

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Frecuencia de anticuerpos anti *Neospora caninum* en perros que conviven con bovinos de leche y carne

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

Autores:

Adriana Madelein Hidalgo Núñez

Wilson Fabricio Romero Tigmasa

Director:

Jaime Eduardo Maldonado Rivera

ORCID:  0000-0003-3392-0236

Cuenca, Ecuador

02-08-2023

Resumen

En el Ecuador se han realizado trabajos epidemiológicos que demuestran la presencia de la enfermedad en ganado bovino, su asociación con el aborto, la presencia de lesiones compatibles y material genético del parásito en fetos de matadero, aunque, la prevalencia es variable esta se ha reportado alrededor del 23.5%. Sin embargo, no había información para conocer la frecuencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en perros, considerando que esta especie es el hospedador definitivo del parásito. Este estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia de anticuerpos anti- *Neospora caninum* en muestras de suero de 124 perros que habitan con ganado bovino, tomadas de 59 granjas de las provincias Azuay, Cañar, Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas. Se consideraron las variables; procedencia de la muestra, la edad, el sexo, de los perros, el tamaño y tipo de hato ganadero, para determinar si estos factores se asocian con la presencia de anticuerpos anti *Neospora caninum*. El levantamiento de datos se realizó en una hoja de registro que incluyen: la ubicación, datos del animal como también del propietario. La presencia de anticuerpos anti *Neospora caninum* se determinó mediante ELISA competitivo, se encontró una frecuencia del 18.5% de los perros estudiados. Se determinó asociación estadística, con el tipo de hato ganadero y con la región geográfica siendo más frecuente la enfermedad en perros que viven en la sierra y conviven con bovinos de leche. No se estableció asociación estadística con las variables tamaño del establecimiento ganadero, edad y sexo de los perros.

Palabras clave: aborto, epidemiología, frecuencia

Abstract

In Ecuador, epidemiological studies have been carried out that demonstrate the presence of the disease in cattle, its association with abortion, the presence of compatible lesions and genetic material of the parasite in slaughterhouse fetuses, although the prevalence is variable and has been reported. about 23.5%. However, there was no information to know the frequency of tests against *Neospora caninum* in dogs, considering that this species is the definitive host of the parasite. This study aimed to determine the frequency of anti-*Neospora caninum* studies in serum samples from 124 dogs living with cattle, taken from 59 farms in the Azuay, Cañar, Manabí and Santo Domingo de los Tsáchilas provinces. Variables were considered; sample origin, age, dogs sex, size and type of cattle herd, to determine if these factors are associated with the presence of anti-*Neospora caninum* studies. Data collection was carried out in a registration sheet that includes: location, data of the animal as well as the owner. Presence of anti *Neospora caninum* studies was developed by competitive ELISA, a frequency of 18.5% of the dogs studied was found. Statistical association will be developed, with the type of cattle herd and with the geographical region, the disease being more frequent in dogs that live in the mountains and coexist with dairy cattle. No statistical association was established with the variables size of the livestock establishment, age and sex of the dogs.

Keywords: abortion, epidemiology, frequency

Índice de contenido

Introducción.....	13
1.Objetivos.....	14
1.1 Objetivo general.....	14
1.2 Objetivos específicos.....	14
Revisión bibliográfica.....	15
2.1 Generalidades.....	15
2.1.1 Descripción del parásito.....	15
2.1.2 Definición de la enfermedad.....	15
2.1.3 Antecedentes.....	15
2.1.4 Ciclo Biológico.....	16
2.2 Neosporosis en Caninos.....	16
2.2.1 Descripción y características de la enfermedad.....	16
2.2.2 Prevalencia.....	17
2.2.3 Factores de riesgo.....	17
2.2.4 Patogenia.....	18
2.2.5 Sintomatología.....	19
2.2.6 Tratamiento y control.....	19
2.2.7 Métodos de diagnóstico.....	20
2.3 Neosporosis bovina.....	20
2.3.1 Descripción y Características de la enfermedad.....	20
2.3.2 Prevalencia.....	20
2.3.3 Patogenia.....	21
2.3.4 Sintomatología.....	22
2.3.5 Tratamiento y control.....	23
3. Materiales y métodos.....	24
3.1 Materiales.....	24
3.1.1 Materiales físicos.....	24
3.1.2 Materiales biológicos.....	24

3.1.3 Materiales químicos.....	24
3.2 Métodos.....	24
3.2.1 Ubicación política-geográfica.....	24
3.2.2 Diseño del trabajo.....	25
3.2.3 Tamaño de la muestra.....	25
3.2.4 Actividades.....	25
3.2.5 Toma de muestra.....	26
3.2.6 Georreferencia.....	26
3.2.7 Análisis de laboratorio.....	26
3.2.8 Análisis estadístico.....	27
3.2.9 Área de estudio.....	27
4. Resultados.....	28
5. Discusión.....	33
Conclusiones.....	35
Recomendaciones.....	36
Referencias.....	37
Anexos.....	45

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación del Área de Estudio (Azuay, Cañar, Manabí Santo Domingo)	25
Figura 2. Anticuerpos Según Región	29
Figura 3. Anticuerpos Según Provincia	29
Figura 4. Anticuerpos Según Tamaño del Hato	29
Figura 5. Anticuerpos Según Tipo de Explotación	29
Figura 6. Anticuerpos Según el Sexo	30
Figura 7. Anticuerpos Según la Edad	30
Figura 8. Georreferenciación de las Muestras	31

Índice de tablas

Tabla 1. Características Generales de los Perros.....	28
Tabla 2. Frecuencia de Anticuerpos N. caninum	28
Tabla 3. Anticuerpos Específicos Contra N. Caninum Con Respecto A La Región Geográfica, Tamaño Y Tipo Del Hato Ganadero	30
Tabla 4. Anticuerpos Específicos Contra N. caninum, Edad y Sexo	31

Agradecimiento

En estos momentos mi corazón reboza de alegría, porque el llegar a este apartado me indica que estamos a escasos momentos de entrega de esta valiosa información. ¡Gracias a ti mi Dios porque no me soltaste, fueron tantas peleas ganadas, gracias! Sr. Luis Hidalgo, Sra. Eugenia Núñez, Sr. Jhoncito Gracias por todo el esfuerzo que hicieron por mí. Srta. Carpio, Sr. Pesantez, Sr. Aguilar, Srta. Pinos, Sr. Jara, y Sr. Martínez, gracias por hacer de estos años de estudio los más bonitos, los quiero tanto. Dr. Jaime, mi admiración y cariño siempre con ud, gracias por su ayuda y motivación a lo largo de la carrera. Colega y amigo Fabricio Romero, lo hicimos y lo hicimos bien, ¡gracias!

Ya en la recta final, gracias por acompañarme Beto y Emilia, mi motivo y mi razón. Y a ti estimado lector que de alguna forma contribuyes a que se continúen escribiendo documentos en favor de la ciencia.

Adriana Madelein Hidalgo Núñez

Agradecimiento

Primero quiero agradecer a Dios por darme la fuerza y la motivación para seguir adelante, también agradezco infinitamente a mis padres, a mi hermano y hermana por ser mis pilares fundamentales para seguir adelante, por su apoyo incondicional y su amor hacia a mí y recordarme que lo que uno quiere, lo puede lograr.

Agradezco a mi director de tesis al Dr. Jaime Maldonado por la paciencia desinteresada pues supo guiarnos durante en todo el desarrollo de esta investigación y nunca dejarnos solos de principio a fin. También a mi compañera de tesis Adriana Hidalgo por ser una persona perseverante y a pesar de los inconvenientes seguir adelante con nuestro proyecto.

Finalmente, a mis amigos dentro y fuera de la universidad, a mis compañeros de aula por su apoyo y críticas constructivas para mejorar y seguir adelante.

Wilson Fabricio Romero Tigmasa

Dedicatoria

Quiero dedicar este documento a Emilia Isabella, todos los procesos en la vida se construyen en la línea del tiempo, para agilizarlos necesitas tomarte de la mano de la eficacia, hazlo bien, pero apresura tus pasos. Dios te bendiga mi amor.

Adriana Madelein Hidalgo Núñez

Dedicatoria

Con mucho cariño quiero dedicar este trabajo de tesis a mis padres Segundo Romero y Cecilia Tigmasa que, sin duda alguna son las personas que admiro y respeto mucho por ser mis pilares en mi vida, por no dejarme solo en toda la trayectoria de mi carrera y aún más cuando pasaba malos momentos en mi vida, por brindarme su apoyo en todo momento y recordarme mis sueños y lo que quiero lograr en mi vida.

También quiero dedicarles a mis profesores que me brindaron sus conocimientos y experiencias para formarme tanto profesionalmente como persona.

Wilson Fabricio Romero Tigmasa

Abreviatura y simbología

S: Santo Domingo.

M: Manabí.

C: Cañar.

A: Azuay.

ELISA: Enzimoimmunoanálisis de adsorción

N. caninum: *Neospora caninum*

Introducción

La neosporosis es una enfermedad de gran importancia, debido al impacto que tiene en el sector ganadero, siendo considerada la principal causa de aborto en ganado bovino a nivel mundial. Provoca grandes pérdidas económicas y productivas en el sector pecuario (Dubey et al., 2017; Hernández et al., 2001; Hobson et al., 2002; Trees et al., 1999). El diagnóstico de la enfermedad es esencial para establecer programas de control y reducir su prevalencia (Dubey et al., 2017).

La produce el parásito de filum apicomplexa, *Neospora caninum*, siendo sus principales hospedadores definitivos los cánidos domésticos y silvestres, en especial, el perro doméstico *Canis lupus familiaris*, que por su cercanía al ganado bovino es un eslabón importante en la diseminación horizontal de la enfermedad (Dubey et al, 2017). En el Ecuador se han realizado investigaciones en ganado bovino que han demostrado la presencia de anticuerpos específicos en alrededor del 23.5% de la población analizada (Maldonado et al., 2021). Este estudio analizó la presencia de anticuerpos contra el parásito en sangre de perros que habitan con ganado bovino, en dos regiones naturales del Ecuador, costa y la sierra, tomando en cuenta las provincias de Azuay, Cañar, Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas. Además, se consideraron las variables de tipo y tamaño del establecimiento ganadero, la edad y sexo de los animales.

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Determinar la frecuencia de anticuerpos para *Neospora caninum* en muestras de suero sanguíneo de perros que habitan en granjas ganaderas de la costa y sierra del Ecuador.

1.2 Objetivos específicos

- Establecer si existen diferencias en frecuencia de anticuerpos específicos contra *N. caninum* con respecto a la región geográfica, tamaño y tipo del hato ganadero.
- Establecer si existen diferencias en frecuencia de anticuerpos específicos contra *N. caninum* con respecto a la edad y sexo de los perros.

Revisión bibliográfica

2.1 Generalidades

2.1.1 Descripción del parásito

Neospora caninum es un parásito heteroxeno intracelular obligado, pertenece al phylum Apicomplexa (Bacigalupe et al., 2013), clase Sporozoea, subclase Coccidia, orden Eucoccidia, suborden Eimeriorina, familia Sarcocystidae y género *Neospora* (Dubey y Lindsay, 1996). *N. caninum* es un protozooario intracelular obligado, debido a su similitud con el *Toxoplasma gondii* se lo confundió por años como toxoplasma, no fue sino hasta 1988 que se estableció como un nuevo género y especie otorgándole el nombre de *Neospora caninum* (Bjerkas et al., 1984; Dubey et al., 1988).

2.1.2 Definición de la enfermedad

La neosporosis es una enfermedad parasitaria que afecta a distintas especies, es especialmente importante en el ganado bovino, como hospedador intermediario y en los perros domésticos como principal hospedador definitivo, considerando su cercanía dentro del entorno productivo. En los bovinos la enfermedad se manifiesta principalmente por el aborto (Dubey et al., 2017). Mientras que en los perros se puede observar como una enfermedad neuromuscular, (Barber y Trees, 1998; Dubey, 2003) capaz de producir parálisis y contracción ascendente hasta de las dos extremidades pélvicas; también pudiendo afectar a órganos vitales como el corazón, pulmones, placenta, cerebro, hígado, médula espinal entre otros (Carolina y Aguirre, 2008).

