relacionados con explotaciones bovinas, para tener un mejor panorama de la presencia del parásito en la región, debido a que el perro cuando participa en el ciclo del parásito como hospedero intermediario puede sufrir signos clínicos similares a los de rabia.
5. En caso de presentarse aborto bovino en las explotaciones, y que el diagnóstico serológico, en los animales afectados, sea positivo a *N. caninum*, es importante relacionarlo con los perros acompañantes de vaquería por medio de la prueba directa en ellos antes de decidir eliminarlos.
6. Entre las medidas preventivas se encuentra establecer, en las explotaciones, espacios destinados específicamente para el parto, con el fin de evitar el acceso a los perros a los restos del mismo, así como un mejor control de los movimientos de los mismos.

7. El control reproductivo de las perras acompañantes es de suma importancia, ya que, según los resultados del presente trabajo, estas son las más susceptibles a contraer el agente etiológico en especial cuando se encuentran en cría de cachorros debido su alta demanda de alimento.
8. Es necesario continuar el presente estudio con la evaluación serológica de los perros relacionados con explotaciones bovinas con problemas de aborto para determinar la titulación serológica de los mismos y, establecer el riesgo de diseminación de la enfermedad entre los perros y el posterior contagio de los bovinos susceptibles.

VIII. RESUMEN

El experimento fue realizado entre el 17 de junio al 1 de julio en 5 fincas no relacionadas geográficamente, pero que presentan la característica de aborto bovino libre de enfermedades como brucelosis, IBR, DVB y leptospirosis. Dichas fincas son las siguientes:

1. Finca El Amatal, Aldea el Obraje, Moyuta, Jutiapa.
2. Finca La Selva, Aldea Los Cerritos, Chiquimulilla, Santa Rosa.
3. Finca La Montaña, Aldea Casas Viejas, Chiquimulilla, Santa Rosa.
4. Finca El Rosario, Puerto de San José, Escuintla.
5. Finca Pasajinak, Tecpán Chimaltenango.

El experimento se realizó tomando muestras de heces directamente del recto de los perros de cada explotación, siendo almacenadas y transportadas en refrigeración al laboratorio del Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, donde se procedió a realizar la flotación fecal de las mismas en una solución hipersaturada de cloruro de sodio. Se observó cada muestra en busca de ooquistes de protozoarios del Phylum Apicomplexa, las muestras donde se encontraron dichos ooquistes fueron tomadas como positivas a la flotación y fueron sometidas al cultivo por medio del Método de Cawthorn, que consiste en pasar la muestra a una solución de hipoclorito de sodio al 5.3% durante 30 minutos. Luego se realizó la segunda observación en busca de ooquistes esporulados los cuales son de mayor tamaño que los no esporulados y confirman el diagnóstico ya que otros protozoos del mismo Phylum necesitan de mayor tiempo de cultivo para su esporulación.

Luego de realizar la observación comprobó que es posible realizar el diagnóstico en los perros asociados a las explotaciones afectadas, los cuales son el mamífero transmisor de la neosporosis bovina y representan un riesgo para las explotaciones. También se determinó que los animales menores a 3 años son los que representan mayor riesgo de

ser portadores del ***N. caninum***, debido a una menor resistencia inmunológica al parásito. Además se observó que las perras son las que más probabilidades tienen de transmitir el parásito, y de contaminar pastos e instalaciones.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. A Haddad, JP; Dohoo, I; VanLeween, A. 2005 A Review of *Neospora caninum* in Dairy and Beef Cattle — a Canadian Perspective (en línea) Ontario, Canadá, Canadian Veterinary Medical Association, marzo del 2005 disponible en <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1082867>
2. Aycachí Inga, R. 2005 Neospora Caninum – Parasitología (en línea) España Agosto del 2005 disponible en <http://www.monografias.com/trabajos30/neospora-caninum/neospora-caninum.shtml#diagn>
3. Brener, J. 2000 Los Perros son Portadores del *Neospora caninum* (en línea) Iowa, US, Iowa Farmer Today, Octubre del 2000, disponible en http://www.imperiorural.com.ar/imperio/estructura/miriam%20archivos/Bovinos/neospora_caninum.htm
4. Dryden MW; Payne PA; Ridley R; Smith V. 2005 Comparison of Common Fecal Flotation Techniques for Recovery of Parasite Eggs and Oocist (en línea) Kansas, US, Department of Diagnostic Pathobiology College of Veterinary Medicine Kansas State University Julio de 2005, disponible en http://www.vet.ksu.edu/depts/dmp/pdf/VTX_Spring05_Dryden.pdf
5. Dubey, JP; Beattie, CP. 1988 **Toxoplasmosis of Animals and Man** Boca Ratón, Florida, US, CRC Press Inc. 1e.
6. Dubey, JP. 2005 Nosporosis in Dogs (en línea) US, Animal Parasitic Diseases Laboratory, Animal and Natural Resources Institute, Agricultural Research Service, United States Department of Agricultural Beltsville, MD, Mayo del 2005, disponible en <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2005&PID=10950&O=Generic>
7. Jensen, JB. 1983 In Vitro Cultivation of Protozoan Parasites Boca Ratón, Florida, US, CRC Press Inc. , 1e.
8. Long, PL. 1990 Coccidiosis of Man and Domestic Animals Boston U.S. CRC Press Inc. Ann Harbor, 1e.
9. Muñoz Hernández AL. 2004 Puesta a Punto de la Técnica en Cadena de las Polimerasas (PCR), Para el Diagnóstico de *Neospora caninum* en Tejido Nervioso Central de Fetos Bovinos Abortados (en línea) Temuco, Chile, Universidad Católica

