



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

**CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRONÓMICAS Y VETERINARIAS**

Tesis

ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *TOXOPLASMA GONDII* Y *NEOSPORA CANINUM* EN PERROS CON MANIFESTACIONES CLÍNICAS NEUROLÓGICAS Y RESPIRATORIAS

Presenta

MVZ ARCELIA MONSERRAT DE LA CERDA VILLAR

**Para obtener el grado de
MAESTRA EN CIENCIAS VETERINARIAS**

COMITÉ TUTORAL

DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ (TUTOR)

DR. ARTURO VALDIVIA FLORES

DR. TEÓDULO QUEZADA TRISTÁN

Aguascalientes, Ags., Junio de 2015.



M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMAN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente como miembro del Comité Tutorial de la estudiante Arcelia Monserrat dela Cerda Villar con ID 68479, quien realizó la tesis titulada:

ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA TOXOPLASMA GONDII Y NEOSPORA CANINUM EN PERROS CON MANIFESTACIONES CLÍNICAS NEUROLÓGICAS Y RESPIRATORIAS

y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el VOTO APROBATORIO, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

“Se Lumen Proferre”

Aguascalientes, Ags., a 25 de junio de 2015.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Teódulo Quezada Tristán'.

Dr. Teódulo Quezada Tristán
Integrante del Comité Tutorial

- c.c.p.- Interesado
- c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
- c.c.p.- Jefatura del Depto. de Clínica Veterinaria
- c.c.p.- Consejero Académico
- c.c.p.- Minuta Secretario Técnico



M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMAN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente como integrante del Comité Tutoral de la estudiante Arcelia Monserrat dela Cerda Villar con ID 68479, quien realizó la tesis titulada:

ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA TOXOPLASMA GONDII Y NEOSPORA CANINUM EN PERROS CON MANIFESTACIONES CLÍNICAS NEUROLÓGICAS Y RESPIRATORIAS

y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el VOTO APROBATORIO, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

“Se Lumen Proferre”

Aguascalientes, Ags., a 25 de junio de 2015.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Arturo G. Valdivia Flores'.

Dr. Arturo G. Valdivia Flores
Integrante del Comité Tutoral

- c.c.p.- Interesado
- c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
- c.c.p.- Jefatura del Depto. de Clínica Veterinaria
- c.c.p.- Consejero Académico
- c.c.p.- Minuta Secretario Técnico



M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMAN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS
P R E S E N T E

Por medio del presente como Tutor de la estudiante Arcelia Monserrat dela Cerda Villar con ID 68479, quien realizó la tesis titulada:

ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA
TOXOPLASMA GONDII Y NEOSPORA CANINUM EN PERROS CON
MANIFESTACIONES CLÍNICAS NEUROLÓGICAS Y RESPIRATORIAS

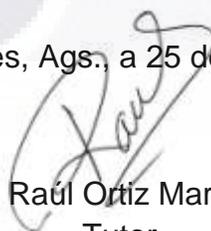
y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el VOTO APROBATORIO, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

“Se Lumen Proferre”

Aguascalientes, Ags., a 25 de junio de 2015.


Dr. Raúl Ortiz Martínez
Tutor

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Jefatura del Depto. de Clínica Veterinaria
c.c.p.- Consejero Académico
c.c.p.- Minuta Secretario Técnico

DRA. GUADALUPE RUÍZ CUÉLLAR
DIRECTOR GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
P R E S E N T E .

Por medio del presente me permito comunicarle a usted que la tesis titulada "ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA TOXOPLASMA GONDII Y ENOSPORA CANINUM EN PERROS CON MANIFESTACIONES CLÍNICAS NEUROLÓGICAS Y RESPIRATORIOS", de la alumna *ARCELIA MONSERRAT DE LA CERDA VILLAR*, egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, respeta las normas y lineamientos establecidos institucionalmente para su elaboración y su autor cuenta con el voto aprobatorio de su tutor y comité tutorial.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
Jesús María, Aguascalientes., 30 de Junio del 2015.
"Se Lumen Proferre"


M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

c.c.p. Jefa del Departamento del Control Escolar
c.c.p. Sección de Certificados y Títulos
c.c.p. Secretario Técnico
c.c.p. Estudiante
c.c.p. Archivo

RECONOCIMIENTOS

Se reconoce el apoyo financiero por asignación de beca al Consejo Nacional De Ciencia y Tecnología CONACYT (registro de becario no. 248445; CVU: 370635) para la realización de mis estudios de posgrado en el programa de Maestrías en Ciencias Veterinarias.

Este protocolo de tesis de maestría se desarrolló gracias a la participación de mi tutor el Dr. Raúl Ortiz Martínez, quien asesoró de manera satisfactoria el proyecto desde la concepción de la idea, la ejecución, el análisis teórico y hasta la redacción definitiva del presente documento. Infinitas gracias por su paciencia.

Por la dedicación y tiempo que mostraron durante mi formación profesional a través del apoyo técnico y teórico durante el desarrollo de este trabajo y por la asesoría para la escritura de la tesis; a los miembros de mi comité tutorial dentro del programa de Maestría en Ciencias Veterinarias: Dr. Arturo Valdivia Flores y Dr. Teódulo Quezada Tristán (Centro de Ciencias Agropecuarias de la UAA).

Al Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes por abrirme las puertas de ésta institución para poder realizar mi proyecto de investigación. Al personal que labora dentro de este hospital que ayudaron desde la recolección de datos, toma de muestra y conservación en el laboratorio (Dr. Samuel Lozano, MVZ Toribio Escobedo, MVZ Liliana Alba, Lic. Susana Banda, TSU Francisco Lucio, Lourdes de Alba, Iris Valadez, Liliana Torralba), gracias por su contribución.

AGRADECIMIENTOS

Por su asesoría y apoyo técnico en la obtención, procesamiento y análisis de muestras:

- ❖ Dra. María Carolina de Luna López. Centro de Ciencias Agropecuarias, Laboratorio de Fisiología Veterinaria e Investigación.
- ❖ MVZ Erika Janet Rangel Muñoz. Estudiante de la Maestría en Ciencias Veterinarias.
- ❖ MVZ Abril Miranda Castañeda. Estudiante de la Maestría en Ciencias Veterinarias.
- ❖ IQB Jeimy Janice Kenia Campos Hernández. Laboratorio del Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- ❖ Ernesto, Erick, Guillermo, José Luis. Programa de prácticas profesionales del Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

DEDICATORIA

A mis padres

Alfredo y Arcelia

Quienes han guiado siempre mi camino con cariño y bendiciones, apoyado cada una de mis decisiones y me han impulsado siempre para salir adelante.

Mamá especialmente tú, has sido mi guía permanente, mi amiga mi soporte.

A mis hermanos

Alfredo e Israel

Porque han sido ejemplo vivo de superación personal y profesional, porque el verlos luchar por sus objetivos y lograr sus sueños han forjado en mí siempre la inquietud de salir adelante, porque su apoyo y sus manos siempre me sostienen.

A mis amigos y amigas de especialidad mi segunda familia que siempre están al pendiente unos de otros y apoyando a diario nuestras metas, haciendo más divertidos mis días y siendo pieza fundamental de mi vida profesional. Mis amigas de antaño (Pam y Cindy) por ayudarme a tener momentos no solo divertidos sino también de distracción ante tiempos agobiantes. Mis amigas no de tanto tiempo pero quienes también siempre me apoyaron (Jeimmy, Iris, Nancy, Cindy A., Zulma) y añadieron momentos especiales y gratos durante este tiempo.

Mis sobrinos

Valeria e Israel

Por tener ese ángel especial que ilumina mis días al tenerlos cerca.

A mi pareja de vida

Jesús

Por su apoyo y comprensión durante el tiempo dedicado a la realización de mis estudios, por impulsarme a seguir adelante y hacerme ver que todo tendrá sus satisfacciones.

Por tu amor. Gracias.

A **Dios**, por guiar mi camino siempre con fe, por poner siempre en tiempo y forma adecuada los sucesos de mi vida.