2.1.3 Antecedentes

La neosporosis fue descrita por primera vez en Noruega en el año 1984 por Bjerkas en una camada de perros bóxer que presentaron encefalopatía, el estudio histopatológico reveló encefalitis y miositis con la presencia de parásitos protozoarios asociados a las lesiones, lo que llevo a considerar que se trataba de *Toxoplasma gondii*, sin embargo, los perros no presentaron anticuerpos específicos contra *T. gondii* y la ultra estructura del parásito era diferente. Posteriormente, en un estudio retrospectivo (Dubey et al., 1988), analizó tejidos y casos de pacientes caninos que recibieron diagnóstico de muerte por toxoplasmosis, luego del análisis de miles de tejidos, llegó a la conclusión de que lo reportado por Bjerkas, así como una buena parte de los diagnósticos, no se trataban de toxoplasmosis. Así, el nuevo agente fue denominado *Neospora caninum*, ya que, para ese entonces se consideró como causa primaria de enfermedad en perros. Estudios posteriores demostraron que *N. caninum* estaba relacionado con un importante número de abortos en ganado bovino en California, Estados

Unidos (Barr et al., 1991). Hoy se sabe de acuerdo a lo reportado en distintos trabajos que las neosporosis bovina es la principal causa de aborto en ganado bovino a nivel mundial (Dubey et al., 2017). Así también ahora se conoce un importante grupo de hospedadores intermediarios dentro del ciclo doméstico y silvestre de *N. caninum*. (Piaaggio et al., 2007)

2.1.4 Ciclo Biológico.

Los perros (*Canis lupus familiaris*) y otras especies de cánidos como el lobo (*Canis lupus*), coyote (*Canis latrans*) y el dingo (*Canis lupus dingo*) figuran como hospedadores definitivos, en ellos se desarrolla la fase sexual del parásito y por tanto la liberación al ambiente de los ooquistes a través de las heces (Dubey et al., 2017; King et al., 2010). Los bovinos son los principales hospedadores intermediarios del parásito, en donde se desarrolla la fase asexual y especialmente donde se mantienen en estado de latencia a través de quistes tisulares. Los perros se infectan al ingerir quistes presentes en los tejidos de los hospedadores intermediarios (músculos, fetos, placenta, vísceras, etc.), en el tubo digestivo los jugos gástricos degradan la pared del quiste liberando las formas parasitarias, luego, se completa el ciclo sexual y a partir de los 5 días post ingesta se produce la eliminación de ooquistes sin esporular en las heces, la esporulación se da en el medio ambiente después de 24 a 72 horas, en donde cada ooquiste presenta dos esporocistos con cuatro esporozoítos y constituyen la forma infectante para los hospedadores intermediarios (Morales, 2014; Alvarez et al., 2018). Estos quistes ingeridos por los bovinos en el alimento o en el agua, una vez que se encuentran en el intestino delgado liberan los esporozoítos, invaden la pared intestinal y se transforman en taquizoítos. Se dividen rápidamente por endodiogenia y realizan parasitemia para alojarse en diferentes tejidos formando los quistes tisulares, que, al ser ingeridos por los caninos, nuevamente inician el ciclo del parásito (Morales, 2014; Goodswen et al., 2013).

2.2 Neosporosis en Caninos.

2.2.1 Descripción y características de la enfermedad.

La enfermedad afecta a perros de todas las edades, se manifiesta principalmente con desordenes neuromusculares, como parálisis y rigidez progresiva de las extremidades posteriores (López, 2019).

La enfermedad se transmite de manera vertical de la madre a los cachorros a través de la placenta, y es posible pero no frecuente la infección posnatal a través de la leche materna (Bjerkas et al., 1984; Dubey et al., 1988; Dubey et al., 1990). Sin embargo, la infección prenatal es variable y poco frecuente (Barber y Trees, 1998). La forma de transmisión más común es a través del consumo de tejidos infectados del hospedador intermediario, al parecer las

placentas son el medio más eficaz de infección, incluso por encima de los tejidos de fetos abortados, así también la placenta de terneros sanos, pero congénitamente infectados, puede transmitir la enfermedad (Dijkstra et al., 2001; Bergeron et al., 2001). La leche y el calostro de vacas infectadas e incluso en ensayos donde se infectó el calostro con taquizoitos no fue capaz de transmitir la enfermedad a los perros (Dijkstra et al., 2001). Estudios han demostrado que no es posible la infección experimental de perros mediante el consumo de ooquistes esporulados (Bandini et al., 2011).

2.2.2 Prevalencia

La seroprevalencia de la enfermedad se ha reportado en distintos países a nivel mundial, varía dependiendo del método de diagnóstico y la procedencia de las muestras. Generalmente es más frecuente en zonas rurales donde los perros tienen más acceso a los tejidos contaminados (Escalona et al., 2013). En Sudamérica algunos trabajos epidemiológicos han reportado su presencia (Dubey et al., 2017).

En el Ecuador hay un reporte de un estudio realizado en el Cantón Cayambe, provincia de Pichincha, donde de una muestra de 40 perros se obtuvo 26 positivos, una prevalencia de 65%, mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Oña, 2015). Sin embargo, este reporte constituye un hallazgo llamativo ya que la seroprevalencia del ganado bovino determinada en ese mismo estudio dista considerablemente de lo hasta ahora reportado en Ecuador (Changoluisa et al., 2019; Maldonado et al., 2020). También se han realizado trabajos para identificar material genético del parásito en sangre y heces, con una prevalencia del 5 y 0% respectivamente. No obstante, por las características de la infección en esta especie, donde la parasitemia es momentánea no tiene un periodo definido, y además considerando que la eliminación de ooquistes en heces es un hallazgo muy poco reportado, se considera que estos trabajos por su naturaleza y técnica empleada no reflejarían la real presencia de la enfermedad en nuestro país (Barbecho, 2018; Abril y Sigüenza, 2019).

En el país vecino Perú, si existen estudios serológicos realizados en caninos pastores de las fincas ganaderas, mostrando una prevalencia del 14.75% en el departamento de Puno con 18 casos positivos de 122 muestras de suero sanguíneo (Vega et al., 2010), en el Valle de Lima el 32.7% (Del Campo et al., 2003) en la provincia de Chachapoyas 28.9% (Horna et al., 2003), En el Valle de Mantaro 19.4%, (Cornejo et al. 2004).

2.2.3 Factores de riesgo

Se considera que la enfermedad en caninos depende o está asociada a distintos factores. Se ha observado que la prevalencia se incrementa con la edad, lo que sugiere que la mayor transmisión ocurre en la etapa posnatal. Se ha reportado una mayor prevalencia en las

hembras, se considera que durante la gestación la recrudescencia de una infección aumente los niveles detectables de anticuerpos y esto cause un sesgo, ya que posiblemente los machos infectados mantengan bajos niveles de anticuerpos y no sean detectados en pruebas serológicas (Dubey et al., 2017). Algunos trabajos han reportado que la seroprevalencia puede verse influenciada por la raza, los perros cruzados son más susceptibles, mientras que otros trabajos reportan más susceptibilidad en ciertas razas puras como el Husky y el Bóxer. Sin embargo, estos datos no han sido claramente explicados (Kubota et al., 2008; Cringoli et al., 2002). La presencia del hospedador intermediario se considera un importante factor de riesgo, trabajos con muestras procedentes de áreas urbanas y rurales han mostrado una mayor seroprevalencia en perros del entorno rural donde hay mayor presencia de distintos hospedadores intermediarios, pero especialmente de ganado bovino (Cunha et al., 2008; Antony & Williamson, 2003; Dubey et al., 2017).

2.2.4 Patogenia

La patogenia depende por un lado de la capacidad del parásito para adherirse penetrar y multiplicarse en el interior de las células del huésped, y por otro de la capacidad del sistema inmune del huésped para impedir la proliferación del parásito. (Silva y Machado, 2016). Los taquizoitos se multiplican por endodiogenia, pudiendo alcanzar hasta 100 estructuras. La acumulación de taquizoitos destruye la célula liberándolos para invadir otros tejidos. Esta exponencial multiplicación generalmente producen signos neuromusculares, por la destrucción de células neurales que altera la conductibilidad del impulso nervioso (Ravelo, 2009). Después de la ingestión de quistes tisulares se observa una fase prepatente de 5 a 8 días.(Silva y Machado, 2016).

Aún no son conocidos todos los detalles del proceso de infección, sin embargo, se han descrito con detalle las lesiones asociadas a la presencia del parásito, especialmente en los tejidos del SNC (Barber et al., 1996).

Generalmente la enfermedad tiene un curso asintomático, por lo que se considera que la forma clínica es rara. Cuando hay neosporosis clínica esta puede tener diferentes grados de severidad, dependiente de la susceptibilidad del huésped y especialmente de la cepa y su virulencia. Se presenta comúnmente en perros muy jóvenes, muy viejos o inmunosuprimidos. La terapia corticosteroide puede exacerbar la enfermedad. Se ha documentado en un caso de dermatitis piogranulomatosa y en un caso de peritonitis séptica (Dubey et al., 1995; Holmberg et al., 2006; Dubey et al., 2017).

Se han reportado diferentes formas clínicas de neosporosis canina; En infecciones congénitas los cachorros presentan síntomas severos de paresis y parálisis rígida de los miembros

pélvicos, es frecuente observar atrofia muscular. Generalmente los síntomas aparecen en las primeras semanas de vida. La mayoría de casos se presentan en cachorros hasta los dos meses de edad. El parásito tiene tropismo por los nervios lumbo-sacro espinales. Ocasionalmente también se puede observar poliradiculoneuritis, polimiositis y también, meningoencefalitis (Dubey et al., 2017).

En los perros adultos se presenta como una amplia gama de síntomas, donde la paraparesia y convulsiones asociadas a meningoencefalitis son comunes, así también comportamiento anormal y disfunción vestibular. Se puede observar miositis con dificultades manifiestas en la marcha. Se han podido encontrar lesiones, en hígado, corazón, ojos y pulmones (Dubey et al., 2017).

Se han observado casos donde la diseminación del parásito es sistémica presentando lesiones en diversos órganos no nerviosos, por ejemplo, casos severos de enfermedad cutánea, peritonitis difusa, neumonitis severa (Dubey et al., 1995; Greig et al., 1995; Holmberg et al., 2006; Dubey et al., 2017).

2.2.5 Sintomatología

La neosporosis canina presenta su sintomatología, entre la segunda y 20 semanas de edad y también se ha reportado en perros viejos hasta de 15 años de edad (Barber et al., 1996; Dubey et al., 1988). En casos graves se manifiestan en cachorros infectados congénitamente, la cual presentan paresia, seguida de parálisis en los miembros posteriores y los miembros anteriores encontrando generalmente hiperextensión rígida. En cuanto a su signos neurológicos se verá afectado dependiendo del lugar presentando disfagia, parálisis mandibular, flacidez muscular, atrofia muscular (Ravelo, 2009).

2.2.6 Tratamiento y control

Los tratamientos no eliminan la infección, el uso de clindamicina, sulfadiazina y pirimetamina han sido hasta el momento una de las opciones para su mejoría clínica contra la neosporosis, como también la administración de inmunosupresores como glucocorticoides pueden exacerbar la enfermedad (Dubey, 2017; Dubey y Lappin, 2008).

Los perros son hospedadores definitivos del parásito, pero pueden actuar también como hospedadores intermediarios, esto sucede al ingerir membranas placentarias infectadas de *N. Caninum*, por lo tanto se debe emplear estrategias sanitarias para evitar que los perros ingieran membras fetales o terneros abortados (Dubey, 2003)

2.2.7 Métodos de diagnóstico.

El primer estudio para la identificación de *Neospora caninum* fue la inmunofluorescencia indirecta (Dubey et al., 1988), Entre los métodos mejor empleados para la detección de neosporosis es el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas ELISA, debido a su alta sensibilidad es un método muy utilizado (Sinnott, 2020). El Kit de ELISA cuenta con una sensibilidad optimizada, obteniendo una alta especificidad aplicable a múltiples especies incluyendo bovinos y perros.

Kit de ELISA ID Screen® *Neospora caninum* Competition, de la empresa IDvet, 310 rue Luis Pasteur 34790 Grabels, Francia.