de Temuco, Chile Agosto del 2004 Disponible en
<http://biblioteca.uct.cl/tesis/andrea-munoz/tesis.pdf>

10. Venturini, MC. 2003 Neosporosis Epidemiología y Diagnóstico (en línea) La Plata, Argentina Lab. de Inmunoparasitología, Facultad de C.Veterinarias, UNLP, septiembre del 2003, disponible en
http://cni.inta.gov.ar/helminto/resumenes/rtandil_04.htm
11. Weinstock, D. 1999 Neospora Caninum (en línea) Pennsylvania, US, Department of Veterinary Science, College of Agriculture, Pennsylvania State University, State College, PA, Pennsylvania US, Junio de 1999, disponible en
<http://www.cas.psu.edu/docs/CASDEPT/VET/NEOSPORA.HTM>

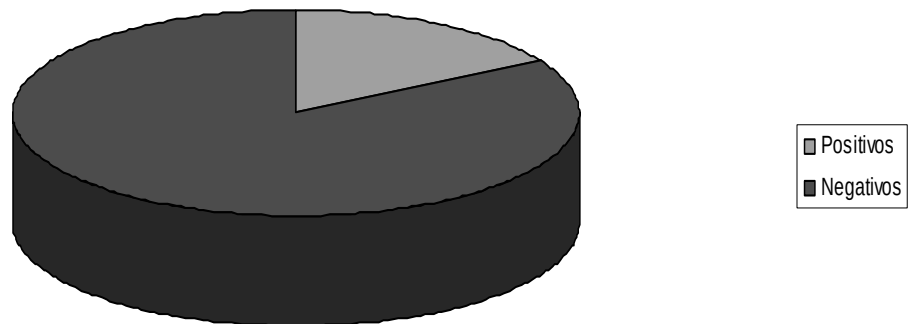
X.ANEXOS

10.1. TABLAS Y GRÁFICAS

Cuadro 1: Diagnóstico de los Perros Muestreado en las Fincas Visitadas del 17 al 30 de Junio de 2008.

Diagnóstico	Cantidad	% de Casos
Positivos	6	16.6
Negativos	30	83.33
Total de Muestras	36	100

Gráfica 1: Diagnóstico de los Perros Muestreados en las Fincas Visitadas del 17 al 30 de Junio de 2008