ÍNDICE GENERAL

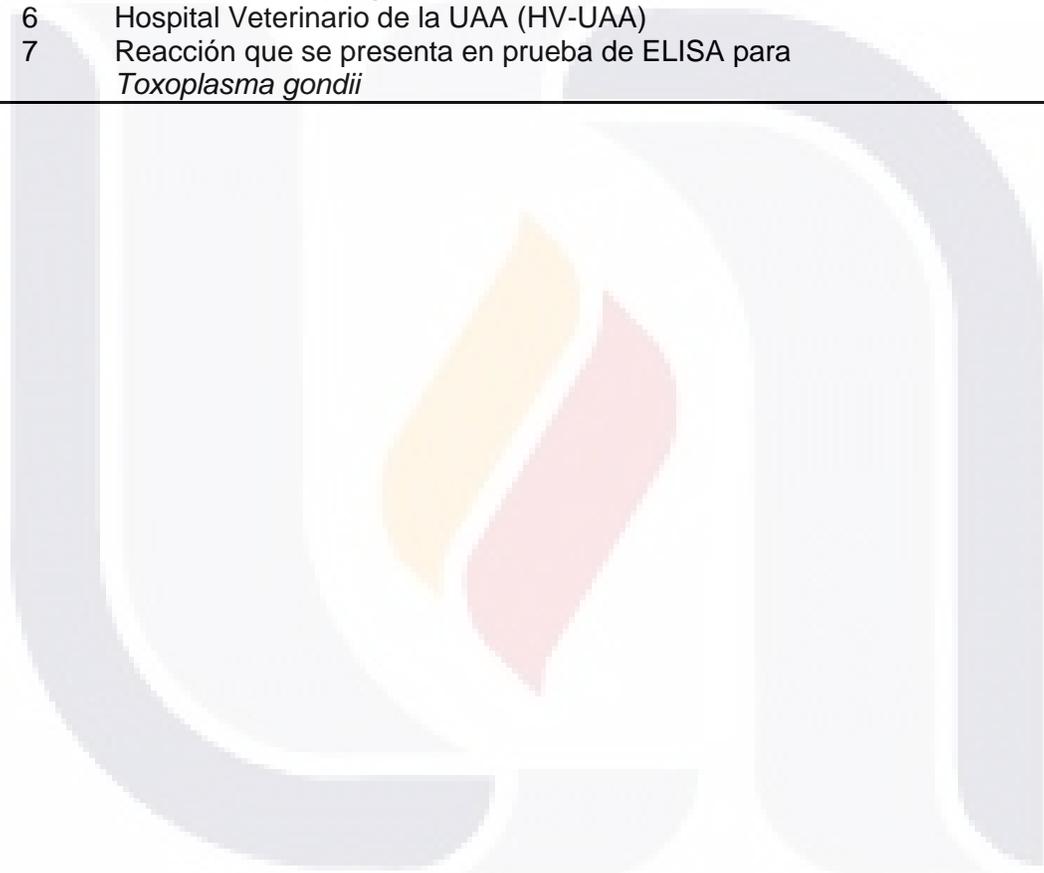
No.	Contenido	Página
	ÍNDICE GENERAL	1
	ÍNDICE DE TABLAS	2
	ÍNDICE DE FIGURAS	3
	ACRÓNIMOS	4
	RESUMEN	5
	ABSTRACT	6
	INTRODUCCIÓN	7
1	ANTECEDENTES	9
1.1	DESCRIPCIÓN DE LAS ENFERMEDADES	9
1.1.1	Definición	9
1.1.2	Aspectos Históricos	9
1.1.3	Parasitología	10
1.1.4	Patogénesis y manifestaciones clínicas	16
1.1.5	Epidemiología	20
1.1.6	Diagnóstico	24
1.1.6.1	Hallazgos de laboratorio clínico	24
1.1.6.2	Citología	25
1.1.6.3	Radiología	26
1.1.6.4	Examen fecal	26
1.1.6.5	Pruebas Serológicas	27
1.1.7	Tratamiento	30
1.1.8	Prevención	32
1.1.9	Consideraciones de salud pública	32
2	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	35
2.1	Hipótesis	35
2.2	Objetivo general	35
2.2.1	Objetivos específicos	35
3	MATERIALES Y MÉTODOS	36
3.1	Sitio de estudio	36
3.2	Diseño de la investigación	38
3.2.1	Tipo de estudio y selección de perros	39
3.2.2	Número de muestras	41
3.2.3	Obtención de la información clínico zootécnica	41
3.2.4	Obtención de muestras sanguínea	42
3.3	MÉTODO DE ANALISIS	42
3.3.1	Materiales y reactivos	42
3.3.2	Desarrollo de la técnica analítica	42
3.4	ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	45
4	RESULTADOS	47
5	DISCUSIÓN	52
6	CONCLUSIONES	56
7	BIBLIOGRAFÍA	57
8	ANEXOS	68

ÍNDICE DE TABLAS

No.	CONTENIDO	PÁGINA
1	Características de la Neosporosis y Toxoplasmosis	20
2	Seroprevalencia mundial de <i>Neospora caninum</i> en perros	21
3	Seroprevalencia de estudios clínicos realizados por otros autores ante <i>N. caninum</i> .	22
4	Seroprevalencia mundial de <i>Toxoplasma gondii</i> en perros	23
5	Tratamientos propuestos para Neosporosis	31
6	Tratamientos propuestos para Toxoplasmosis	32
7	Interpretación para la prueba de Elisa para <i>Neospora caninum</i>	43
8	Interpretación para la prueba de Elisa para <i>Toxoplasma gondii</i>	45
9	Características generales de los 92 perros incluidos en éste estudio	47
10	Resultados de la detección de anticuerpos	48
11	Correlación de los anticuerpos con las características generales de los pacientes seropositivos a <i>Toxoplasma gondii</i>	49
12	Estadística de variables con razón de momios	50

ÍNDICE DE FIGURAS

No.	CONTENIDO	PÁGINA
1	Ciclo de vida <i>Neospora caninum</i>	11
2	Ciclo de vida de <i>Toxoplasma gondii</i>	14
3	Patogénesis de la Neosporosis	17
4	Patogénesis de la Toxoplasmosis	19
5	Sitio de estudio y lugares de muestreos.	36
6	Hospital Veterinario de la UAA (HV-UAA)	37
7	Reacción que se presenta en prueba de ELISA para <i>Toxoplasma gondii</i>	44



ACRÓNIMOS

Abreviatura	Definición
ALT	Alanina Aminotransferasa
AST	Aspartato Amino Transferasa
CI	Intervalo de Confianza
CK	Creatinina Quinasa
DT	Prueba de Tinción
EFG	Examen Físico General
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas)
FA	Fosfatasa Alcalina
FCM	Federación Canófila Mexicana
HC	Historia Clínica
HVUAA	Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes
IFAT	Immunofluorescence Antibody Test (Prueba de anticuerpos inmunofluorescentes)
IHA	Indirect haemagglutination (Hemaglutinación indirecta)
LAT	Latex Agglutination Test (Prueba de aglutinación en látex)
LCR	Líquido Cefaloraquídeo
MAT	Modified Agglutination Test (Prueba de aglutinación modificada)
NAT	Neospora Agglutination Test (Prueba de aglutinación para Neospora)
PAD	Prueba de Aglutinación Directa
PCR	Polymerase chain reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)
SC	Sistema Cardíaco
SD	Sistema Digestivo
SFDT	Sabiin Feldman Dye Test (Prueba de tinción de Sabiin Feldman)
SL	Sistema Linfático
SNC	Sistema Nervioso Central
SO	Sistema Ocular
SR	Sistema Respiratorio
X ²	Chi-cuadrada
10X	Conjugado concentrado
20X	Solución de lavado concentrada
TMB	Solución de revelación
H ₂ SO ₄ 0.5M	Solución de parada
µL	Microlitros

RESUMEN

ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *TOXOPLASMA GONDII* Y *NEOSPORA CANINUM* EN PERROS CON MANIFESTACIONES CLÍNICAS NEUROLÓGICAS Y RESPIRATORIAS

De la Cerda Villar, A.M., Ortiz Martínez, R., Valdivia Flores, G. A., Quezada Tristán, T.,

Neospora caninum y Toxoplasma gondii son protozoarios que afectan a los perros; sus ciclos biológicos y desarrollo de la enfermedad también son similares. El objetivo de éste estudio fue determinar la asociación entre la presencia de anticuerpos contra ambos protozoarios en pacientes con manifestaciones clínicas neurológicas y/o respiratorias (Grupo Caso) o con en pacientes asintomáticos (Grupo Control) atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (HV-UAA). Se colectaron un total de 92 muestras sanguíneas, 46 para cada grupo. Se obtuvieron antecedentes médicos de todos los pacientes. Las muestras se procesaron mediante una ELISA indirecta *IdScreen*® considerando positivos a los pacientes que tuvieron un %S/P >50. Del total de pacientes, 23 fueron machos y 23 hembras en ambos grupos. En ningún grupo se detectaron anticuerpos para *N. caninum*. Ambos grupos tuvieron un porcentaje de pacientes seropositivos de 6.52% para Toxoplasma. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la seroprevalencia para Toxoplasma gondii y las variables seleccionadas utilizando la prueba de Chi-cuadrada ($P \geq 0.05$). Los factores de riesgo analizados mostraron tanto efectos protectores como probabilidades de riesgos.

Palabras clave: *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, perros, ELISA, manifestaciones clínicas.

ABSTRACT

ASSOCIATION BETWEEN THE PRESENCE OF ANTIBODIES AGAINST TOXOPLASMA GONDII AND NEOSPORA CANINUM IN DOGS WITH NEUROLOGICAL AND RESPIRATORY CLINICAL MANIFESTATIONS

De la Cerda Villar, A.M., Ortiz Martínez, R., Valdivia Flores, G. A., Quezada Tristán, T.,

Neospora caninum and *Toxoplasma gondii* are protozoal parasites which affect dogs. Their life cycles and development of their sicknesses are similar too. The objective of this study was to determinate the association between antibodies for both parasites and the Case Group (neurologic or respiratory clinical manifestations) or the Control Group (asymptomatic patients). The dogs were recruited in the Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (HV-UAA). 92 blood samples were collected; 46 per group. Medical background was obtained for each patient. Blood samples were analyzed via indirect ELISA using a *IdScreen*® kit for *Neospora caninum* or *Toxoplasma gondii*. Dogs with %S/P >50, were considered as positive. There were 23 female and male dogs in both groups. Neospora antibodies there were not detected neither in the Case Group nor Control Group. Both groups had a prevalence of 6.52% for Toxoplasma. There were not statistic significant differences between seroprevalence and the variables under Chi-squared analysis ($P \geq 0.05$). The risk factors analyzed showed protective effects as well as risk probabilities.

Keywords: *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, ELISA, dogs, clinical manifestations.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades son una de las causas de alteración de la salud y del bienestar de los perros. Las causas de enfermedad tienen etiologías diversas; una de ellas son los parásitos que como otros patógenos, pueden llegar a causar cuadros clínicos moderados o severos. Algunas parasitosis tienen especial importancia tanto por su potencial contagioso a otras especies animales tanto como al hombre situándolas como zoonosis. Una de estas enfermedades parasitarias es la llamada Neosporosis, que ha sido estudiada ampliamente a nivel mundial por su particular importancia en el ganado bovino debido a su característica de causar abortos en estos animales. Para esta enfermedad los perros son considerados los huéspedes definitivos del parásito causante: *Neospora caninum* (Sánchez *et al.*, 2003).

Hasta hace poco tiempo la Neosporosis era confundida con otra enfermedad de alto potencial zoonótico en el mundo: la Toxoplasmosis. Esta enfermedad se asocia tanto a animales silvestres como domésticos ya que se han reportado casos clínicos en los perros de compañía (Lindsay *et al.*, 1999).

Ambas enfermedades se caracterizan porque pueden desarrollarse con manifestaciones clínicas características comunes tales como alteraciones neurológicas y respiratorias; de igual manera, los perros son reservorios para la transmisión de la enfermedad a otras especies. Debido a la importancia de ambas enfermedades, para la salud pública y animal, es necesario conocer su situación clínica en los perros de compañía. Actualmente, se disponen de estudios a nivel mundial de la prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* en perros tanto de áreas rurales como urbanas, sin embargo, en nuestro país se han realizado pocos estudios al respecto en perros de compañía a pesar de que pueden tener una atención médica especializada. A pesar de que en el estado de Aguascalientes, se realizó un estudio sobre la prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* (Cruz *et al.*, 2008), no se dispone al momento de información sobre la Toxoplasmosis.