Método: ELISA competitivo, Especies: Rumiantes, perros y otras especies susceptibles, Muestras: Suero o plasma, Antiígeno recubierto: extracto purificado de *Neospora caninum*, Conjugado: Anti-N. Caninum- HRP (concentrado 10X) (innovative diagnostics)

2.3 Neosporosis bovina.

2.3.1 Descripción y Características de la enfermedad.

El ganado bovino es el principal hospedador intermediario de *N. caninum*. Se considera que la neosporosis bovina es la principal causa de aborto en esta especie, generando importantes pérdidas al sector ganadero a nivel mundial (Trees et al., 1999; Dubey et al., 2017).

La Neosporosis bovina es una enfermedad de gran importancia mundial, la carga económica anual de la enfermedad se estima en \$1.1 millones de granjas de carne en Nueva Zelanda y US\$ 546.3 millones en el ganado lechero de EE.UU (Abdelbarkya et al., 2020).

2.3.2 Prevalencia

En nuestro país, se han realizado trabajos que han establecido una prevalencia variable, en uno de los últimos trabajos realizados en una muestra de 841 animales en 5 hatos lecheros representativos de la sierra sur del Ecuador se obtuvo una prevalencia del 23.4%, además se demostró una relación directa entre la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* y el aborto, así también se determinó la presencia de material genético del parásito y lesiones compatibles en fetos de matadero en la zona de influencia del estudio (Maldonado et al., 2020). En otros trabajos se ha obtenido resultados con prevalencias mucho más altas, 43.5% (Bernardi y Cueva, 2015), 44,39% (Pastaza, 2019), 67% (Yucaza, 2015), y 90% (Azanza et al., 2021).

A nivel regional la prevalencia es también variable según factores como la edad, raza, región geográfica y método de diagnóstico, por ejemplo, en Brasil se ha determinado una prevalencia de 53.5% en ganado lechero (Benetti et al., 2009) y 29.9% en ganado de carne (Ragozo et

al., 2003). En Argentina 34.1% en ganado lechero (Venturini et al., 1995) y 18.9% en ganado de carne (Moore et al., 2005). En Colombia 21.2% en ganado lechero (Garcia et al., 2014) y 64% en ganado lechero con historial de aborto (Pulido et al., 2016). Estos datos muestran la importante distribución de la enfermedad en el ganado bovino de la región.

2.3.3 Patogenia

En el ganado bovino la principal manifestación de la enfermedad es el aborto. El aborto se produce principalmente entre 5to y 6to mes de gestación. Ocurre de dos maneras ya sea por la recrudescencia de una infección congénita de la madre durante la gestación, o por una primo infección durante la gestación por el consumo de alimento o agua de bebida contaminada con ooquistes. En el primer caso se considera que los abortos son esporádicos y no se concentran en un periodo de tiempo determinado, aborto endémico. En el segundo caso suelen darse varios abortos en un periodo de tiempo alrededor de 60 días, a este tipo de aborto se lo considera enzoótico (tormenta de abortos) (Bartels et al., 2007).

Ya sea por la ingestión de ooquistes en una primo infección durante la gestación o por la recrudescencia de una infección crónica, el parásito alcanza los tejidos uterinos luego de una parasitemia en la madre. Luego alcanzaría la interface materno-fetal y llegaría al feto. El desenlace de la infección depende de varios factores como: el periodo de gestación donde ocurra, la respuesta inmunitaria materna y fetal, y la virulencia de la cepa del parásito (Davison, 1999).

El ternero nace inmunocompetente gracias al desarrollo del sistema inmunitario durante la gestación, este desarrollo es directamente proporcional a la edad fetal. El feto bovino es extremadamente vulnerable en el primer tercio de gestación porque aún no tiene desarrollados sus órganos linfoides (timo, bazo, ganglios linfáticos). Por tanto, la infección por *N. caninum* durante ese periodo es generalmente letal, si consideramos lo temprano de este periodo posiblemente la muerte fetal en este periodo pueda pasar desapercibida. En el segundo tercio de gestación, las respuestas inmunitarias fetales aún no son sólidas y posiblemente insuficientes para protegerlo, por tanto, en ese periodo es donde se producen la mayoría de abortos y momificación fetal (5-6 meses de gestación). En el tercer trimestre la inmunidad fetal puede montar respuestas protectoras y evitar el aborto, sin embargo, no son suficientes como para evitar la transmisión congénita (Buxton et al., 2002; Dubey et al., 2017).

La inmunidad materna también sufre cambios durante la gestación, generalmente es más fuerte y eficaz durante el primer trimestre de gestación, y luego declina su actividad en el segundo tercio, si consideramos también la falta de madurez inmunitaria del feto en ese mismo

periodo, se entiende porque es más probable que suceda el aborto en esa etapa gestacional (Buxton et al., 2002).

Específicamente la actividad inmunitaria se refleja en la expresión de citoquinas en la interface materno-fetal. La placenta de los rumiantes se comunica a través de al menos 100 puntos de unión llamados placentomas, lugares de comunicación interdigitante entre los tabiques carunculares del útero y las vellosidades cotiledonarias. Allí existe un delicado equilibrio entre citoquinas antiinflamatorias como la IL-10 el TGF- β , mayoritarias durante la gestación, y las inflamatorias como el TNF- α , IL-2, IL-12 y IFN- γ , que tienen expresión reducida durante la preñez. Estos niveles permiten mantener la gestación evitando el rechazo de los tejidos fetales. A su vez permiten la nutrición y desarrollo fetal, no obstante, esta modulación inmunitaria también brinda un ambiente propicio para la infección por *N. caninum*, de esta forma ser parte de la génesis del aborto o la infección congénita (Buxton et al., 2002; Dubey et al., 2006; Dubey et al., 2017).

Cuando *N. caninum* alcanza el torrente sanguíneo, parasitemia, infecta las células maternas, especialmente los tejidos uterinos, para más adelante diseminarse a la interface materno-fetal, allí se desencadenan procesos inflamatorios en el alanto corion de la región intercotiledonaria, el daño en los tejidos responde tanto a la acción del parásito como a la reacción inmunitaria, sin embargo, el grado de participación de estos dos factores aún no es claro. Por tanto, la infección fetal y el daño de sus tejidos es dependiente en primero lugar de la reacción inmune maternal durante la parasitemia, y en segundo lugar de los cambios inflamatorios que sufre la placenta (Buxton et al., 2002; Dubey et al., 2017).

N. caninum tiene tropismo por el SNC del feto. En el feto joven se puede ver una amplia diseminación del parásito en el neuropilo con muy escasa reacción inflamatoria (letal para el feto). El feto de mayor edad generalmente muestra una proliferación parasitaria más restringida, con inflamación severa reducida a focos con una actividad celular intensa, donde participan células gliales, astrocitos activados, células linfoides y monocitos, que pueden derivar en focos de necrosis, además puede observarse una ligera meningitis (en estas condiciones la infección del feto no siempre es letal). A más del SNC se pueden observar reacciones inflamatorias de tipo linfocítica en otros tejidos como: corazón, músculo esquelético, hígado y pulmón (Buxton et al., 2002).

2.3.4 Sintomatología

La enfermedad se manifiesta principalmente con aborto en el segundo tercio de gestación. Es muy rara la infección clínica en terneros recién nacidos, suele manifestarse con problemas neuromusculares que derivan en parésia, terneros débiles y prematuros. Sin embargo, en un

alto porcentaje los terneros nacen clínicamente sanos, pero congénitamente infectados (Dubey et al., 2017).

2.3.5 Tratamiento y control

Estudios demuestran que existe sensibilidad in vitro de *N caninum* a ciertos antimicrobianos, dentro de estas se encuentra la clindamicina, diclazuril, robenidina y pyrimethamina (Moore et al., 2005). En bovinos aún no ha sido estudiada su eficacia. Actualmente no existe método reconocido como control de la enfermedad, sin embargo, se han realizado prácticas de manejo reproductivo, donde, las novillas y vacas positivas son servidas con semen de otra raza, las crías resultantes no se mantienen en el hato, con esta práctica se ha logrado una disminución considerable en la prevalencia de la enfermedad (Lagomarsino et al., 2019). Por otro lado, medidas de bioseguridad como una destrucción efectiva de fetos abortados, placentas y cadáveres. Así se reduce el contacto de los hospedadores definitivos con tejidos infectados (Dubey et al., 2017). (Cajamarca y Reyes, 2012).

3. Materiales y métodos

3.1 Materiales

3.1.1 Materiales físicos

- Jeringuillas de 3ml 21Gx1 pulgada
- Tubos para colección de sangre
- Microcentrífuga
- Torniquetes
- Bozales para perros

3.1.2 Materiales biológicos

- Muestras de sangre
- Animales de estudio (perros)
- Kit de ELISA ID Screen® *Neospora caninum* Competition, de la empresa IDvet, 310 rue Luis Pasteur 34790 Grabels, Francia.

3.1.3 Materiales químicos

- Alcohol antiséptico

3.2 Métodos

3.2.1 Ubicación política-geográfica

El presente estudio se realizó en la provincia del Azuay que está ubicada a 2560 m.s.n.m, con una temperatura de 12° C a 25° C y una humedad relativa del 78%. La provincia del Cañar ubicada a 3161 m.s.n.m, con una temperatura de 11.8°C, humedad relativa 63%. La provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas ubicada a 133km de la capital del país con una altitud de 655 m.s.n.m y con temperatura media de 22.9°C y una humedad relativa del 85% y la provincia de Manabí con una altitud de 321 m.s.n.m. (INEC, 2016)

Figura 1. Ubicación del Área de Estudio (Azuay, Cañar, Manabí Santo Domingo)



Fuente. Directorio cartográfico de Google Maps 2019.

3.2.2 Diseño del trabajo

El presente trabajo es de corte transversal, bajo un modelo de muestreo no probabilístico a conveniencia de tipo exploratorio. Se evaluó 124 muestras de suero sanguíneo de perros que viven en ganaderías de leche y carne ubicadas en las provincias de Azuay, Cañar, Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas. Este número muestral corresponde al valor estimado por el programa EpiInfo™ versión 7.2.2.6, 2018. Usando la herramienta StatCalc para estudios de población.

3.2.3 Tamaño de la muestra

Para el estudio se evaluaron 124 muestras, las muestras que se distribuyeron en dos clústeres de 62 animales en la zona de la costa y 62 animales en la sierra. En la zona costanera se tomaron muestras de perros que viven en granjas de bovinos de carne y leche, mientras que en la sierra se tomaron de perros que viven en granjas de producción lechera.

3.2.4 Actividades

Levantamiento de datos: (Ver Anexo A)

- a. **Procedencia de las muestras** (Se identificó en los viales y en las hojas de registro de campo si la muestra proviene de la costa o la sierra). Además, se tomó la georreferenciación. (Latitud y longitud)
- b. **Tipo de ganadería** (Se identificó en los viales y en las hojas de registro de campo si la muestra proviene de una granja de producción de carne o leche)
- c. **Número de animales en la granja** (bovinos) determinando el tamaño del hato en pequeños <100 animales y grandes >100 animales.
- d. **El sexo de los perros** (hembras o machos) registro al momento del muestreo.
- e. **La edad de los perros** se estableció cachorros (menores de un año) y adultos (un año o más).

3.2.5 Toma de muestra

Para la recolección de muestras en algunos casos se utilizó bozal, como también la ayuda de los propietarios para poder sujetarlos con el propósito de no correr riesgos en caso de agresividad de los animales (Anexo B y C).

Las muestras de sangre entera se tomaron de las venas cefálica, con jeringuillas hipodérmicas de 3 ml, provistas de agujas 21Gx1 pulgada. Previo una desinfección con alcohol antiséptico. Se tomó 1 cc de sangre colocado en 1 tubo sin anticoagulante de 1 ml (MiniCollect®). Los tubos identificados se dejaron en reposo en refrigeración durante 12 horas. Luego de la retracción del coágulo se separó el suero colocándolo en un tubo de microcentrifuga de 0,5 ml y fue conservado a -20°C hasta el análisis de laboratorio (Anexo D).

3.2.6 Georreferencia

Para la Georreferencia utilizamos la aplicación Locus Map con estos puntos de referencia localizamos las diferentes granjas de donde proceden las muestras y así ubicar los casos positivos y negativos de este estudio (Anexo E y F).