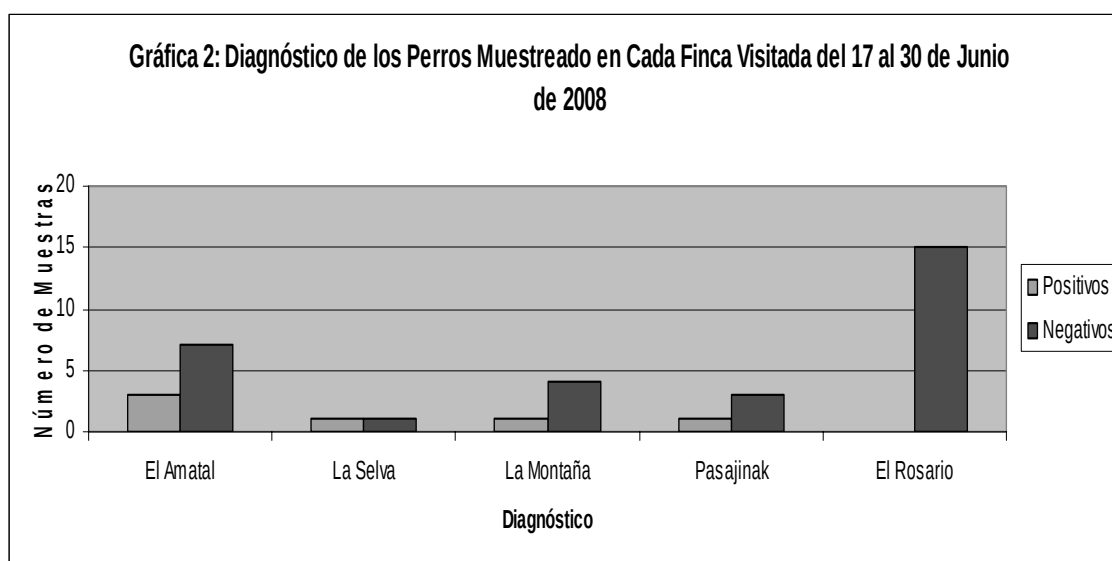


Cuadro 2: Diagnóstico de los Perros Muestreados en Cada una de las Fincas Visitadas del 17 al 30 de Junio de 2008.

Diagnóstico	El Amatal	La Selva	La Montaña	Pasajinak	El Rosario
Positivos	3	1	1	1	0
Negativos	7	1	4	3	15
Total de Muestras	10	2	5	4	15

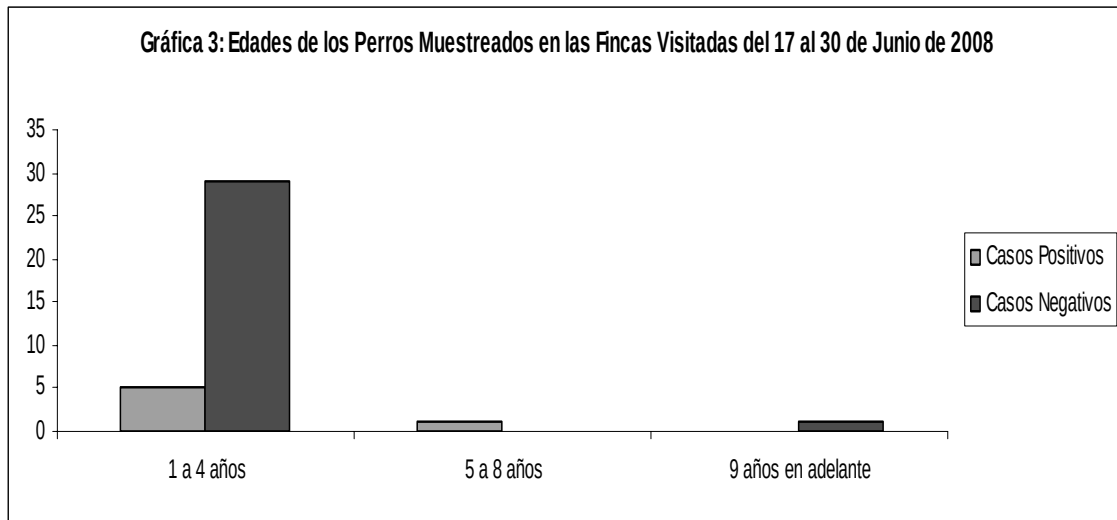
Cuadro 2.1: Porcentajes de los Casos en Cada Una de las Fincas Visitadas del 17 al 30 de Junio de 2008.

Finca	% Positivos	% Negativos	% Positivos en General	% Negativos en General
El Amatal	30	70	8.3	19.4
La Selva	50	50	2.7	2.7
La Montaña	20	80	2.7	11.1
El Rosario	0	100	0	100
Pasajinak	25	75	2.7	11.1
<i>Promedio</i>	<i>25</i>	<i>75</i>	<i>3.28</i>	<i>28.86</i>