Sin embargo sí se dispone de información en algunos países sobre la frecuencia de ambas enfermedades en pacientes que presentan manifestaciones clínicas de afección neuromuscular en pacientes de clínicas y hospitales veterinarios (Fridlund *et al.*, 2011 y Ruiz *et al.*, 2012)

El propósito de este estudio, es aportar información sobre la Neosporosis y Toxoplasmosis canina que permita mejorar el conocimiento clínico de ambas entidades nosológicas, mediante una asociación serológica y las manifestaciones clínicas neurológicas y respiratorias en los perros atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (HV-UAA), así como su correlación con factores de riesgo.



1. ANTECEDENTES

1.1 DESCRIPCIÓN DE LAS ENFERMEDADES

1.1.1 Definición

La Neosporosis es una enfermedad parasitaria causada por un protozooario apicomplejo: *Neospora caninum*. Los perros domésticos y los coyotes, son los huéspedes definitivos, la enfermedad afecta tanto a los perros como a otros animales mamíferos como bovinos, caprinos y equinos. En los perros, afecta a diversos sistemas incluidos el sistema nervioso central (SNC), el sistema ocular (SO), el sistema cardiaco (SC) y el sistema respiratorio (SR). La principal manifestación clínica es la parálisis de los miembros posteriores con contractura ocasional. (Hosseininejad y Malmasi, 2009).

Por otro lado, la Toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria asociada a los gatos domésticos y salvajes que son los únicos huéspedes definitivos para *Toxoplasma gondii*. Afecta a múltiples especies de sangre caliente y mamíferos incluyendo el hombre, de ahí que se le considere de tipo zoonótico. (Reid *et al.*, 2012). En los perros la infección es usualmente subclínica; en tanto que en los gatos se han reportado alteraciones del SNC, del SO, del sistema digestivo (SD), del SC y del sistema linfático (SL). Las manifestaciones clínicas de la toxoplasmosis canina pueden involucrar múltiples órganos y usualmente la infección se encuentra en asociación con un sistema inmune debilitado (Tarlow *et al.*, 2005).

1.1.2 Aspectos históricos.

Hasta 1988, *Neospora caninum* era un parásito confundido con *Toxoplasma gondii*; desde su primera observación en los perros en 1984 y su descripción de como un nuevo género en 1988, la Neosporosis ha sido descrita como una enfermedad importante en el ganado y en los perros a nivel mundial (Dubey y Schares, 2011).

En 1908 Nicolle y Manceaux encontraron un protozooario en tejidos de un roedor, el gundi, que había sido utilizado para un estudio de Leishmaniasis; se creyó en un principio que se trataba de un piroplasma, sin embargo con base a su morfología y hospedero, posteriormente se identificó como *Toxoplasma gondii*. Dentro de los siguientes 30 años se aislaron organismos similares a *T. gondii* en otros huéspedes especialmente en aves (Dubey, 2008).

1.1.3 Parasitología

N. caninum es un parásito del tipo coccidia con una amplia distribución de huéspedes. En general, es muy similar en estructura y ciclo de vida a *T. gondii*, con dos importantes diferencias: (1) la Neosporosis es una enfermedad primaria del ganado y de los caninos, éstos últimos se consideran huésped definitivo de *N. caninum*, mientras que (2) la toxoplasmosis es una enfermedad primaria del humano, ovejas y cabras; los felinos son los huéspedes definitivos de *T. gondii*. (Dubey *et al.*, 2007).

Se desconoce el ciclo de vida completo de *Neospora caninum*, pero se sabe que el perro es el huésped definitivo del parásito (McCallister *et al.*, 1998 y Lindsay *et al.*, 1999). El ciclo de vida es tipificado por tres estados infecciosos: taquizoito, quiste, y ooquistes. Los taquizoitos y los quistes son los estados encontrados en los huéspedes intermediarios y son intracelulares (Dubey *et al.*, 2003). Los taquizoitos miden aproximadamente 6 a 2 μm . Los quistes celulares son de forma redonda u ovalada midiendo hasta 107 μm de largo y, son encontrados principalmente en el SNC. La pared del quiste celular tiene un grosor de 4 μm , por otro lado el bradizoito tiene medidas de 7 a 8 por 2 μm . (Dubey *et al.*, 2007) El ciclo del protozoo infecta caninos domésticos y salvajes, rumiantes y caballos, donde el perro se comporta tanto como huésped definitivo como intermediario. Los carnívoros adquieren el parásito por ingesta de tejido infectado, y eliminan ooquistes que esporulan en el medio, formándose en su interior 4 esporozoitos cada uno, lo que a su vez contamina el alimento y agua de bebida de los animales de producción. (Lindsay *et al.*, 1999).

El parásito *Neospora caninum* se reproduce mediante endogenia. Los taquizoitos y quistes tisulares que contienen bradizoitos son la única forma de *Neospora caninum* que han sido encontrados en animales con infección natural. Dependiendo del estado de división en el tracto intestinal *N. caninum* penetra en las células y cambia a taquizoito. Los taquizoitos se dividen rápidamente, causando daño tisular, y se disemina la infección a los tejidos del huésped. Los taquizoitos se reproducen intracelularmente. Los ooquistes de *Neospora caninum* esporulan fuera del hospedador y son morfológicamente similares a

El parásito *Neospora caninum* se reproduce mediante endogenia. Los taquizoitos y quistes tisulares que contienen bradizoitos son la única forma de *Neospora caninum* que han sido encontrados en animales con infección natural. Dependiendo del estado de división en el tracto intestinal *N. caninum* penetra en las células y cambia a taquizoito. Los taquizoitos se dividen rápidamente, causando daño tisular, y se disemina la infección a los

tejidos del huésped. Los taquizoitos se reproducen intracelularmente. Los ooquistes de *Neospora caninum* esporulan fuera del hospedador y son morfológicamente similares a *Toxoplasma gondii* encontrados en heces caninas como se muestra en la figura 1 (Dubey et al., 2003).

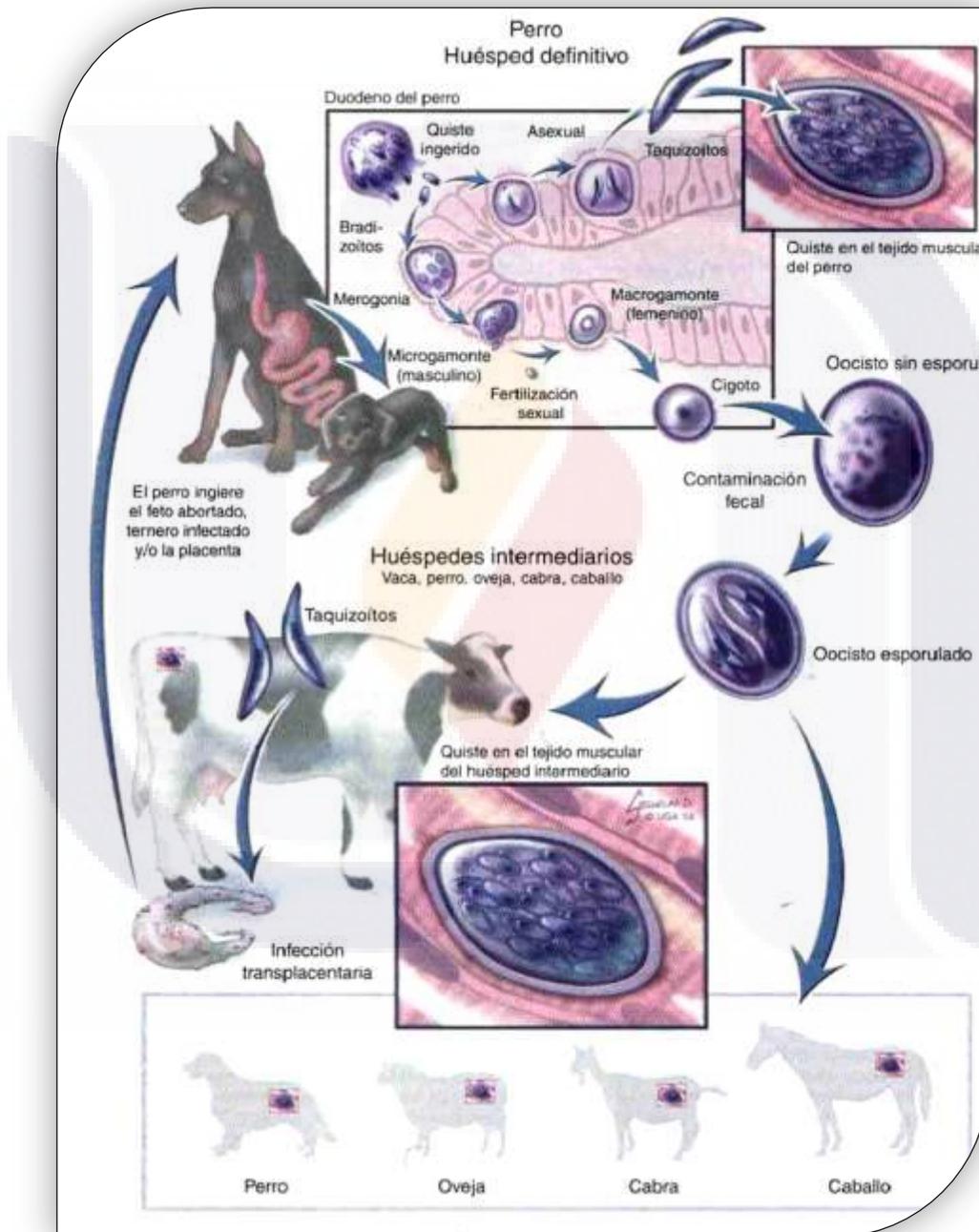


Figura 1. Ciclo de vida *Neospora caninum* (Greene, 2006)

Los quistes tisulares sobreviven sobre 14 días a temperatura de 4°C pero no son infectantes a -20°C. Casos de Neosporosis han sido reportados en la mayoría de los países desarrollados abarcando los cinco continentes (Dubey y Lindsay, 1993). Cuando los ooquistes son ingeridos por el huésped intermediario, se desenquistan y se libera el esporozoito infectante en el tracto intestinal. Los taquizoitos se replican rápidamente, causando daño tisular y diseminando la infección a otros órganos como hígado, pulmones, corazón, piel, páncreas, estomago, nódulos linfáticos, bazo, ojos y suprarrenales (Lindsay *et al.*, 1999).