3.2.7 Análisis de laboratorio

Las muestras se analizaron mediante ensayo inmuno-enzimático de ELISA competitivo, donde se determinó la presencia de anticuerpos específicos contra *N. caninum*. Se utilizó un kit de diagnóstico comercial, ID Screen® *Neospora caninum* Competition, de la empresa IDvet, 310 rue Luis Pasteur 34790 Grabels, Francia. El punto de corte para la prueba se basó en el cálculo del porcentaje de competición (S/N%), que se calcula usando la siguiente fórmula: $S/N\% = [\text{densidad óptica (DO) de la muestra} / \text{DO del control negativo}] \times 100$. Los valores de S/N% iguales o menores a 50% se consideran positivos.

3.2.8 Análisis estadístico

Se realizaron cuadros de frecuencias considerando las variables, procedencia de las muestras, tamaño y tipo de granja ganadera, edad y sexo de los perros, para determinar la frecuencia de anticuerpos.

Se usó un análisis bivalente por medio del estadístico Chi cuadrado para establecer el impacto de las variables sobre la frecuencia de anticuerpos contra *N. caninum* en suero sanguíneo de perros. Se midió la fuerza de asociación entre las variables, intervalos de confianza y significación estadística.

3.2.9 Área de estudio

Las muestras de sangre fueron tomadas de perros hembras, machos, cachorros y adultos que viven con bovinos de la costa y sierra del Ecuador, en las provincias de Manabí, Santo Domingo de Los Tsáchilas y Azuay y Cañar respectivamente,

4. Resultados

Los resultados se expresan mediante medidas de frecuencia absoluta y porcentual, para la asociación entre variables se utilizó el estadístico chi cuadrado. El procesamiento de información se lo realizó en el programa estadístico SPSS V27 con una significancia estadística del 5% ($p < 0.05$).

En este estudio se integraron 124 canes que habitan con ganado, fueron en total 62 de la región sierra y 62 pertenecientes a la región costa. En el primer gráfico (figura 2) se puede establecer la distribución de la muestra en que la mayoría de ellos fueron machos adultos y vivían en un hato pequeño, un 79.8% provienen de haciendas lecheras.

Tabla 1. Características Generales de los Perros

Características generales			
Características		n	%
Sexo	Macho	85	68,5
	Hembra	39	31,5
Edad	Cachorro	26	21,0
	Adulto	98	79,0
Región	Sierra	62	50,0
	Costa	62	50,0
Tamaño del hato	Pequeño	81	65,3
	Grande	43	34,7
Tipo de explotación	Leche	99	79,8
	Carne	25	20,2

Al evaluar la presencia de los anticuerpos específicos contra *N. caninum*, se encontraron resultados positivos en el 18.5% de las muestras sanguíneas de perros.

Tabla 2. Frecuencia de Anticuerpos *N. caninum*

Frecuencia de anticuerpos		
	Frecuencia	Porcentaje
Negativo	101	81,5
Positivo	23	18,5
Total	124	100,0

Figura 2. Anticuerpos Según Región

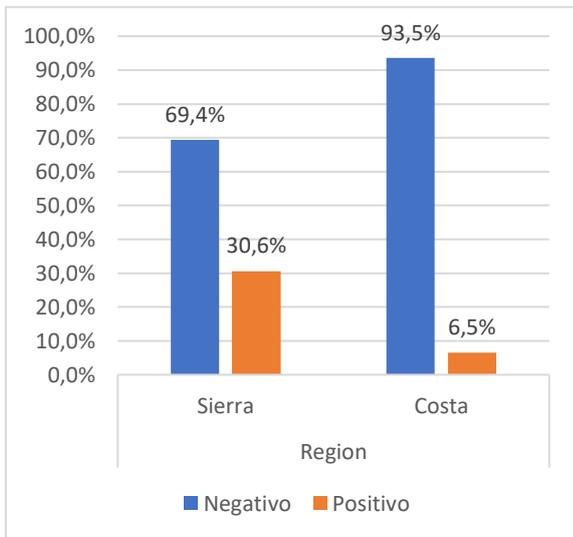
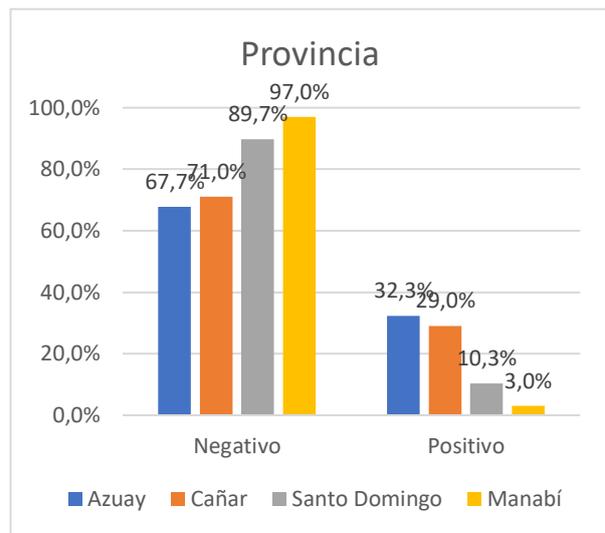


Figura 3. Anticuerpos Según Provincia



El 30.6% de perros de la región sierra presentaron positividad a los anticuerpos, frente al 6.5% de la región costa, en referencia a la provincia de procedencia de las muestras, los perros del Azuay presentaron mayor positividad con una frecuencia del 32.3%, mientras que Manabí fue la provincia con menor frecuencia (3%) por otra parte se identificó que la prevalencia de anticuerpos específicos contra *N. caninum* fue del 19.8% en perros de hatos pequeños, así como el 16.3% de perros de hatos grandes. Además, el 22.2% de perros pertenecientes a las ganaderías de explotación de leche presentaron anticuerpos. Detalles en las figuras 2, 3, 4 y 5.

Figura 4. Anticuerpos Según Tamaño del Hato

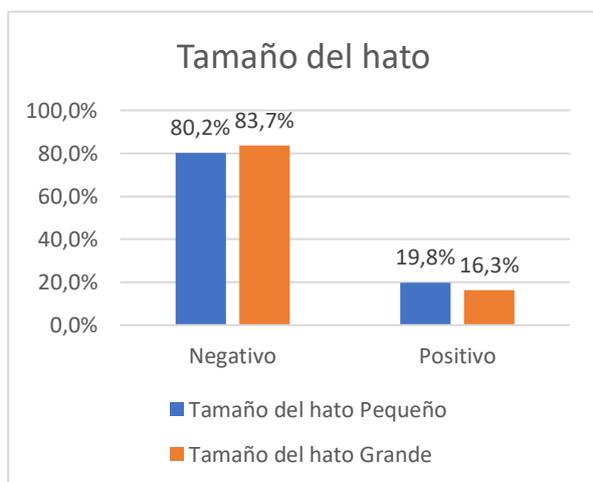


Figura 5. Anticuerpos Según Tipo de hato Ganadero

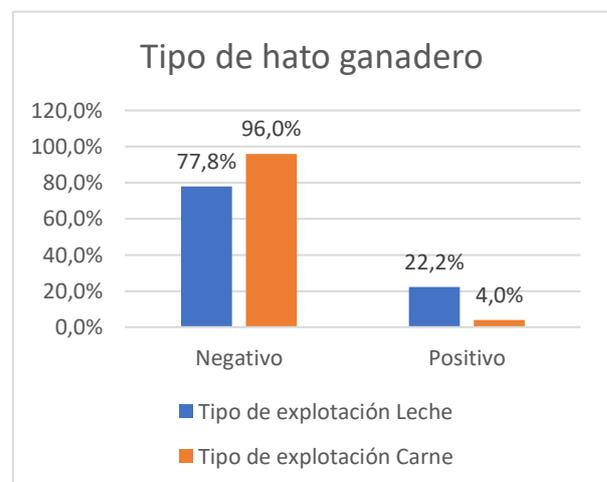


Figura 6. Anticuerpos Según el Sexo

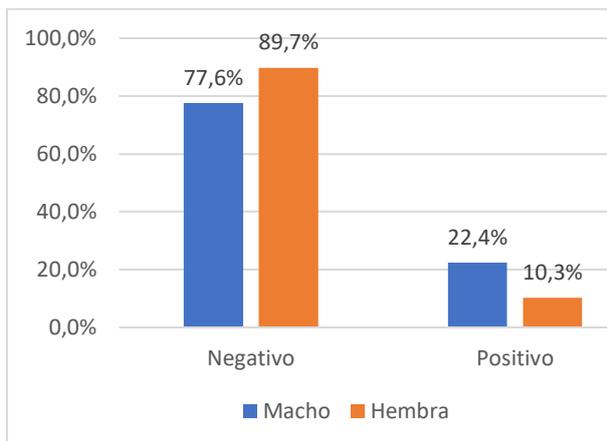
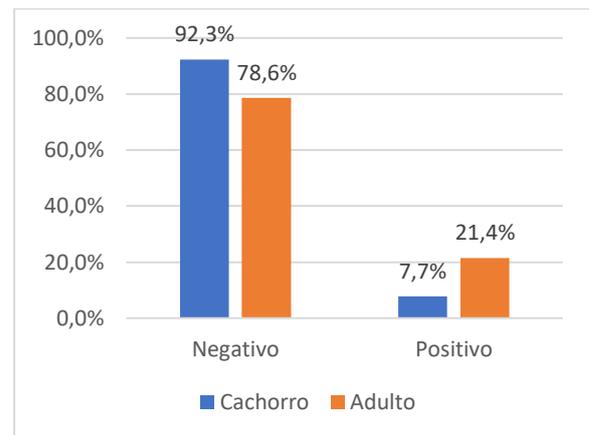


Figura 7. Anticuerpos Según la Edad



La región, provincia y el tipo de explotación ganadera representan factores asociados a la presencia de anticuerpos específicos contra *N. caninum*; en la región sierra se encontró una frecuencia superior ($P: <0.05$) así como la provincia del Azuay ($P: <0.05$) y los perros de explotaciones lecheras ($p: <0.05$). El tamaño del hato ganadero no se relacionó con la presencia de anticuerpos específicos contra *N.caninum*. Detalles en la tabla 3.

Tabla 3. Anticuerpos Específicos Contra *N. Caninum* Con Respecto A La Región Geográfica, Tamaño Y Tipo Del Hato Ganadero

Características		Negativo		Positivo		X ²	(p)
		n	%	n	%		
Región	Sierra	43	69,4	19	30,6	12,010	(0,001*)
	Costa	58	93,5	4	6,5		
Provincia	Azuay	21	67.7	10	32.3	12,664	(0.005*)
	Cañar	22	71.0	9	29.0		
	Santo Domingo	26	89.7	3	10.3		
	Manabí	32	97.0	1	3.0		
Tamaño del hato	Pequeño	65	80,2	16	19,8	0,224	(0,636)
	Grande	36	83,7	7	16,3		
Tipo de explotación	Leche	77	77,8	22	22,2	4,387	(0,036*)
	Carne	24	96,0	1	4,0		

Nota: *Relación significativa ($p < 0.05$)

La frecuencia de anticuerpos específicos contra *N. caninum* en los machos fue de 22.4% y en las hembras 10.3%, mientras que en los cachorros fue del 7.7% y en los perros adultos del 21.4% Ver figuras 6 y 7.

Por otra parte, no se encontró una asociación entre el sexo de los perros y su edad con el resultado positivo de anticuerpos específicos contra *N. caninum*, en total la frecuencia encontrada fue del 22.4% machos, 10.3% en hembras, 7.7% en cachorros y 21.4% en adultos, a pesar de que la proporción de adultos con anticuerpos específicos contra *N. caninum* fue superior. Ver tabla 4

Tabla 4. Anticuerpos Específicos Contra *N. caninum*, Edad y Sexo

		Negativo		Positivo		X ²	(p)
		n	%	n	%		
Sexo	Macho	66	77,6	19	22,4	2,589	(0,108)
	Hembra	35	89,7	4	10,3		
Edad	Cachorro	24	92,3	2	7,7	2,566	(0,109)
	Adulto	77	78,6	21	21,4		

Nota: *Relación significativa ($p < 0.05$)

Figura 8. Georreferenciación de las Muestras



Mapa del Ecuador, georreferencia de los lugares de toma de muestras en las provincias Azuay, Cañar, Santo Domingo y Manabí respectivamente (Anexo E y F).

Fuente: Centro de asistencia en línea por el programa Google Earth pro.