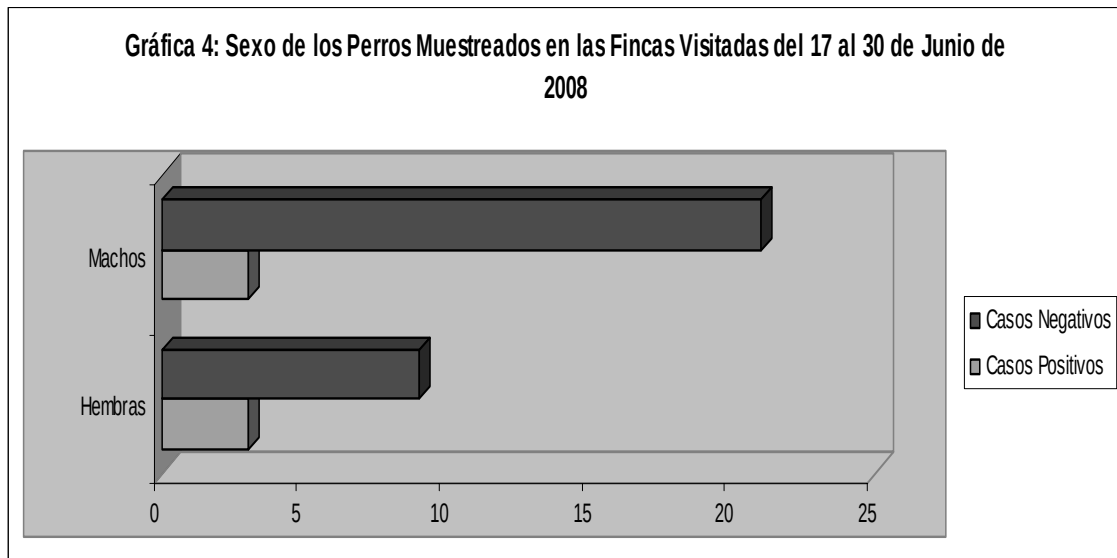
Cuadro 3: Edades de los Perros Muestreados en las Fincas Visitadas del 17 al 30 de Junio de 2008

Rango de Edad	Total de Muestras	%	Casos Positivos	% Positivos	Casos Negativos	% Negativos
1 a 4 años	34	94.44	5	14.70	29	85.29
5 a 8 años	1	2.77	1	100	0	0
9 años en adelante	1	2.77	0	0	1	100
Total	36		6		30	



Cuadro 4: Sexo de los Perros Muestreados en las Fincas Visitadas del 17 al 30 de Junio de 2008

Sexo	Total de muestras	%	Casos Positivos	%Positivos	Casos Negativos	% Negativos
Hembras	12	33.33	3	25	9	25
Machos	24	66.66	3	12.5	21	58.3
Total	36		6		30	



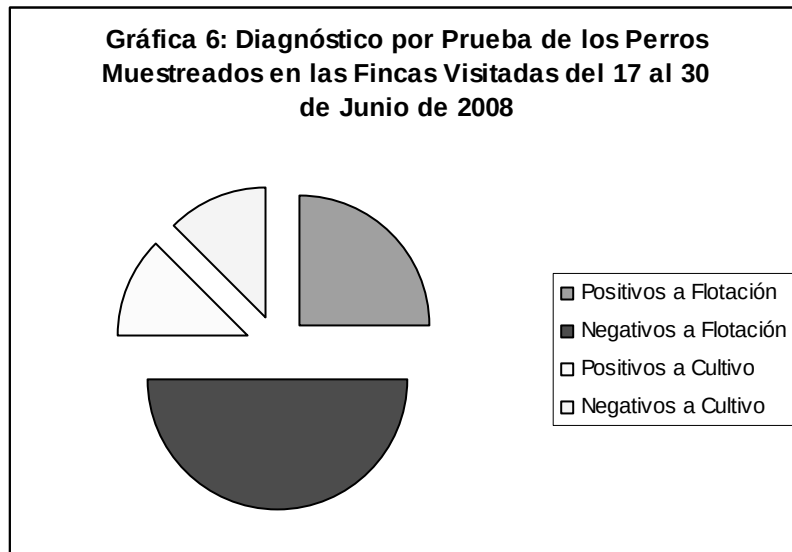
Cuadro 5: Relación de los Perros Muestreados en las Fincas Visitadas del 17 al 30 de Junio de 2008

Relación	Total de Muestras	%	Casos Positivos	% Positivos	Casos Negativos	% Negativos
Acompañantes	20	55.55	6	16.6	14	38.8
Vecinos	16	44.44	0	0	16	44.4
Total	36		6		30	



Cuadro 6: Diagnósticos por Prueba de los Perros Muestreados en las Fincas Visitadas del 17 al 30 de Junio de 2008

Diagnóstico	Cantidad	% de Casos
Positivos a Flotación	12	33.3
Negativos a Flotación	24	66.6
Positivos a Cultivo	6	16.6
Negativos a Cultivo	6	16.6