La infección trasplacentaria por *N. caninum* puede ocurrir cuando el taquizoito se transmite de una hembra infectada a su feto durante la gestación (Dubey *et al.*, 2007a). Los oocistos no esporulados son esparcidos en las heces de los perros a partir de los 5 días o más después de ingerir quistes tisulares. La esporulación tiene lugar luego de 24 a 72 horas una vez fuera del cuerpo. (Dubey *et al.*, 2007).

Potencialmente, las especies no domesticadas pueden jugar un rol de hospederos definitivos y/o intermediarios en el ciclo de transmisión de esta enfermedad. Las encuestas serológicas han detectado la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en animales silvestres capturados como coyotes, zorros, búfalos de agua y camélidos. Experimentalmente, ratones, ratas, patos, zorros, coyotes, cerdos, conejos, monos y palomas han sido infectados con *Neospora caninum* (Barling, 2000).

Por su parte, la Toxoplasmosis es una enfermedad que manifiesta signos clínicos en los humanos, las ovejas y cabras, principalmente de tipo reproductivo. Los felinos son los únicos huéspedes definitivos. Su ciclo de vida es tipificado por tres estadios; taquizoitos, quistes tisulares y oocistos. Los taquizoitos y los quistes tisulares son los estadios presentes en los huéspedes intermediarios y ocurren únicamente de manera intracelular, figura 2 (Dubey, 2003). La vida del parásito en el gato incluye un ciclo enteroepitelial con una división sexuada y otra asexuada intracelular. Una fase ezquizogónica y una gametogónica que se desarrollan en todo el intestino delgado, pero se concentran especialmente en la extremidad de las vellosidades del íleo y terminan con la producción de los ooquistes. De esta manera, los felinos son los únicos con una fase sexuada. El período prepatente, en los gatos, es el comprendido entre la ingesta del parásito hasta la formación de ooquistes. Es variable, si comienza con la ingestión de un quiste tisular, el período prepatente es de 3 a 10 días; si ingirió taquizoítos es de 19 a 48

días y si ingirió ooquistes es de 21 a 48 días. Los gametocitos aparecen en el intestino delgado de 3 a 15 días después de la infección. (Durlach y Martino, 2009).

Los gatos se infectan después de la ingestión de ooquistes o taquizoitos y pueden comenzar a eliminar ooquistes en las heces hasta los 18 días post-infección y sólo un 20% de los gatos desarrollará infección. Los ooquistes comienzan su esporulación (estado infectante) 1 a 5 días después de haber pasado por las heces, pero puede sobrevivir por largos periodos en un ambiente idóneo. Los ooquistes esporulados son infectantes tanto para los gatos como para otros huéspedes intermediarios. Los esporozoitos y los bradizoitos se dividen en dos taquizoitos por una fase de reproducción asexual dentro del tracto intestinal. Los taquizoitos abandonan el intestino y se diseminan a lo largo del huésped intermediario a una variedad de células. Si la replicación del taquizoito conlleva a una ruptura celular, la infección cercana a las células ocurrirá. Si por el contrario no se genera una ruptura celular el taquizoito se enquistará. (Troxel, 2009)

La infección en el hombre y en los animales ocurre, generalmente, por ingestión de ooquistes tisulares viables en carnes crudas o mal cocidas (en el caso de los gatos, por consumo de huéspedes secundarios como ratones y ratas que albergan ooquistes), o bien por ingestión de ooquistes infectivos eliminados con las heces de los felinos, a través del suelo y agua contaminados (Durlach y Martino, 2009). Formas iatrogénicas como la transfusión sanguínea y trasplante de órganos han sido reportadas como formas menos frecuentes de transmisión (Galvao *et al.*, 2014). La toxoplasmosis se puede transmitir de manera congénita, por ingesta de tejidos infectados y la ingesta de alimentos o agua contaminada con oocistos. Otros modos menos importantes incluyen la lactancia, la transfusión de líquidos corporales o el trasplante de tejidos u órganos. Puede sobrevivir y esporular en el agua salada, así como permanecer viable durante 6 meses en una amplitud térmica de 4 a 24°C. La toxoplasmosis y la seroreactividad de *T. gondii* son más prevalentes en animales mayores, debido a una mayor exposición con la edad, así como en animales y ambientes rurales o ferales que son más aptos a cazar pequeños mamíferos.

En los gatos y perros que se alimentan con carne cruda en lugar de dietas comerciales, se detecta una mayor frecuencia de exposición (Greene, 2006)

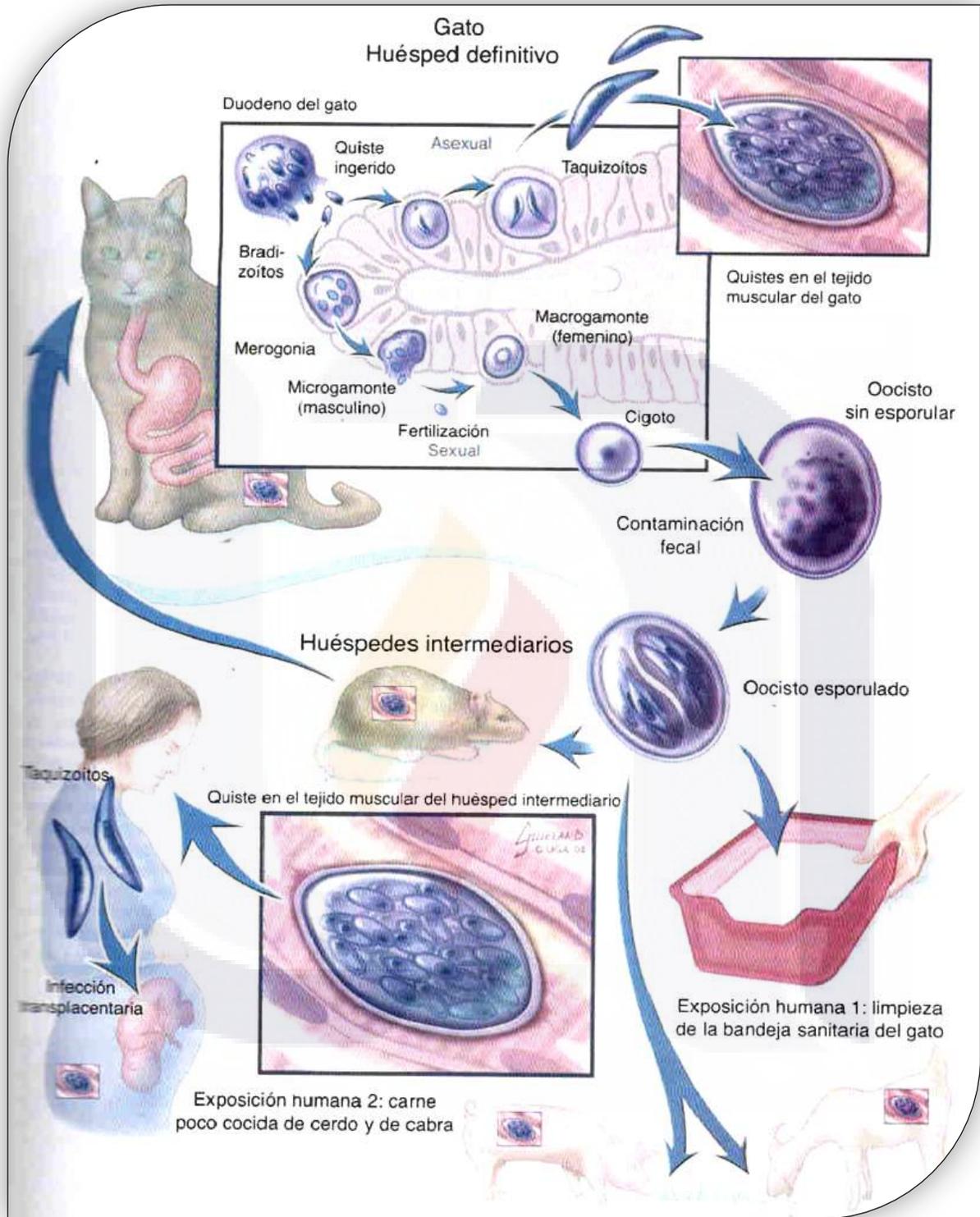


Figura 2. Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*. (Greene, 2006)

La vida del parásito en el gato incluye un ciclo enteroepitelial con una división sexuada y otra asexuada intracelular. Una fase ezquizogónica y una gametogónica que se desarrollan en todo el intestino delgado, pero se concentran especialmente en la extremidad de las vellosidades del íleo y terminan con la producción de los ooquistes. De esta manera, los felinos son los únicos con una fase sexuada. El período prepatente, en los gatos, es el comprendido entre la ingesta del parásito hasta la formación de ooquistes. Es variable, si comienza con la ingestión de un quiste tisular, el período prepatente es de 3 a 10 días; si ingirió taquizoítos es de 19 a 48 días y si ingirió ooquistes es de 21 a 48 días. Los gametocitos aparecen en el intestino delgado de 3 a 15 días después de la infección. (Durlach y Martino, 2009).

Los gatos se infectan después de la ingestión de ooquistes o taquizoítos y pueden comenzar a eliminar ooquistes en las heces hasta los 18 días post-infección y sólo un 20% de los gatos desarrollará infección. Los ooquistes comienzan su esporulación (estado infectante) 1 a 5 días después de haber pasado por las heces, pero puede sobrevivir por largos periodos en un ambiente idóneo. Los ooquistes esporulados son infectantes tanto para los gatos como para otros huéspedes intermediarios. Los esporozoítos y los bradizoítos se dividen en dos taquizoítos por una fase de reproducción asexual dentro del tracto intestinal. Los taquizoítos abandonan el intestino y se diseminan a lo largo del huésped intermediario a una variedad de células. Si la replicación del taquizoíto conlleva a una ruptura celular, la infección cercana a las células ocurrirá. Si por el contrario no se genera una ruptura celular el taquizoíto se enquistará. (Troxel, 2009)

La infección en el hombre y en los animales ocurre, generalmente, por ingestión de quistes tisulares viables en carnes crudas o mal cocidas (en el caso de los gatos, por consumo de huéspedes secundarios como ratones y ratas que albergan quistes), o bien por ingestión de ooquistes infectivos eliminados con las heces de los felinos, a través del suelo y agua contaminados (Durlach y Martino, 2009).