5. Discusión

En el estudio se determinó una frecuencia del 18.5% de casos positivos, resultado diferente a la investigación realizada por Yucasa, en el 2015, donde se obtuvo una prevalencia del 60% mediante IFI en 40 perros de granjas lecheras, Esta diferencia podría deberse o estar asociada a la alta frecuencia de los hatos bovinos estudiados, donde hay una mayor probabilidad de infección para los perros. En el presente estudio consideramos como factor de riesgo el tipo de hato ganadero (lechero) para la infección de perros, no obtuvimos la frecuencia en bovinos, sin embargo, considerando que la frecuencia en ganado bovino es variable, y así mismo sería variable la frecuencia de perros infectados (Dubey et al., 2017). Por otro lado varios trabajos han determinado una mayor sensibilidad diagnóstica para el ensayo de ELISA en relación a la IFI para la determinación de anticuerpos de *N. caninum*, esto es llamativo ya que en nuestro trabajo usamos un test de ELISA y obtuvimos una frecuencia menor (Ghalimi et al.,2014). Así mismo esa gran diferencia en la frecuencia se puede deber al tamaño, heterogeneidad, distribución geográfica de la muestra (Dubey et al., 2017). Los estudios que mencionamos a continuación muestran una frecuencia variable, y en algunos casos, cercana a lo que se obtuvo en este trabajo (18.5%) por lo que frecuencias mayores serian excepcionales y bajo condiciones de alta frecuencia en los bovinos o a brotes enzoóticos de aborto (Dubey et al., 2017).

En un estudio realizado en Chile estudiaron 201 perros para determinar la presencia de anticuerpos séricos se presentó la cantidad de positivos entre la población canina rural 26% (21/81) (Patitucci et al. 2001) Vega en una investigación realizada en la sierra sur del Perú indica una prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* del 14.75%, estudio realizado con 122 perros pastores de estas granjas ganaderas, mediante pruebas de ELISA, obteniendo 18 casos positivos (Vega et al, 2010), investigaciones muy parecidas a la presente con una frecuencia del 18.5% con 23 casos positivos en un total de 124 muestras. En Brasil, se encontró una prevalencia del 9.7% en perros de áreas rurales mediante la técnica de ELISA (López et al., 2017). En Argentina, se reportó una seroprevalencia del 21.3% en perros de áreas rurales mediante la técnica de IFI (Canavate et al., 2014).

En el país se han realizado trabajos para identificar material genético del parásito en sangre y heces de perros, con una prevalencia de 5 y 0% respectivamente (Barbecho, 2018; Abril y Sigüenza, 2019). Sin embargo, debido a las características de la infección en esta especie, donde la parasitemia es momentánea y no tiene un periodo definido, y considerando que la eliminación de ooquistes en heces es un hallazgo poco reportado, estos trabajos podrían no reflejar la real presencia de la enfermedad en el país. Hay que destacar que las pruebas de

PCR son muy sensibles, pero, por lo antes comentado, no serían indicadas para reflejar la real circulación del parásito en la población de perros.

En cuanto a las diferencias en la frecuencia con relación al tipo de explotación, hubo más perros positivos en las granjas lecheras, posiblemente debido a que en las granjas lecheras los animales portadores del parásito están sometidos a ciclos productivos más largos que en los hatos de carne, para tener como resultado un mayor número de lactancias y por ende podrían tener más eventos de aborto y falla reproductiva o de partos normales con tejidos contaminados (Bergeron et al., 2001, Dubey et al., 2017) También se pudo observar que no hubo diferencia en la frecuencia con relación a la edad, sexo de los perros, ni al tamaño del hato. Algunos estudios reportan mayores prevalencias conforme avanza la edad de los perros, sugiriendo que la mayor ruta de transmisión es esta especie es la posnatal, sin embargo, se ha visto que no todos los perros que se infectan por el consumo de tejidos contaminados seroconvierten, por lo que aún no está tan claro el papel del perro como diseminador de la enfermedad a partir del consumo de quistes tisulares. En su estudio Dubey y colaboradores en el 2017 reportaron una mayor prevalencia en hembras, esto posiblemente debido a la recrudescencia de infecciones en perras preñadas, sin embargo, esto no ha sido probado (Dubey et al., 2017).

El tamaño del hato no influyó en la frecuencia de la enfermedad, pero si hubo una diferencia considerable en la región geográfica, que a su vez está relacionada con el tipo de explotación, ya que la ganadería lechera está más extendida en la sierra del Ecuador, Es posible que esta mayor prevalencia en la sierra esté relacionada con factores climáticos como la temperatura y humedad que pueden influir en la sobrevivencia de ooquistes en el ambiente y la viabilidad del parásito en los quistes tisulares (Dubey et al., 2017).

Nuestros resultados indican que hay una importante circulación del parásito en perros que habitan en predios ganaderos, especialmente en la sierra ecuatoriana. Estos datos son un aporte para visibilizar el impacto que podría tener el perro doméstico en la diseminación de la enfermedad en las ganaderías de nuestro país.

Conclusiones

- En el Ecuador hay una importante circulación de *N. caninum* en perros, esta investigación confirma una mayor presencia del parásito en granjas de la sierra que de la costa ecuatoriana.
- Existe mayor cantidad de casos positivos para anticuerpos anti-*N. caninum* en perros que viven en ganaderías lecheras que en las de carne e independientemente de la edad, el sexo y el tamaño del establecimiento.
- Debido a esta circulación del parásito en el hospedador definitivo (ganado bovino), es importante mejorar las prácticas ganaderas en la disposición de cadáveres, fetos abortados y placentas.

Recomendaciones

- Es importante tener un control en las granjas y capacitación para los ganaderos, donde se pueda fortalecer las normas y medidas de bioseguridad para evitar que los perros consuman tejidos contaminados con parásitos de esta manera reducir el riesgo de transmisión horizontal, fortaleciendo la eliminación de desechos contagiosos.
- Se recomienda establecer programas de control a través del diagnóstico de la enfermedad en ganado bovino y perros, pudiendo evitar reproducirse animales afectados clínicamente para reducir la transmisión congénita.
- En las granjas ganaderas hay alta presencia de perros, se debe mantener controlada la población canina por medio de infraestructura adecuada, protocolos sanitarios que reduzcan el número de perros en las granjas y los alrededores de los establecimientos.
- Tomando en cuenta las frecuencias del estudio, se podrían realizar futuras investigaciones en la sierra donde hubo una alta frecuencia de anticuerpos anti-*N. caninum* para fortalecer con mayor información sobre el sector ganadero lechero de la sierra ecuatoriana.
- Al momento de realizar la recolección de muestras se debe emplear correctamente métodos de sujeción que faciliten y garanticen tanto el bienestar animal, como la seguridad e integridad de los investigadores y propietarios

Referencias

- Abdelbakya H., Shimoda N., Hiasa J., Fereig R., Tokimitsu H., Inokuma H., Nishikawa Y. (2020). Evaluación de antígenos de serodiagnóstico de *Neospora caninum* para la neosporosis bovina. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.102045>
- Abril, V., Sigüenza, G., (2019). Evaluación de la aplicación de dos ensayos moleculares (PCR y LAMP) para la identificación de material genético de *Neospora caninum* en sangre de *Canis lupus familiaris* (perro). Bachelor's thesis. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/31739>
- Alvarez, I., Ayelen, G., Sergio, G., (2018). Diagnóstico de neosporosis en un canino adulto. <https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/1770/ISMAEL%20ALVAREZ%2C%20AYELEN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Andrade G, Bruhn F., Rocha M., Guimarães A., Gouveia A., Guimarães A., (2013). Seroprevalencia para *Neospora caninum* en cabras del estado de Minas Gerais. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528812003311?via%3Dihub>.
- Antony, A., Williamson, N. (2003). Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs of rural or urban origin in central New Zealand. *New Zealand veterinary journal*, 51, 232–237. <https://doi.org/10.1080/00480169.2003.36372>
- Asanza, F., Cunalata, M., (2021). Determinación de la Incidencia de *Neospora caninum* en Bovinos en el Trópico Húmedo (provincia Sucumbíos- Shushufindi). Santo Domingo: Espe. <http://repositorio.espe.edu.ec/biteam/21000/25977/1/T-ESPESD-003142.pdf>
- Bacigalupe, D., Basso, W., Caspe, S. G., Moré, G., Lischinsky, L., Gos, M. L., Leunda, M., Campero, L., Moore, D. P., Schares, G., Campero, C. M., & Venturini, M. C. (2013). *Neospora caninum* NC-6 Argentina induces fetopathy in both serologically positive and negative experimentally inoculated pregnant dams. *Parasitology research*, 112, 2585–2592. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3424-1>
- Bandini, L., Neto, A., Pena, H., Cavalcante, G., Schares, G., Nishi, S., Gennari, S. M. (2011). Experimental infection of dogs (*Canis familiaris*) with sporulated oocysts of *Neospora caninum*. *Veterinary parasitology*, 176, 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.047>
- Barbecho, Q. (2018). Diagnóstico molecular de la infección gastrointestinal de *Neospora caninum* en caninos. Master's thesis. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/29495>

- Barber, J., & Trees, A. (1998). Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *International journal for parasitology*, 28, 57–64. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(97\)00171-9](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(97)00171-9)
- Barber, J. S., Payne-Johnson, C. E., & Trees, A. J. (1996). Distribution of *Neospora caninum* within the central nervous system and other tissues of six dogs with clinical neosporosis. *The Journal of Small Animal Practice*, 37, 568-574. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1996.tb02332.x>
- Gennari, S., (2009). Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2009, v. 18, pp. 29-33. <https://doi.org/10.4322/rbpv.018e1005>
- Bernardi, C., Cueva, M. (2015). Prevalencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en hatos de bovinos lecheros en tres parroquias del cantón Cuenca, Ecuador. *Maskana*, 6, 213-214. <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/681/596>
- Barr, B. C., Anderson, M. L., Dubey, J. P., & Conrad, P. A. (1991). Neospora-like protozoal infections associated with bovine abortions. *Veterinary pathology*, 28, 110–116. <https://doi.org/10.1177/030098589102800202>
- Bartels, C. J., Huinink, I., Beiboer, M. L., van Schaik, G., Wouda, W., Dijkstra, T., & Stegeman, A. (2007). Quantification of vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* infection in Dutch dairy herds. *Veterinary parasitology*, 148(2), 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.004>
- Bergeron, N., Girard, C., Paré, J., Fecteau, G., Robinson, J., & Baillargeon, P. (2001). Rare detection of *Neospora caninum* in placentas from seropositive dams giving birth to full-term calves. *Journal of veterinary diagnostic investigation. American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 13, 173–175. <https://doi.org/10.1177/104063870101300216>
- Bjerkås, I., Mohn, S., Presthus, J. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasiten kd.* 70, 271–274.
- Buxton D., Garry J. Mc., Otter A., Helmick B. (2002). *Veterinary Science*. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. 187-189. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0020751902000942>

- Cajamarca & Reyes. (2012). Determinación de la incidencia de Sarcocistosis. Latacunga: Universidad técnica del Cotopaxi. Obtenido de <http://181.112.224.103/bitstream/27000/818/1/T-UTC-1177.pdf>
- Canavate, C., García-Bocanegra, I., Jiménez-Ruiz, S., Pérez-Arévalo, J., & Dubey, J. (2014). Seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs from rural and periurban areas of the province of Córdoba, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 199((1-2)), 56-59. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.09.004>
- Cardoso J., Amaku M, Araújo A, Gennari S. (2012). A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on three dairy farms in Brazil. 10.1016/j.vetpar.2012.01.019
- Carolina S, Aguirre S. Evaluación del efecto del uso de la vacuna (Bovilis®Neoguard) en la reducción de la tasa de abortos en cuatro Haciendas de la Sierra Ecuatoriana. [Tesis]. Universidad San Francisco Quito; 2008.
- Changoluisa, D., Rivera-Olivero, I. A., Echeverria, G., Garcia-Bereguiain, M. A., de Waard, J. H., & working group "Applied Microbiology" of the School of Biological Sciences and Engineering at Yachay Tech University (2019). Serology for Neosporosis, Q fever and Brucellosis to assess the cause of abortion in two dairy cattle herds in Ecuador. *BMC veterinary research*, 15, 194. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1924-7>
- Cornejo P., Nathann, Chávez V., Amanda, Casas A., Eva, & Arana D., Carlos. (2004). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 15(1), 70-75. Recuperado en 29 de marzo de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172004000100010&lng=es&tlng=es.
- Cuenca JG. (2014). Determinación de la prevalencia de Neosporosis bovina e identificación de la presencia de caninos como factor de riesgo en las ganaderías del Cantón Loja. Loja: Universidad Nacional de Loja. [jspui/handle/123456789/11902](http://jspui.handle/123456789/11902)
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Capuano, F., Baldi, L., Veneziano, V., & Capelli, G. (2002). Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. *Veterinary parasitology*, 106, 307–313. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(02\)00114-0](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(02)00114-0)
- Da Cunha, F., A., Da S, L., Gerales, P., Ragozo, A., Gennari, S., Junior, T., Farias, N., (2008). Factores de risco e prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães urbanos e rurais do Rio Grande do sul, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17,301-306. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=397841469060>