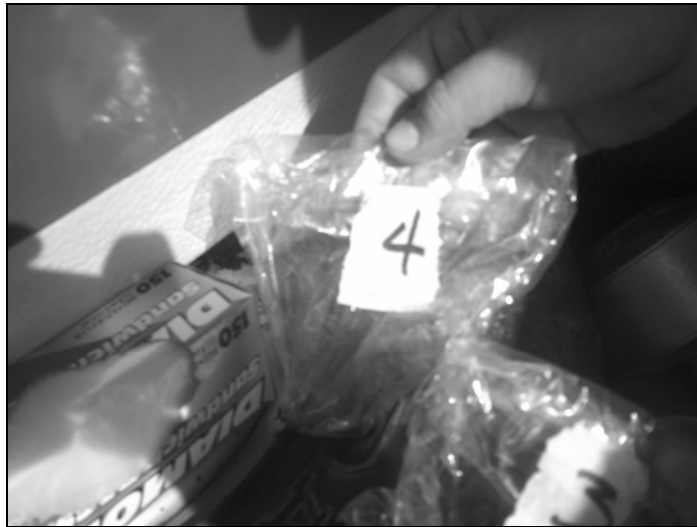
11.2. FOTOGRAFÍAS

Foto 1:



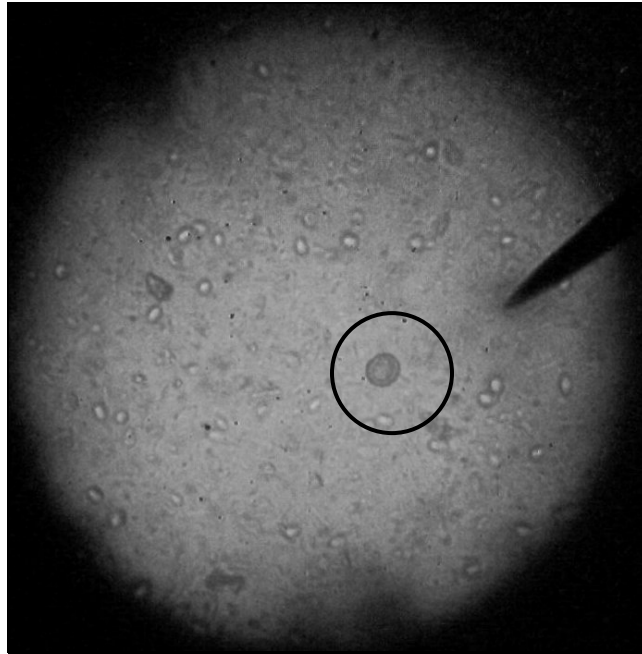
Toma de muestra

Foto 2:



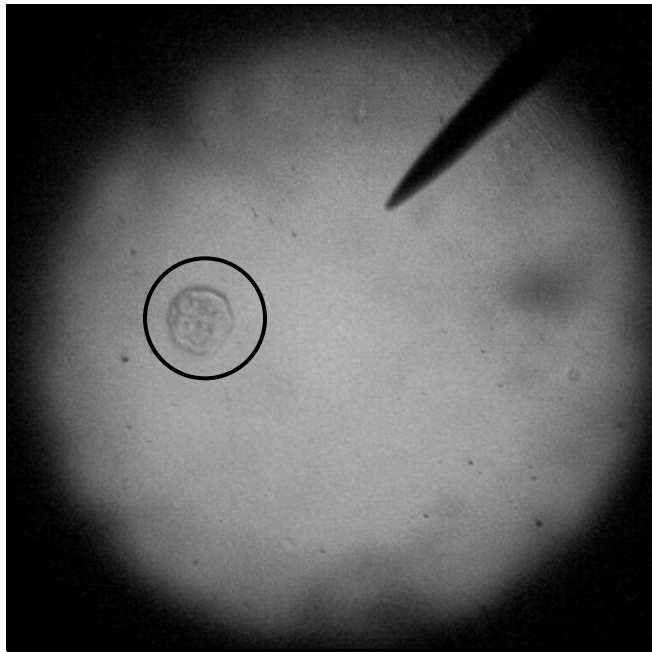
Identificación y transporte de la muestra

Foto 3



Ooquiste del Phylum Apicomplexa sin esporular a 1000 X

Foto 4



Ooquiste esporulado de *Neospora caninum* a 1000 X