Formas iatrogénicas como la transfusión sanguínea y trasplante de órganos han sido reportadas como formas menos frecuentes de transmisión (Galvao *et al.*, 2014). La toxoplasmosis se puede transmitir de manera congénita, por ingesta de tejidos infectados y la ingesta de alimentos o agua contaminada con oocistos. Otros modos menos importantes incluyen la lactancia, la transfusión de líquidos corporales o el trasplante de tejidos u órganos. Puede sobrevivir y esporular en el agua salada, así como permanecer viable durante 6 meses en una amplitud térmica de 4 a 24°C. La toxoplasmosis y la

seroreactividad de *T. gondii* son más prevalentes en animales mayores, debido a una mayor exposición con la edad, así como en animales y ambientes rurales o ferales que son más aptos a cazar pequeños mamíferos. En los gatos y perros que se alimentan con carne cruda en lugar de dietas comerciales, se detecta una mayor frecuencia de exposición (Greene, 2006).

1.1.4 Patogénesis y manifestaciones clínicas

La *N. caninum* puede causar una enfermedad severa en el ganado y en perros, ocasionalmente en otros animales. Las infecciones en los hospederos son comunes pero la enfermedad clínica es rara (Dubey y Schares, 2011).

La infección en los perros ocurre mayormente en cachorros infectados de manera congénita, siendo más afectados perros menores a 6 meses de edad. Se desarrolla una paresis de los miembros posteriores que puede evolucionar a una parálisis. (Ghalmi, 2008). Los perros se encuentran alertas y sobreviven por meses. La causa de la hiperextensión de los miembros posteriores no está bien determinada aún, pero se asocia a una combinación de miositis y parálisis de motoneurona superior que conlleva a una rápida fibrosis de los músculos y una fijación de las articulaciones, la sensibilidad dolorosa es siempre conservada. Otros signos observables son dificultad para tragar, parálisis de la mandíbula, flacidez muscular, atrofia muscular y daño cardíaco. (Reichel, 2000). De igual forma signos como convulsiones, cambios de comportamiento, ceguera, anisocoria, síndrome de Horner's, neuropatía del trigémino, temores, ataxia y signos vestibulares han sido relacionados con la enfermedad. La enfermedad en los adultos se da posterior a una reactivación crónica, con una infección subclínica y signos multifocales del SNC. Pueden observarse signos como fiebre, vómito, tos, letargia, ictericia, arritmias, úlceras, dermatitis pruriginosa, regurgitación y megaesófago (Troxel, 2009).

La enfermedad puede ser localizada o generalizada encontrándose en cerebro, cordón espinal, retina, músculos, timo, corazón, hígado, riñón, estómago, glándula adrenal y piel donde los quistes pueden persistir por mucho tiempo y generar una enfermedad crónica. Afecta a perros de todas las edades. En la figura 3, se muestra que hembras gestantes infectadas que se encuentran en estadios subclínicos, pueden transmitir el parásito a los fetos y las siguientes camadas de la misma hembra pudieran nacer infectadas (Dubey, 2003).

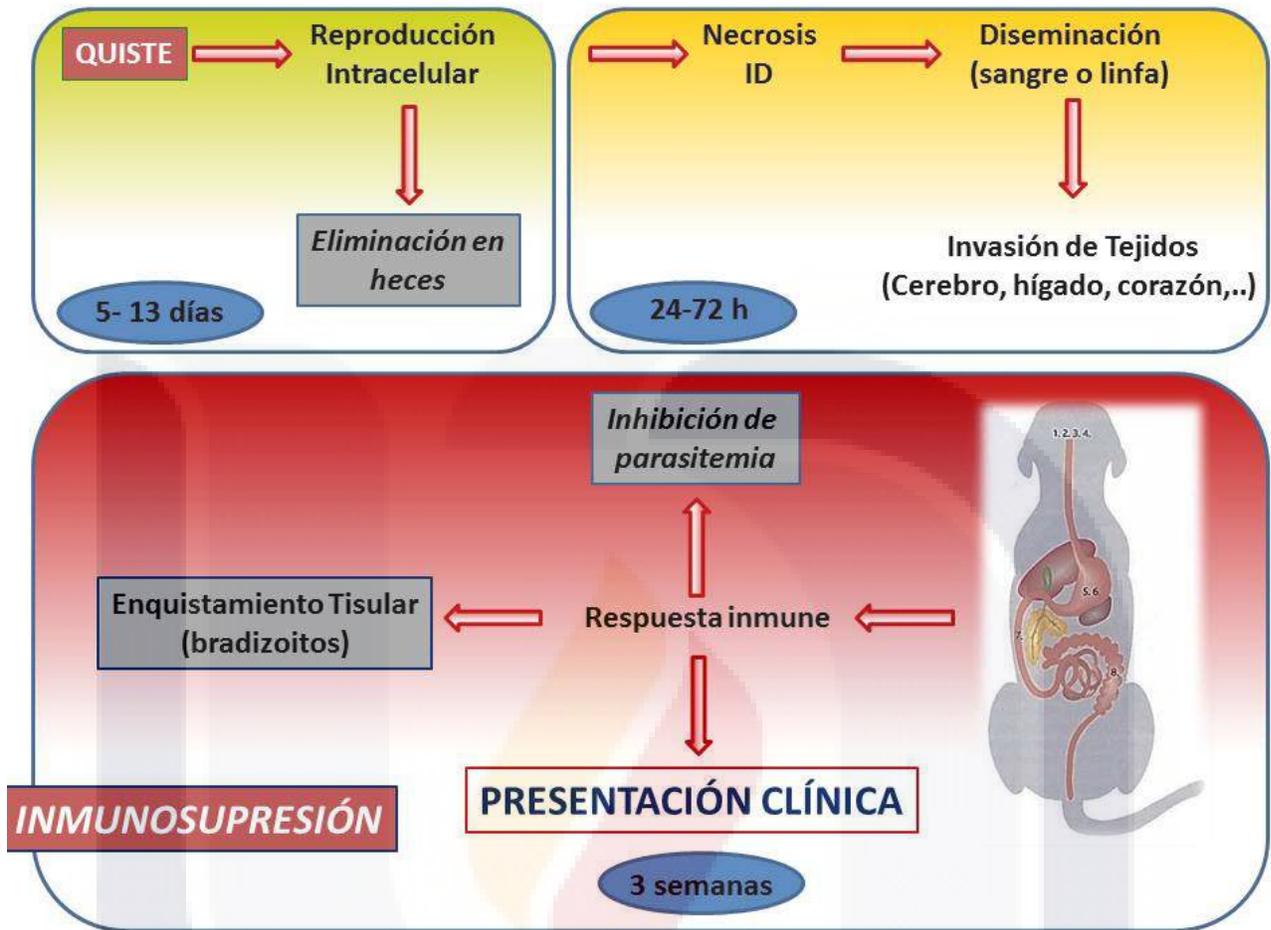


Figura 3. Patogénesis de la Neosporosis (Elaboración propia)

En el caso de la toxoplasmosis, el tipo y gravedad de la enfermedad clínica dependen del grado y localización del daño tisular. Los taquizoitos son las formas asexuales invasivas del parásito, y sólo pueden sobrevivir y reproducirse intracelularmente; todos los tipos celulares parecen ser susceptibles. La necrosis de la célula es causada por el propio desarrollo de toxoplasma dentro de ésta. En las infecciones contraídas luego de la ingestión de quistes u oocistos, las manifestaciones clínicas iniciales se deben a la necrosis del intestino y órganos linfáticos asociados causada por los taquizoitos.

Como parte de la respuesta inmunológica, en las secreciones intestinales aumentan los anticuerpos de clase IgA, específicos para los estadios enteroepiteliales de *T. gondii*, para dar fin a la fase de reproducción intestinal (Dubey, 2008).

El parásito también se propaga a órganos extraintestinales a través de la sangre o la linfa, y puede causar necrosis en muchos órganos. Los sitios comunes para la reproducción inicial y la persistencia crónica de la infección son el cerebro, hígado, pulmones, músculos esqueléticos y ojos. El resultado clínico está determinado por el grado de las lesiones en estos órganos, en especial en aquellos vitales como el corazón, pulmón, hígado y glándulas adrenales. A pesar de que las infecciones diseminadas agudas pueden ser fatales, el huésped por lo general se recupera. Alrededor de la tercera semana posinfección, los taquizoítos comienzan a desaparecer de los tejidos viscerales y pueden localizarse como quistes del tejido. Esta fase se asocia con una respuesta inmunológica sistémica que inhibe la parasitemia. Tales quistes pueden permanecer toda la vida en el huésped. (Hosseininejad *et al.*, 2009). También pueden romperse, con lo que los bradizoítos liberados podrían iniciar una recaída clínica si existe inmunosupresión. Se desconoce el mecanismo de reactivación. (Greene, 2006). La toxoplasmosis clínica en perros se ha asociado con la inmunosupresión inducida por un infección por Distemper canino (Aguar *et al.*, 2012).

Aunque los felinos son los hospederos definitivos de *T. gondii* y ha sido ligado a la infección por transmisión fecal, los perros son sospechosos de transportar *T. gondii*. El rol de los perros en la transmisión de *T. gondii* a los humanos se ha postulado en base a la observación que los perros ingieren, juegan o huelen las heces de gatos (Hosseininejad *et al.*, 2009).

La enfermedad de tipo neurológica causada por este protozooario es poco diagnosticada en perros. La toxoplasmosis es difícil de diagnosticar por su naturaleza ya que causa una alta infectividad y baja patogenicidad. Las manifestaciones neurológicas dependen del sitio de la lesión en el cerebro, cerebelo y médula espinal. Se han observado convulsiones, déficits del nervio craneal, temblores, ataxia, y paresia o parálisis. Los perros con miositis pueden presentar en un comienzo una marcha anormal, contracción muscular o rigidez. La paraparesia y tetraparesia pueden avanzar con rapidez hasta una parálisis de la neurona motora inferior (Hosseininejad y Malmasi, 2010).