- Davison, H. C., Otter, A., Trees, A. J. (1999). Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *International journal for parasitology*, 29, 1683–1689. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(99\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(99)00129-0)
- De Jesus, E. E. V., Santos, A. B. D., Ribeiro, C. S. O., Pinheiro, A. M., Freire, S. M., El-Bachá, R. S., Costa, S. L., & de Fatima Dias Costa, M. (2014). Role of IFN- γ and LPS on neuron/gliial co-cultures infected by *Neospora caninum*. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8, 340. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00340>
- Del Campo S, Jorge, Chávez V, Amanda, Delgado C, Alfredo, Falcón P, Néstor, Ornelas A, Ángela, Casas A., Eva, & Serrano M, Enrique. (2003). Frecuencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros del valle de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 14(2), 145-149. Recuperado en 29 de marzo de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200008&lng=es&tlng=es.
- Dijkstra T., Eysker M., Schares G., Conraths F. J., Wouda W., Barkema H. W., (2001) Dog shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion od naturally infected bovina placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites, [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00230-2](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00230-2).
- Dubey, J. P. (2003). Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*, 41(1), 1. <https://doi.org/10.3347/kjp.2003.41.1.1>
- Dubey, J. P. (2003). Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*, 41(1), 1-16. <https://doi.org/10.3347/kjp.2003.41.1.1>
- Dubey, J. P., Koestner, A., & Piper, R. C. (1990). Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 197(7), 857–860.
- Dubey, J. P., Hattel, A. L., Lindsay, D. S., & Topper, M. J. (1988). Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 193(10), 1259-1263.
- Dubey, J. P., Hemphill, A., Calero-Bernal, R., & Schares, G. (2017). *Neosporosis in Animals*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315152561>
- Dubey, J., & Lappin, M. (2008). *Enfermedades infecciosas del perro y gato - toxoplasmosis y neosporosis*. Buenos Aires: Inter Medica.

- Dubey, J. P., & Lindsay, D. S. (1996). A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, 67(1), 1-59. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(96\)01035-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(96)01035-7)
- Dubey, J. P., Metzger, F. L., Jr, Hattel, A. L., Lindsay, D. S., & Fritz, D. L. (1995). Canine Cutaneous Neosporosis: Clinical Improvement with Clindamycin. *Veterinary dermatology*, 6(1), 37–43. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.1995.tb00039.x>
- Escalona, J., Corro, A., Suarez, C., Castillo, T., & Pineda, Y. (2013). Seropositividad a *Neospora caninum* en Perros de Áreas Rurales y Urbanas. 54(1), 29-34.
- Ghalmi, F., China, B., Jenkins, M., Azzag, N., & Losson, B. (2014). Comparison of different serological methods to detect antibodies specific to *Neospora caninum* in bovine and canine sera. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 26(1), 136–140. <https://doi.org/10.1177/1040638713515480>
- García, J. F., Moreno-Figueroa, G., Cruz-Carrillo, A. C. 2014. Prevalencia de *Neospora caninum* y DVB en una finca con problemas reproductivos en Sopó (Cundinamarca). *Ciencia Agric.* 11, 9–16
- Goodswen, S. J., Kennedy, P. J., & Ellis, J. T. (2013). A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 13, 133-150. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.08.012>
- Greig, B., Rossow, K. D., Collins, J. E., & Dubey, J. P. (1995). *Neospora caninum* pneumonia in an adult dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 206(7), 1000–1001.
- Hernandez, J., Risco C., Donovan A. (2001). Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairys cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association JAVMA*, 219, 632-635. ³<https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/219/5/javma.2001.219.632>.
- Hobson J. C., Duffield T. F., Kelton D., Lissemore K., Hietala S. K., Leslie K. E., McEwen B., Cramer G., Peregrine A. S., (2002). *Neospora caninum* serostatus and milk production of Holstein cattle, 219:632-635. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.221.1160>
- Holmberg, T. A., Vernau, W., Melli, A. C., & Conrad, P. A. (2006). *Neospora caninum* associated with septic peritonitis in an adult dog. *Veterinary clinical pathology*, 35(2), 235–238. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2006.tb00121.x>

- Horna M, Segundo, Chavez V, Amanda, Rivera G, Hermelinda, Casas A, Eva, & Serrano M., Enrique. (2003). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en caninos en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 14(2), 150-154. Recuperado en 29 de marzo de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000200009&lng=es&tlng=es.
- King, J. S., Slapeta, J., Jenkins, D. J., Al-Qassab, S. E., Ellis, J. T., & Windsor, P. A. (2010). Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International journal for parasitology*, 40(8), 945–950. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.01.008>
- Kubota, N., Sakata, Y., Miyazaki, N., Itamoto, K., Bannai, H., Nishikawa, Y., Xuan, X., & Inokuma, H. (2008). Serological survey of *Neospora caninum* infection among dogs in Japan through species-specific ELISA. *The Journal of veterinary medical science*, 70(8), 869–872. <https://doi.org/10.1292/jvms.70.869>
- Lopes, C., Patrício, C., Rubini, A., Lima, J., & Oliveira, C. (2017). Seroprevalence and risk factors for *Neospora caninum* in dogs from rural areas of São Paulo state, Brazil. . *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 26(2), 221-226. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S1984-29612017016>
- López, P. (2019). Neosporosis canina: La enfermedad y sus factores de riesgo. 35.
- Maldonado Rivera, J. E., Vallecillo, A. J., Pérez, C. L., Cirone, K. M., Dorsch, M. A., Morrell, E. L., Scioli, V., Hecker, Y. P., Fiorani, F., Cantón, G. J., & Moore, D. P. (2020). Bovine neosporosis in dairy cattle from the southern highlands of Ecuador. *Veterinary parasitology, regional studies and reports*, 20, 100377. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100377>
- Ministerio de Relaciones Exteriores y Movilidad Humana (MREMH) (1999). <https://ecuadorec.com/mapa-ecuador-fisico-politico-turistico/>
- Ministerio de Salud Pública (MSP). (2003). Lineamientos para la Campaña Masiva de Vacunación Antirrábica Canina y Felina. Quito. <https://www.salud.gob.ec/la-campana-masiva-de-vacunacion-antirrabica-canina-y-felina-arranca-en-el-pais/>
- Moore, D.P.; Odeón, A.C.; Venturini, M.C.; Campero, C.M. (2005). Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. Buenos Aires: *Revista Argentina de Microbiología*, vol. 37, núm. 4, 2005, pp. 217-228. <https://www.redalyc.org/pdf/2130/213016800011.pdf>

- Morales, E. (2014). Neosporosis bovina. Sitio argentino de producción animal: https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/181-Neosporosis_bovina.pdf
- Oña WE. (2015). Determinación de *Neospora caninum* en el Cantón Cayambe: Relación canino-bovino. Quito: Universidad Central del Ecuador. 25000/6784/1/T-UCE-0014-037.pdf
- Pastaz Quendi, E. Y. (2019). Prevalencia y factores de riesgo asociados a *Neospora caninum* en bovinos de las fincas ganaderas del Cantón Tulcán – Provincia del Carchi. Tulcan: Universidad Politenica Estatal de Carchi. <http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/838/1/369%20Prevalencia%20y%20factores%20de%20riesgo%20asociados%20a%20neospora%20caninum%20en%20bovinos.pdf>
- Patitucci, A.N., Pérez, M.J., Rozas, M.A., & Israel, K.F.. (2001). Neosporosis canina: Presencia de anticuerpos séricos en poblaciones caninas rurales y urbanas de Chile. Archivos de medicina veterinaria, 33(2), 227-232. <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2001000200011>
- Piaggio, D. J., Delucchi, D. L., Bañales, D. P., & Easton, D. C. (2007). Actualización en Neosporosis. 82.
- Pulido, M. O., García-Corredor, D. J., Vargas-Abella, J. C. 2016. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en un hato lechero de Boyacá, Colombia. Rev. Inv. Vet. Perú. 27, 355–362.
- Ragozo A. M., Paula A. V., Souza S. P., Bergamaschi D. L., Gennari S. M. (2003). Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 12, n. 1, p. 33-37.
- Oña, W., (2015). Determinación de *Neospora caninum* en el cantón Cayambe: relación canina – bovino. Universidad Central del Ecuador. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6784/1/T-UCE-0014-037.pdf>
- Ravelo, Liliana. (2009). Estudio clínico, serológico y coprológico preliminar de *Neospora caninum* en caninos de la clínica veterinaria Dover Bogotá Colombia. 108.
- Silva, R., & Machado, G. (2016). Canine neosporosis: Perspectives on pathogenesis and management. Veterinary Medicine: Research and Reports, 59. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S76969>

- Sinnott F., Leal K., Silva M., Pinho R., Pappen F., Farias N., Llano H., Melo D., Borsuk S. (2020). An indirect ELISA for Neosporosis: Associating recombinant *Neospora caninum* proteins NcSRS2 and NcSAG1. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109101>
- Trees AJ, Davison HC, Innes EA, Wastling JM. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. *International Journal for Parasitology*. 1999 Aug;29(8):1195-1200. DOI: 10.1016/s0020-7519(99)00093-4. PMID: 10576571.
- Vega O., Luis, Chávez V., Amanda, Falcón P., Néstor, Casas A., Eva, & Puray Ch., Nidia. (2010). Prevalencia de *Neospora caninum* en perros pastores de una empresa ganadera de la sierra sur del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 21(1), 80-86. Recuperado en 29 de marzo de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172010000100012&lng=es&tlng=es.
- Venturini L, Di Lorenzo C, Venturini C, Romero J (1995) Anticuerpos anti-*Neospora* sp. en vacas que abortaron. *Vet. Arg.* 12: 167-170.
- Yucaza, M. (2015). Determinación de *Neospora caninum* en el Cantón Mejía: relación canino – bovino. Quito: Quito: UCE.

Anexos

NOMBRE DEL PROPIETARIO: <u>CATERINA COLLETO</u>			
CEDULA: <u>172 35 72 655</u>			
GRANJA: <u>LA FINCA</u>			
TELEFONO: <u>099 644 85 75</u>			
SECTOR: <u>LA CHONE</u>			
REGION			
COSTA <input checked="" type="checkbox"/>	SIERRA <input type="checkbox"/>		
SANTO DOMINGO <input type="checkbox"/>	AZUAY <input type="checkbox"/>		
MANABI <input checked="" type="checkbox"/>	CAÑAR <input type="checkbox"/>		
UBICACIÓN X: <u>00° 20' 34"</u>			
Y: <u>090° 02' 32"</u>			
TAMAÑO LOCACION			
PEQUEÑA <input type="checkbox"/>	GRANDE <input checked="" type="checkbox"/>		
OBSERVACIONES: <u>FINCA DE QUESOS</u>			
TIPO EXPLORACION			
CARNE <input type="checkbox"/>	LECHE <input checked="" type="checkbox"/>		
MUESTRAS			
Nº	M/E	SEXO	OBSERVACIONES
	<input checked="" type="checkbox"/>	HEMBRA	
	<input type="checkbox"/>	ADULTO	<u>ED</u>
Nº			
	<input type="checkbox"/>	HEMBRA	
	<input type="checkbox"/>	ADULTO	
Nº			
	<input type="checkbox"/>	HEMBRA	
	<input type="checkbox"/>	ADULTO	
Nº			
	<input type="checkbox"/>	HEMBRA	
	<input type="checkbox"/>	ADULTO	
Nº			
	<input type="checkbox"/>	HEMBRA	
	<input type="checkbox"/>	ADULTO	

NOMBRE DEL PROPIETARIO: _____			
CEDULA: _____			
GRANJA: <u>Santa Lucrécia</u>			
TELEFONO: _____			
SECTOR: <u>TARGUJ</u>			
REGION			
COSTA <input type="checkbox"/>	SIERRA <input checked="" type="checkbox"/>		
SANTO DOMINGO <input type="checkbox"/>	AZUAY <input checked="" type="checkbox"/>		
MANABI <input type="checkbox"/>	CAÑAR <input type="checkbox"/>		
UBICACIÓN X: <u>05° 01' 72"</u>			
Y: <u>079° 02' 46"</u>			
TAMAÑO LOCACION			
PEQUEÑA <input type="checkbox"/>	GRANDE <input checked="" type="checkbox"/>		
OBSERVACIONES: <u>90 vacas</u>			
TIPO EXPLORACION			
CARNE <input type="checkbox"/>	LECHE <input checked="" type="checkbox"/>		
MUESTRAS			
Nº	A/I	SEXO	OBSERVACIONES
		HEMBRA	<input checked="" type="checkbox"/>
		ADULTO	<input checked="" type="checkbox"/>
			<u>Dorada / Amanilla</u>
			<u>1 1/2 Años</u>
Nº	A/1	HEMBRA	<input checked="" type="checkbox"/>
		ADULTO	<input checked="" type="checkbox"/>
			<u>Lagartija</u>
			<u>6 meses</u>
Nº	A/2	HEMBRA	<input checked="" type="checkbox"/>
		ADULTO	<input checked="" type="checkbox"/>
			<u>Avena</u>
			<u>3 Años</u>
Nº	A/5	HEMBRA	<input checked="" type="checkbox"/>
		ADULTO	<input checked="" type="checkbox"/>
			<u>Pivota</u>
			<u>8 Años</u>
Nº			
	<input type="checkbox"/>	HEMBRA	
	<input type="checkbox"/>	ADULTO	

Anexo A. Hoja de registro para el levantamiento de datos.



Anexo B. Levantamiento de datos de las provincias Santo Domingo, Manabí, Azuay y Cañar.

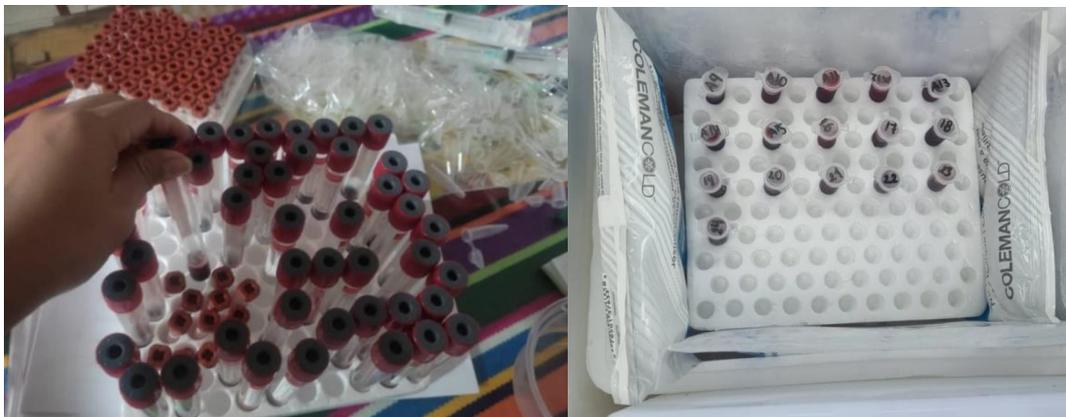


Anexo C. Toma de muestras en la región costa (Manabí y Santo Domingo de los Tsachilas).

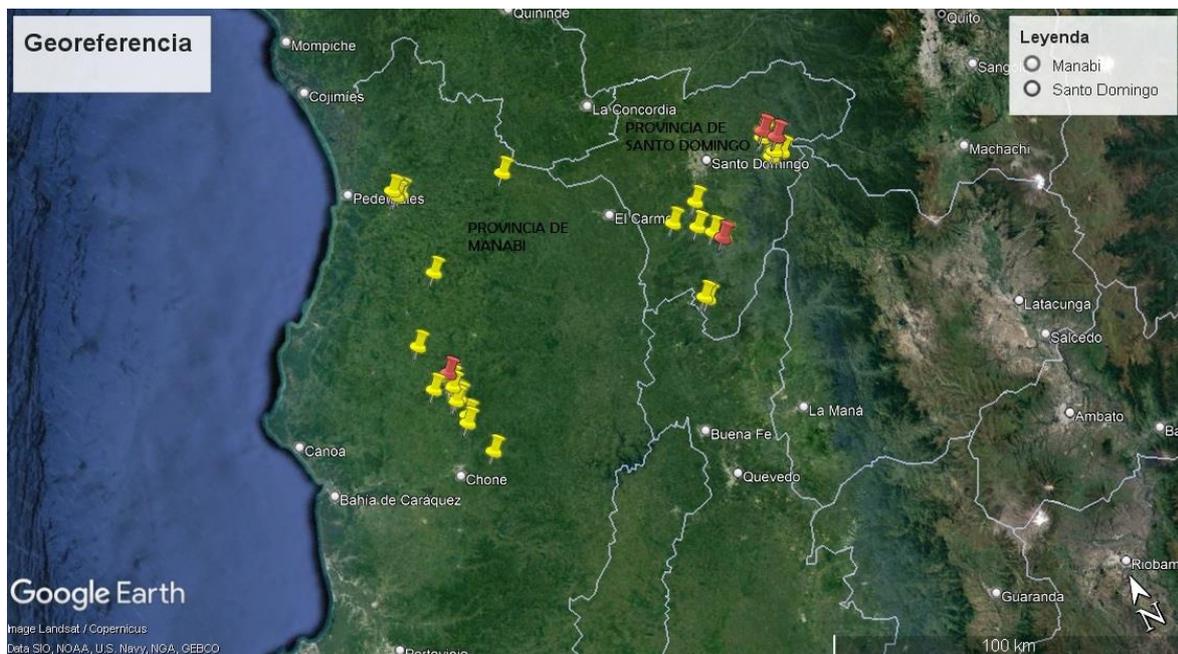




Anexo D. Toma de muestras en la región de la Sierra (Azuay y Cañar).

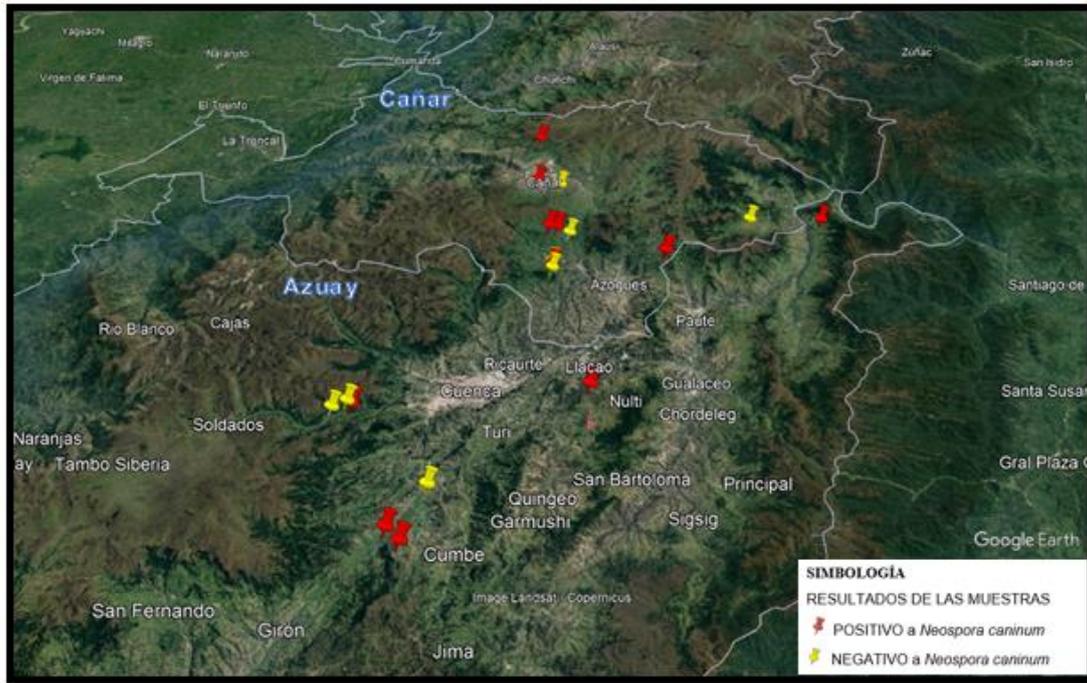


Anexo E. Tubos rotulados para transporte



Fuente: Centro de asistencia en línea por el programa Google Earth pro.

Anexo F. Georreferencia de las muestras en las provincias de Santo Domingo y Manabí



Fuente: Centro de asistencia en línea por el programa Google Earth pro.