Las anomalías respiratorias causadas por la toxoplasmosis pulmonar ha sido la presentación más común en perros y se ha asociado a la muerte neonatal en cachorros infectados. La toxoplasmosis puede causar miocarditis. De igual forma se han descrito manifestaciones oculares como uveítis, corio-retinitis y neuritis óptica, sin embargo los perros con reporte de signos oculares no reportan signos sistémicos de manera concurrente (Tarlow *et al.*, 2005).

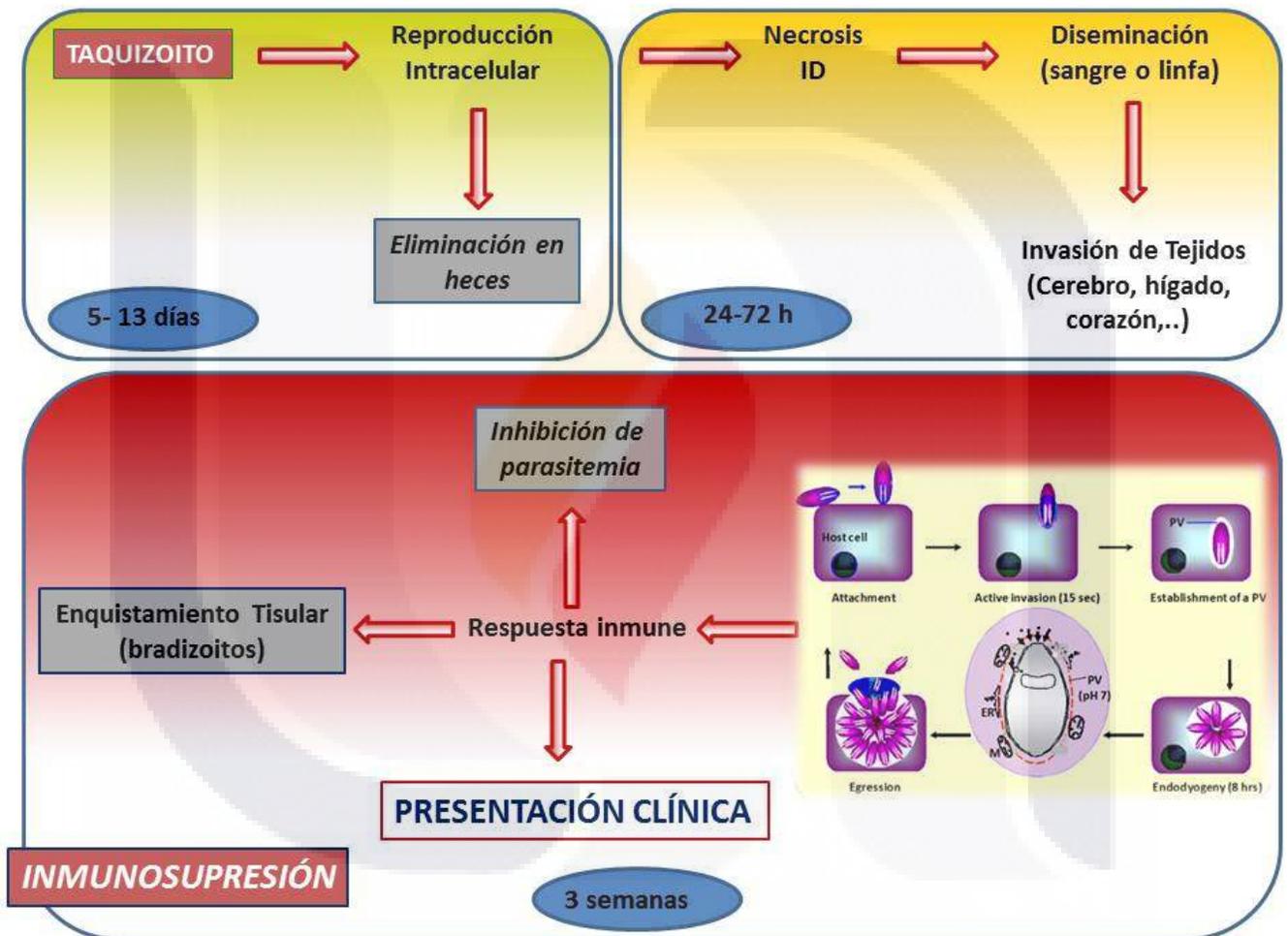


Figura 4. Patogénesis de la Toxoplasmosis (Elaboración propia)

En la Tabla 1 se muestra una breve comparación entre la Neosporosis y Toxoplasmosis como enfermedades.

Tabla 1. Descripción de características propias de Neosporosis y Toxoplasmosis

CARACTERÍSTICAS	NEOSPOROSIS	TOXOPLASMOSIS
Perro huésped definitivo	√	×
Gato huésped definitivo	×	√
Replicación del parásito enteroepitelial	√	√
Propagación sistémica	√	√
Enquistamiento	√	√
Excreción de oocisto	√	√
Ingestión por huéspedes intermediarios	√	√
Afección reproductiva en huéspedes intermediarios	√	√
Manifestaciones clínicas neurológicos	√	√
Manifestaciones clínicas respiratorios	√	√
Manifestaciones clínicas dermatológicos	√	×
Manifestaciones clínicas cardiacos	×	√
Manifestaciones clínicas gastrointestinales	×	√
Diagnóstico serológico	√	√
Tratamiento disponible	√	√
Enfermedad zoonótica	×	√

Nota: √ *Presencia*; × *Ausencia*. *Elaboración propia.*

Se cree que los perros infectados con el virus del moquillo canino son más susceptibles a desarrollar infecciones secundarias causadas por *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*, considerados como dos protozoarios neurotrópicos oportunistas (Aguar *et al.*, 2012)

1.1.5 Epidemiología

Se disponen de estudios sobre la prevalencia en oocistos de *N. caninum* en heces de perros, realizados únicamente en Costa Rica, Irán, Italia y España. La forma en cómo los perros se infectan de forma natural por *N. caninum* no es bien entendida, existe evidencia de que se pueden infectar después de ingerir tejido placentario de bovino infectado o bien de manera trasplacentaria. La prevalencia de edad indica que la mayor parte de los perros se infectan después del nacimiento, sin embargo se ha reportado una mayor prevalencia en perros viejos que en jóvenes (Dubey y Schares, 2011).

Dubey y colaboradores (2007) así como Dubey y Schares (2011), han reportado una seroprevalencia mundial de *N. caninum* en perros, ganado lechero y de carne, otros animales domésticos así como en animales silvestres y de zoológico. Se ha reportado mayor incidencia en perros del área rural que urbana.

Los métodos utilizado en reportes, indican se han realizado estudios de la prevalencia de anticuerpos contra *N. caninum* utilizando métodos diagnósticos diversos como; Neospora Agglutination Test (NAT), Immunofluorescence Antibody Test (IFAT), técnicas directas e indirectas de Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA), entre otros. Estos estudios se han realizado en su mayoría en perros del área rural y urbana, incluyendo muestreo en perros que se encuentran en establos de ganado lechero y de engorda de ganado. Pocos se han realizado en hospitales de referencia clínica por lo que se dispone de poca información de casos clínicos; en la tabla 2, se muestran datos de estudios diversos realizados en diversos países, se muestran seroprevalencias desde 0 hasta 100%.

Tabla 2. Prevalencia de anticuerpos anti-*N. caninum* en perros

País	Rango (%)	Autor
Alemania	4-13	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Algeria	6.6 – 44.4	Dubey <i>et al.</i> , 2011
Argentina	26.2 - 54.2	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Austrália	5 -14	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Áustria	2.1- 5.3	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Bélgica	9.7 - 46.4	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Brasil	0 - 67.7	Dubey <i>et al.</i> , 2007; Dubey <i>et al.</i> , 2011
Canadá	3.7	Dubey <i>et al.</i> , 2011
Chile	12.5 - 57	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Costa Rica	48.4	Palavicini <i>et al.</i> , 2007
Dinamarca	15.3	Dubey <i>et al.</i> , 2007
España	0 – 47.5	Dubey <i>et al.</i> , 2011; Regidor <i>et al.</i> , 2010
Estados Unidos*	5.8 – 16.6	Dubey <i>et al.</i> , 2007* Dubey <i>et al.</i> , 2007
Francia	22.7	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Granada	2	Dubey <i>et al.</i> , 2011
Hungría	1 - 6	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Índia	6.9 – 21.4	Dubey <i>et al.</i> , 2011
Irán*	10.3 – 32	Dubey <i>et al.</i> , 2007; Dubey <i>et al.</i> , 2011*; Hosseininejad y Malmasi, 2010
Islas Falklands	0.2	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Israel*	100	*Perl <i>et al.</i> , 1998
Itália	6.4 – 36.4	Dubey <i>et al.</i> , 2007; Dubey <i>et al.</i> , 2011
Japón*	7.1 - 31.3	Dubey <i>et al.</i> , 2007* Ishigaki <i>et al.</i> , 2012
Kenia	0	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Korea	8.3 - 21.6	Dubey <i>et al.</i> , 2007
México	2 - 51	Dubey <i>et al.</i> , 2007; Dubey <i>et al.</i> , 2011
Holanda	5.5 - 23.6	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Nueva Zelanda*	22 - 97.5	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Peru	5.2-14.8	Ruiz <i>et al.</i> ,2012 ; Dubey <i>et al.</i> , 2011
Polonia	16.3 - 21.7	Ploneczka y Mazurkiewicz,2008; Dubey <i>et al.</i> , 2011

Continuación...