Anexo G. Georeferencia de las muestras en las provincias de Azuay Y Cañar

# MUESTRA	SEXO	EDAD	REGION	PROVINCIA	TAMAÑO DEL HATO	TIPO DE EXPLOTACION	HACIENDAS	CORDENADAS		SECTOR	RESULTADOS
A1	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	SERRANO	02° 56.099'	079° 07.282'	CAJAS	POSITIVO
A2	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	SUSTAG	02° 55.834'	079° 07.760'	CAJAS	NEGATIVO
A6	MACHO	CACHORRO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	SUSTAG	02° 55.834'	079° 07.760'	CAJAS	NEGATIVO
A7	HEMBRA	CACHORRO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	ARGENTINA	02° 56.336'	079° 08.594'	CAJAS	NEGATIVO
A8	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	ARGENTINA	02° 56.336'	079° 08.594'	CAJAS	NEGATIVO
A9	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	SANTA LUCRECIA	03° 01.725'	079° 02.464'	TARQUI	NEGATIVO
A10	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	SANTA LUCRECIA	03° 01.725'	079° 02.464'	TARQUI	NEGATIVO
A11	HEMBRA	CACHORRO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	SANTA LUCRECIA	03° 01.725'	079° 02.464'	TARQUI	NEGATIVO
A15	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	COLEGIO LOS ALAMOS	03° 05.315'	079° 03.582'	TARQUI	NEGATIVO
A17	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	COLEGIO LOS ALAMOS	03° 05.315'	079° 03.582'	TARQUI	POSITIVO
A20	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	COLEGIO LOS ALAMOS	03° 05.315'	079° 03.582'	TARQUI	POSITIVO
A21	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	COLEGIO LOS ALAMOS	03° 05.315'	079° 03.582'	TARQUI	POSITIVO
A22	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	COLEGIO LOS ALAMOS	03° 05.315'	079° 03.582'	TARQUI	NEGATIVO
A23	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	COLEGIO LOS ALAMOS	03° 05.315'	079° 03.582'	TARQUI	NEGATIVO
A24	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	COLEGIO LOS ALAMOS	03° 05.315'	079° 03.582'	TARQUI	POSITIVO
A25	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	LOS ALAMOS	03° 04.448'	079° 04.432'	TARQUI	NEGATIVO
A26	HEMBRA	CACHORRO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	LOS ALAMOS	03° 04.448'	079° 04.432'	TARQUI	POSITIVO
A27	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	SAN ANGEL	02° 37.882'	078° 36.128'	PAHUANCAY	POSITIVO
A28	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	SAN ANGEL	02° 37.882'	078° 36.128'	PAHUANCAY	POSITIVO
A29	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	SAN ANGEL	02° 37.882'	078° 36.128'	PAHUANCAY	NEGATIVO
A30	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	SAN ANGEL	02° 37.882'	078° 36.128'	PAHUANCAY	NEGATIVO
A31	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	SAN ANGEL	02° 37.882'	078° 36.128'	PAHUANCAY	NEGATIVO
A32	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	SAN ANGEL	02° 37.882'	078° 36.128'	PAHUANCAY	NEGATIVO
A33	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	SAN ANGEL	02° 37.882'	078° 36.128'	PAHUANCAY	NEGATIVO
A34	MACHO	CACHORRO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	SAN ANGEL	02° 37.882'	078° 36.128'	PAHUANCAY	NEGATIVO
A35	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	SAN ANGEL	02° 37.882'	078° 36.128'	PAHUANCAY	NEGATIVO
A36	MACHO	CACHORRO	SIERRA	AZUAY	GRANDE	LECHE	SAN ANGEL	02° 37.882'	078° 36.128'	PAHUANCAY	NEGATIVO
A37	MACHO	CACHORRO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	GENARO CALLE	02° 54.240'	078° 53.299'	JADAN	NEGATIVO
A38	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	GENARO CALLE	02° 54.240'	078° 53.299'	JADAN	POSITIVO
A39	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	GENARO CALLE	02° 54.240'	078° 53.299'	JADAN	POSITIVO
A40	MACHO	ADULTO	SIERRA	AZUAY	PEQUEÑO	LECHE	GENARO CALLE	02° 54.240'	078° 53.299'	JADAN	NEGATIVO
C1	MACHO	CACHORRO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CHANIN	02° 42.101'	078° 47.813'	TADAY	NEGATIVO
C2	HEMBRA	CACHORRO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CHANIN	02° 42.101'	078° 47.813'	TADAY	NEGATIVO
C3	MACHO	CACHORRO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CHANIN	02° 42.101'	078° 47.813'	TADAY	POSITIVO
C4	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CHANIN	02° 42.101'	078° 47.813'	TADAY	POSITIVO
C5	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	LA RAMADA	02° 42.068'	078° 47.721'	TADAY	POSITIVO
C6	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	LA RAMADA	02° 42.068'	078° 47.721'	TADAY	POSITIVO
C7	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CAJILEMA	02° 38.472'	078° 41.409'	TADAY	NEGATIVO
C8	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	LA DOLOROSA	02° 43.433'	078° 55.677'	DELEG	NEGATIVO
C9	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	RAMON	02° 43.956'	078° 55.634'	DELEG	NEGATIVO
C10	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	RAMON	02° 43.956'	078° 55.634'	DELEG	NEGATIVO
C11	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	NAPOLES	02° 43.610'	078° 55.623'	DELEG	POSITIVO
C12	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	NAPOLES	02° 43.610'	078° 55.623'	DELEG	NEGATIVO
C13	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CAMPO ALEGRE	02° 40.189'	078° 54.418'	BIBLIAN	NEGATIVO
C14	MACHO	CACHORRO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CAMPO ALEGRE	02° 40.189'	078° 54.418'	BIBLIAN	NEGATIVO
C15	MACHO	CACHORRO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	SAULA	02° 39.563'	078° 55.282'	VIA A CAÑAR	NEGATIVO
C16	MACHO	CACHORRO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	SAULA	02° 39.563'	078° 55.282'	VIA A CAÑAR	NEGATIVO
C17	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	SAULA	02° 39.563'	078° 55.282'	VIA A CAÑAR	NEGATIVO
C18	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	SAULA	02° 39.563'	078° 55.282'	VIA A CAÑAR	POSITIVO
C19	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	ESMERALDA	02° 39.465'	078° 55.881'	CAÑAR	NEGATIVO
C20	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	ESMERALDA	02° 39.465'	078° 55.881'	CAÑAR	POSITIVO
C21	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	ESMERALDA	02° 39.465'	078° 55.881'	CAÑAR	NEGATIVO
C22	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CHUQUIRAGUA	02° 28.515'	078° 56.558'	TAMBO	POSITIVO
C23	MACHO	CACHORRO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CHUQUIRAGUA	02° 28.515'	078° 56.558'	TAMBO	NEGATIVO
C24	HEMBRA	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CHUQUIRAGUA	02° 28.515'	078° 56.558'	TAMBO	NEGATIVO
C25	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CHUQUIRAGUA	02° 28.515'	078° 56.558'	TAMBO	NEGATIVO
C26	MACHO	CACHORRO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CHOROCOPE	02° 34.164'	078° 56.710'	TAMBO	NEGATIVO
C27	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	CHOROCOPE	02° 34.164'	078° 56.710'	TAMBO	POSITIVO
C28	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	MAINATO	02° 36.227'	078° 58.492'	CAÑAR	NEGATIVO
C29	HEMBRA	CACHORRO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	MAINATO	02° 36.227'	078° 58.492'	CAÑAR	NEGATIVO
C30	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	MAINATO	02° 36.227'	078° 58.492'	CAÑAR	NEGATIVO
C31	MACHO	ADULTO	SIERRA	CAÑAR	PEQUEÑO	LECHE	MAINATO	02° 36.227'	078° 58.492'	CAÑAR	NEGATIVO
S01	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	CARNE	LAS LOLAS	5 00 26 689	W 079 16 648	EL ESFUERZO	NEGATIVO
S03	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	CARNE	GREGORIO	5 00 21 142	W 079 02 203	LA REFORMA	NEGATIVO
S05	HEMBRA	CACHORRO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	SN	5 00 22 669	W 079 23 214	VIA QUEVEDO	NEGATIVO
S06	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	SAN LUIS	5 00 20 246	W 079 01 201	LA REFORMA	NEGATIVO
S07	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	CARNE	LA GRANJA	5 00 29 639	W 079 14 831	LA REFORMA	NEGATIVO
S08	HEMBRA	CACHORRO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	CARNE	SAN ANTONIO	5 0029 229	W 079 14 556	LA REFORMA	NEGATIVO
S10	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	CARNE	SAN ANTONIO	5 0029 229	W 079 14 556	LA REFORMA	POSITIVO
S11	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	CARNE	SAN ANTONIO	5 0029 229	W 079 14 556	LA REFORMA	NEGATIVO
S13	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	LECHE	LA GRANJA	5 00 36 799	W 079 20 732	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S14	HEMBRA	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	LECHE	MIRADOR	5 00 22 278	W 079 15 917	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S15	MACHO	CACHORRO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	LECHE	MIRADOR	5 00 22 278	W 079 15 917	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S17	HEMBRA	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	CARNE	SN	5 0036 798	W 079 20 731	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S19	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	CARNE	SN	5 00 05 103	W 079 40 861	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S20	HEMBRA	CACHORRO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	SN	5 00 03 219	W 080 94 351	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S21	HEMBRA	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	CARNE	EL ROSARIO	5 00 17 736	W 079 01 834	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S22	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	LECHE	EL LIMONAL	5 00 17 900	W 079 02 183	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S23	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	SAN JOSE	5 0017 010	W 079 01 640	ALLURIQUIN	POSITIVO
S24	HEMBRA	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	LECHE	SAN LUIS	5 00 18 715	W 079 00 065	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S25	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	LECHE	SAN LUIS 2	5 00 18 695	W 079 00 365	ALLURIQUIN	POSITIVO
S26	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	LECHE	SAN LUIS 2	5 00 18 696	W 079 00 366	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S27	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	LECHE	SANTA ROSA	500 20 632	W 079 01 425	ALLURIQUIN	NEGATIVO

S28	HEMBRA	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	LECHE	SAN MARCOS	S 00 21 145	W 079 02 203	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S29	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	CASA DE FINCA	S 00 20 593	W 079 01 334	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S30	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	CASA DE FINCA	S 00 20 593	W 079 01 334	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S31	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	GRANDE	LECHE	SANTA CECILIA	S 00 20 600	W 078 01 771	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S32	HEMBRA	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	SAN JOSE DEL MIRADOR	S 00 16 801	W 079 01 688	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S33	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	SAN JOSE DEL MIRADOR	S 00 16 801	W 079 01 688	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S34	MACHO	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	SAN JOSE DEL MIRADOR	S 00 16 801	W 079 01 688	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S35	HEMBRA	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	SAN JOSE DEL MIRADOR	S 00 16 801	W 079 01 688	ALLURIQUIN	NEGATIVO
S36	HEMBRA	ADULTO	COSTA	SANTO DOMINGO	PEQUEÑO	LECHE	SAN JOSE DEL MIRADOR	S 00 16 801	W 079 01 688	ALLURIQUIN	NEGATIVO
M1	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	LECHE	PUERTO SECO	S 00 36 799	W 080 02 335	VIA PEDERNALES	NEGATIVO
M2	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	CARNE	EL SILENCIO	S 00 30 905	W 080 05 259	ATAHUALPA	NEGATIVO
M3	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	SN	S 00 23 770	W 080 04 521	MONTALVO	NEGATIVO
M4	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	SN	S 00 23 770	W 080 04 521	MONTALVO	NEGATIVO
M5	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	CARNE	GRANJA CEDEÑO	S 00 17 752	W 079 01 323	MONTALVO	NEGATIVO
M6	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	LECHE	GRANJA CEDEÑO	S 00 17 752	W 079 01 323	MONTALVO	NEGATIVO
M7	HEMBRA	CACHORRO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	CARNE	LA LOMA	S 00 30 094	W 080 02 335	EL LIMON	NEGATIVO
M8	MACHO	CACHORRO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	CARNE	LA LOMA	S 00 30 094	W 080 02 335	EL LIMON	NEGATIVO
M9	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	LECHE	EL LIMON	S 00 30 533	W 080 04 341	EL LIMON	NEGATIVO
M10	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	CARNE	MARTITA	S 00 29 571	W 080 02 137	EL LIMON	NEGATIVO
M11	MACHO	CACHORRO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	SESME	S 00 33 224	W 080 02 609	VIA CHONE	NEGATIVO
M12	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	SESME	S 00 33 224	W 080 02 609	VIA CHONE	POSITIVO
M13	HEMBRA	CACHORRO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	LANCHO SAN FERNANDO	S 00 33 214	W 080 02 605	CHONE	NEGATIVO
M15	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	CARNE	RICAUARTE	S 00 33 992	W 080 02 988	CHONE	NEGATIVO
M16	HEMBRA	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	CARNE	RICAUARTE	S 00 33 992	W 080 02 988	CHONE	NEGATIVO
M17	HEMBRA	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	CARNE	RICAUARTE	S 00 33 992	W 080 02 988	CHONE	NEGATIVO
M18	MACHO	CACHORRO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	EL SILENCIO	S 00 01 079	W 079 57 267	VIA PEDERNALES	NEGATIVO
M20	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	MANGLAR	S 00 01 014	W 079 56 480	VIA PEDERNALES	NEGATIVO
M22	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	CARNE	LA ESTANCIA	S 00 00 131	W 079 57 461	VIA PEDERNALES	NEGATIVO

M23	HEMBRA	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	CARNE	SIN NOMBRE	S 00 00 913	W 083 57 149	ATAHUALPA	NEGATIVO
M24	HEMBRA	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	CARNE	MAGDALENA	S 00 16 625	W 079 02 577	VIA CHONE	NEGATIVO
M25	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	CARNE	MAGDALENA	S 00 16 615	W 079 02 575	VIA CHONE	NEGATIVO
M26	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	LECHE	LA FINCA	S 00 30 742	W 080 02 328	VIA CHONE	NEGATIVO
M27	HEMBRA	CACHORRO	COSTA	MANABI	GRANDE	LECHE	FINCA DE QUESOS	S 00 43 249	W 080 45 888	VIA CHONE	NEGATIVO
M28	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	BARBERAN	S 00 33 742	W 080 02 328	EL LIMON	NEGATIVO
M29	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	BARBERAN	S 00 33 742	W 080 02 328	EL LIMON	NEGATIVO
M30	HEMBRA	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	BARBERAN	S 00 33 742	W 080 02 328	EL LIMON	NEGATIVO
M31	HEMBRA	ADULTO	COSTA	MANABI	PEQUEÑO	LECHE	BARBERAN	S 00 33 742	W 080 02 328	EL LIMON	NEGATIVO
M32	HEMBRA	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	CARNE	LOS CEIBOS	S 00 37 900	W 080 02 839	EL LIMON	NEGATIVO
M33	HEMBRA	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	CARNE	LOS CEIBOS	S 00 37 900	W 080 02 839	EL LIMON	NEGATIVO
M34	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	CARNE	LOS CEIBOS	S 00 37 900	W 080 02 839	EL LIMON	NEGATIVO
M36	MACHO	ADULTO	COSTA	MANABI	GRANDE	CARNE	LOS CEIBOS	S 00 37 900	W 080 02 839	EL LIMON	NEGATIVO

Anexo H. base de datos de las muestras en las cuatro provincias