Reino Unido	5.8 - 16.6	Dubey <i>et al.</i> , 2007
República Checa	0-19.2	Václavek <i>et al.</i> , 2007
Rumania	8.7 - 32.7	Gavrea <i>et al.</i> , 2012; Enachescu <i>et al.</i> , 2013
Senegal	17.9	Dubey <i>et al.</i> , 2011
Suécia	0.5	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Suiza	7.3 - 20	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Taiwan	23	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Tanzania	22	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Tailandia	1.2	Dubey <i>et al.</i> , 2007
Turquia	10.0 -28.9	Dubey <i>et al.</i> , 2007; Dubey <i>et al.</i> , 2011
Uruguay*	20.0	Dubey <i>et al.</i> , 2007*Delucchi, <i>et al.</i> , 2010

*** Reportes de casos clínicos y seroprevalencia**

Como se muestra en la tabla 2, la presencia de la *N. caninum* a nivel mundial tiene una seroprevalencia amplia en distintos países y conociendo la importancia tanto clínica como zootécnica de esta enfermedad fortalece la necesidad de continuar conociendo el comportamiento de este parásito a nivel mundial, sobre todo a nivel local.

Estudios clínicos de seroprevalencia se han realizado a nivel mundial, la tabla 3, muestra el comportamiento de éste parásito en algunos hospitales y centros antirrábicos a nivel mundial.

Tabla 3. Seroprevalencia de estudios clínicos realizados por otros autores ante *N. caninum*

Autor	Año	Seroprevalencia (%)	País
Sánchez <i>et al.</i>	2003	35	México
Azevedo <i>et al.</i>	2005	8.4	Brasil
Paradies <i>et al.</i>	2007	20.9	Italia
Václavek <i>et al.</i>	2007	36.5	República Checa
Aguiar <i>et al.</i>	2012	28.3	Brasil
Cruz <i>et al.</i>	2008	32	Mexico
Ploneczka y Mazurkiewicz	2008	16.3	Polonia
Hosseininejad <i>et al.</i>	2010	31.2	Irán
Regidor <i>et al.</i>	2010	43.6	España
Gozdzik <i>et al.</i>	2011	21.7	Polonia
Hosseininejad y Hosseini	2011	29	Irán
Junior <i>et al.</i>	2011	12.3	Brasil
Sharifdini <i>et al.</i>	2011	30.4	Irán
Gavrea <i>et al.</i>	2012	32.7	Rumania
Lopes <i>et al.</i>	2012	9.2	Angola
Enachescu <i>et al.</i>	2013	12.9	Rumania
Dantas <i>et al.</i>	2014	7.5	Brasil

Los estudios sobre *Toxoplasma gondii* en perros ha mostrado una distribución mundial en muchas especies incluyendo el humano (Ming Wu y col., 2011). Por su alto potencial zoonótico y las repercusiones económicas en la producción animal y puesto que el perro juega un papel importante en su transmisión se han realizado diversos estudios para saber la prevalencia de éste parásito a nivel mundial utilizando igualmente diversos métodos diagnósticos (tabla 4), tales como y técnicas de ELISA. MAT: Modified Agglutination Test, IHA: Indirect haenagglutination, LAT: Latex Agglutination Test, SFDT: Sabiin Feldman Dye Test, (Jittapalpong *et al.*, 2007).

Tabla 4. Prevalencia de anticuerpos contra *T.gondii* en perros

País	Rango (%)	Autor/año
Australia*	100	Al-Qassab <i>et al.</i> , 2009
Austria	26	Dubey, 2008
Angola	15.5	Lopes <i>et al.</i> , 2014
Brasil	21.08 - 57.6	Fridlund <i>et al.</i> , 2011; Langoni <i>et al.</i> , 2012
China	6 - 40.3	Ming <i>et al.</i> , 2011; Lin <i>et al.</i> , 2013
Colombia	16.8	Dubey, 2008
Grenada	48.5	Dubey, 2008
Irán	10.1 - 26.8	Hosseininejad y Hosseini, 2011; Khanmohammadi y Ganji, 2012.
México	51.5-67.3	Dubey <i>et al.</i> , 2007; Alvarado <i>et al.</i> , 2014
Pakistán	46.8	Jadoon <i>et al.</i> , 2009
Perú	24	Ruiz <i>et al.</i> , 2012
República Checa	63	Dubey, 2008
Romania	50	Enachescu <i>et al.</i> , 2013.
Tailandia	9.4	Jittapalpong <i>et al.</i> , 2007
Taiwán	24.6	Dubey, 2008
Trinidad y Tobago	30.2	Ali <i>et al.</i> , 2003
Turquía	92	Kilic <i>et al.</i> , 2008
Sri Lanka	67.4	Dubey, 2008
USA*	100	Tarlow <i>et al.</i> , 2005

*** Reportes de casos clínicos y seroprevalencia.**

La Toxoplasmosis en comparación con la Neosporosis no ha sido tan estudiada en cuanto a seroprevalencia en los caninos, sí en otras especies y en humanos por su potencial zoonótico, sin embargo conocer la situación de nuestro país y de Aguascalientes es de suma importancia debido a los riesgos que puede llegar a generar esta enfermedad.

La seroprevalencia en varias partes del mundo sugiere que los perros de diferentes regiones, tanto de áreas rurales y urbanas, tiene riesgos de infecciones por parásitos como *N. caninum* y *T. gondii* (Dantas-Torres y Otranto 2014). En varios países se han realizado estudio seroepidemiológicos de *T. gondii* y *N. caninum* a nivel

hospitalario para conocer la seroprevalencia de los pacientes que se atienden, por ejemplo, Azevedo *et al.*, (2004) realizaron un estudio en Brasil con 286 muestras de perros utilizando la prueba de inmunofluorescencia indirecta, obteniendo prevalencias de 45.1% para toxoplasmosis y 8.4% para Neosporosis. Otro estudio realizado por Junior (2011) en el mismo país con la misma prueba, pero con 400 muestras, arrojaron resultados de 12.3% de presentación de anticuerpos anti-*N. caninum*.

En el sureste de Rumania en el 2013, Enachescu *et al.*, en un estudio con 92 muestras mediante una prueba de ELISA obtuvieron una prevalencia de 8.7% para Neosporosis y 50% para Toxoplasmosis. Sharma *et al.*, (2014) realizaron un estudio en la India, en busca de Toxoplasmosis con 652 muestras utilizando el método de ELISA obteniendo una prevalencia del 33.4 % de seropositividad ante ésta enfermedad.

Los estudios realizados en pacientes con manifestaciones clínicas han sido realizados en América del sur; Mineo y su grupo (2001) realizaron pruebas mediante IFAT y ELISA en 163 pacientes caninos para conocer la seropositividad de éstas enfermedades encontrando seropositividad de 36% para *T. gondii* y 6.7% ante *N. caninum*. Fridlund *et al.*, (2011) realizaron un estudio similar con 147 pacientes usando IFI obteniendo 11.56% y 21.08% de seropositividad ante *N. caninum* y *T. gondii* respectivamente. En el 2012, Langoni y sus colaboradores determinaron la seroprevalencia de ambas enfermedades en 50 perros obteniendo 22% de seropositividad para toxoplasmosis y 14% para Neosporosis, mediante el uso de IFI y PCR. En ese mismo año Ruiz y su grupo, realizaron en Lima un estudio de casos y controles con 96 y 120 muestras respectivamente utilizando la prueba de IFI, obteniendo una frecuencia de $24.0 \pm 8.5\%$ y de 3.3 ± 3.1 para perros con y sin afecciones neuromusculares ante *T. gondii*, respectivamente, y para *N. caninum* fue de 5.2 ± 4.4 y de 1.7 ± 2.5 para perros con y sin afecciones neuromusculares, respectivamente.

1.1.6 Diagnóstico

1.1.6.1 Hallazgos de laboratorio clínico

La aproximación diagnóstica clínica de la Neosporosis y Toxoplasmosis puede lograrse mediante un conjunto de análisis tales como el hemograma y la química sanguínea. En la Neosporosis los hallazgos hematológicos y bioquímicos resultan variables y dependen del sistema de órgano afectado. Con la enfermedad muscular, se ha observado aumento en las actividades de la creatinina quinasa (CK) o de la aspartato amino transferasa (AST).

Los perros con inflamación hepática tienen un incremento de las actividades de la alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (FA) en suero. Los trastornos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) incluyen aumento leve en las concentraciones de proteínas (mayor a 20 y menor a 150 mg/dL) y de células nucleadas (más de 10 y menos de 100 células/dL). El recuento diferencial de leucocitos, incluye, en números decrecientes, linfocitos, monocitos macrófagos, neutrófilos y eosinófilos. Los resultados del LCR pueden encontrarse normal en algunos perros. (Willard y Tvedten, 2004). Estos análisis aportan información importante para saber conocer el estado de salud del animal, sin embargo por sí solos no dan un diagnóstico definitivo.

En gatos y perros con toxoplasmosis sistémica aguda, los parámetros bioquímicos y hematológicos de rutina pueden resultar con alteraciones patológicas. Se observa con frecuencia la presencia de una anemia no regenerativa, leucocitosis neutrofílica, linfocitosis, monocitosis y eosinofilia, Los trastornos bioquímicos durante la fase aguda de la enfermedad incluyen hipoproteinemia e hipoalbuminemia. En algunos animales con necrosis muscular y hepática aguda, se advirtió un aumento marcado en la actividad sérica de ALT y AST. La actividad de la creatinina cinasa en suero tiene un incremento en los casos en que se desarrolle necrosis muscular y los niveles de bilirrubina, se incrementan en animales con necrosis hepática aguda (Willard y Tvedten, 2004).

De manera general se recomienda realizar siempre estudios integrales que en definitiva contribuirán a saber el estado general del paciente.

1.1.6.2 Citología

Los taquizoitos de *N. caninum* pueden detectarse en los aspirados y frotis de cualquier tejido o líquido del cuerpo. Estas reacciones cruzadas con *T.gondii* pueden detectarse en el líquido cefalorraquídeo (LCR) o los aspirados o biopsias del tejido de algunos perros mediante la inmunotinción, así como en los frotis sanguíneos de sangre con cualquier coloración. Se han desarrollado métodos diagnósticos mediante anticuerpos monoclonales para la tinción histoquímica, que permite reconocer los diferentes organismos. La biopsia del músculo afectado puede llevar a un diagnóstico definitivo cuando se detecta el parásito. Los taquizoitos pueden visualizarse en los tejidos, líquido o muestras citopatológicas (Greene, 2006).

Durante la enfermedad aguda de la toxoplasmosis, la citología permite detectar taquizoitos en varios tejidos y fluidos del cuerpo. En raras oportunidades se los puede

encontrar en la sangre, LCR, aspiraciones con aguja fina y lavajes transtraqueales o broncoalveolares, no obstante, son más comunes en los líquidos torácicos y peritoneales de los animales que desarrollan efusiones torácicas o ascitis. En estos líquidos corporales se suelen observar cambios inflamatorios. (Greene, 2006). Si existe sospecha de la presencia de alguno de estos dos parásitos la citología podría ser considerada como una herramienta diagnóstica, sin embargo se necesita experiencia por parte del patólogo que examina la muestra así como de la experiencia del clínico en tomar una muestra del lugar correcto de la manera apropiada debido a la propagación multisistémica de estas enfermedades.

1.1.6.3 Radiología

En la toxoplasmosis, los hallazgos de las radiografías torácicas, consisten en un patrón difuso intersticial o alveolar, con una distribución lobular moteada. En animales con afección grave se advirtió un aumento en la densidad homogénea simétrica difusa, pudiera observarse efusión pleural leve. Las radiografías abdominales pueden mostrar masas en el intestino o en los ganglios linfáticos mesentéricos, o mayor densidad homogénea como resultado de una efusión. La falta de contraste en el cuadrante abdominal derecho puede indicar pancreatitis. Los cambios ecográficos abdominales pueden incluir agrandamiento del tejido o de un órgano como consecuencia de la inflamación o de la formación de granulomas. Las lesiones dentro del SNC pueden detectarse mediante mielografía, tomografía computarizada o resonancia magnética (Schwarz y Johnson, 2008). Si se presentan signos respiratorios los hallazgos radiográficos encontrados nos aportará información específica a nivel torácico pero no nos permitirá conocer la etiología de la enfermedad. Utilizar herramientas de imagen diagnóstica ayudará al clínico a conocer la situación del paciente, sin embargo por ser una enfermedad no diagnosticada frecuente, aun existiendo cambios radiográficos encontrados por el clínico no dará el diagnóstico definitivo, pero sí ampliaría las posibilidades de causas patológicas de enfermedad.

1.1.6.4 Examen fecal

En las heces caninas, los oocistos de *N. caninum* son morfológicamente muy similares a los de *Hammondia heydorni*. La diferencia entre estas dos especies se ha determinado mediante el análisis crítico de personal experto en el área. Puede haber reacciones

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

inmunológicas cruzadas entre otros parásitos y los de *N. caninum*. A pesar de la alta prevalencia de los anticuerpos séricos especialmente en gatos en todo el mundo, la de oocistos de *T. gondii* en las heces es baja. Dado que la eliminación de oocistos ocurre 1 o 2 semanas después de la primera exposición, resulta muy poco frecuente detectar oocistos en el examen fecal de rutina. Debido a su parecido con *Hammondia hammondini*, *Besnoitia orcytofelis* *Hammondia hammondini*, *Besnoitia orcytofelis* y *Besnoitia darlingi* su diferenciación ocupa un examen molecular (Razmi, 2009). A pesar de que el examen coproparasitoscópico es una prueba de fácil realización y que puede ser realizada dentro de un consultorio clínico, la escasa o nula práctica para diferenciar éste tipo de parásitos resulta ser un trabajo especializado para un médico general; no obstante un patólogo e incluso un parasitólogo podrían realizar la identificación de estos parásitos.

1.1.6.5 Pruebas serológicas

La demostración de los anticuerpos para *N. caninum* y *T. gondii* en suero puede colaborar en el diagnóstico de la neosporosis. Los ensayos han incluido prueba de anticuerpos IFAT, ELISA y PCR, entre otras (Dubey y Schares, 2011).

Una vez infectados, los animales albergan los quistes tisulares durante toda la vida, lo cual estimula una respuesta inmunológica humoral a largo plazo. Los estudios serológicos indican que las infecciones con *T. gondii* prevalecen en todo el mundo. La seroprevalencia de seropositividad aumenta con la edad del animal, debido a la posibilidad de exposición más que a la susceptibilidad. Se han utilizado múltiples pruebas serológicas para la detección de anticuerpos en el diagnóstico de la toxoplasmosis (Nelson y Couto, 2010).

Se dispone de pruebas en las cuales el observador juzga el color de los taquizoítos al microscopio, tal como sucede con la prueba de tinción (DT) y la prueba IFAT. Otra prueba depende del principio de aglutinación de taquizoítos de *Toxoplasma*, glóbulos rojos o partículas de látex, como sucede con la prueba de aglutinación directa (PAD), Hemaglutinación indirecta (IHA) y la prueba de aglutinación en látex (LAT), respectivamente. Con el ELISA, el cambio en la intensidad de color define la cantidad de anticuerpo específico en una solución dada (Dubey, 2008).

Para los ensayos de IFAT, se busca la reacción del suero mediante el cultivo celular de *N. caninum*. Los resultados de esta prueba pueden variar entre los laboratorios; no obstante, en uno de los laboratorios de referencia, los valores de 1:50 o más se

consideran positivos y por lo general llegan a 1:800. Pueden encontrarse títulos positivos en perros con exposición previa, que pueden estar infectados pero suelen permanecer asintomáticos, con valores de 1:800 o más durante años. Los títulos de IgG en la prueba de IFAT en la mayoría de las especies aumentan 1 o 2 semanas luego de la infección. Los resultados más elevados, se obtuvieron en perros con infección clínica en comparación con aquellos con infección subclínica, y en los animales cuya enfermedad fue más prolongada. Sin embargo, no se ha detectado ninguna correlación entre la magnitud de los títulos y las manifestaciones clínicas (Devens, 2010).

Los valores parecieran tener una alta especificidad en diluciones de sueros mayores; en ocasiones los animales con infección confirmada post histología, presentan títulos bajos. Los anticuerpos maternos pueden pasarse desde la madre a la cría, lo cual ocasiona resultados falsos positivos; sin embargo, estos niveles desaparecen en los perros sin infección a los 32 días de vida (Dubey *et al.*, 2007).

La prueba IFAT es un método simple y se utiliza ampliamente. Los taquizoitos intactos y muertos de *Toxoplasma* se incuban con el suero problema diluido, se añade el antisuero específico anti especie fluorescente apropiado, y el resultado se visualiza entonces con un microscopio de fluorescencia. Se dispone de anticuerpos marcados con fluorescencia para una variedad de especies animales; el método es relativamente económico y se encuentran disponibles los kits adecuados. Sin embargo, el método requiere un microscopio de fluorescencia y como los datos son interpretados visualmente, se pueden producir variaciones subjetivas. Puede resultar difícil encontrar algunos conjugados específicos de las especies y existe riesgo de una posible reacción cruzada con anticuerpos frente al factor reumatoide y con anticuerpos antinucleares (Dubey, 2008).

La prueba llamada Test de Aglutinación Modificado (MAT) que tiene un principio de acción similar al IFAT, ésta prueba acorde a un estudio realizado por Macrí, *et al.*, (2009) tiene una buena confiabilidad comparada con la prueba de IFAT para detectar pacientes caninos seropositivos.

Los métodos de ELISA para detectar los anticuerpos *N.caninum*, consisten en una prueba directa de aglutinación que mide la IgG y es tan sensible y específica como la prueba IFAT, con la ventaja de su utilidad dentro de una variedad de huéspedes. Los anticuerpos de *T. gondii* no presentan reacción cruzada con *N. caninum* en diluciones de

1:50 o menos; por lo tanto los títulos de anticuerpos en suero o LCR ante *T. gondii* en perros infectados con Neospora dan negativos (Devens, 2010).

La técnica original ELISA utiliza una preparación de antígeno soluble realizada con taquizoítos de la cepa de *Toxoplasma* y se coloca en pocillos de una placa de microtitulación. Se añaden los sueros problema, seguido de un conjugado anti-especie marcado con un enzima como puede ser IgG anti-ovina marcada con peroxidasa de rábano. Cualquier conjugado adherido causa un cambio de color en el sustrato que es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo unido y puede ser leído con un espectrofotómetro a la absorbancia específica del sustrato empleado. La técnica es simple, permite ensayar un gran número de muestras y es fácil de realizar con el conjugado anti-especie elegido. Se dispone comercialmente de conjugados anti-especies, sustratos y kits completos. Sin embargo la técnica requiere un espectrofotómetro (Dubey, 2008).

Las pruebas de ELISA permiten una sensibilidad y especificidad diagnóstica y son usadas para grandes cantidades de muestras. La mayoría han sido desarrolladas para el serodiagnóstico de ambas enfermedades con antígenos de superficie inmunodominantes en pruebas de ELISA (Hosseininejad *et al.*, 2010).

La prueba PAD es sensible y específica. Se añaden taquizoítos formalinizados de *Toxoplasma* a pocillos con forma de U de placas de microtitulación y se aplican las diluciones de los sueros problema. Las muestras positivas producirán aglutinación que puede ser variable, mientras que las muestras negativas producirán un botón de taquizoítos sedimentados en el fondo del pocillo. La prueba es simple y fácil de realizar aunque se requieren cantidades relativamente grandes de antígenos. Se dispone de kits comerciales (Dubey, 2008).

Las pruebas de aglutinación tienen la ventaja de ser independientes de la especie, y están disponibles en kits comerciales. La IHA no requiere antígeno vivo, pero tiene menor sensibilidad que la de tinción, la IFAT y ELISA. La prueba de aglutinación en látex es en cierto modo más sensible para la evaluación serológica, sin embargo, no puede utilizarse para distinguir tipos de inmunoglobulinas. La prueba de aglutinación modificada (PAM) detecta solo IgG, pero tiene sensibilidad extrema en comparación con otros estudios disponibles (Hosseininejad *et al.*, 2009).

Recientemente se ha elaborado una PCR en tiempo real para la cuantificación y amplificación de ADN. Es muy parecida a otros métodos PCR en uso y puede realizarse

en placas de microtitulación de 96 pocillos. Tras cada ronda de amplificación, los tintes fluorogénicos se intercalan con el ADN bicatenario y los resultados, mostrados en una representación gráfica de la amplificación, permiten la cuantificación del ADN del parásito de la muestra. Se ha utilizado la PCR en tiempo real para amplificar y cuantificar el ADN del gen B1 de *T. gondii*. Esta cuantificación del ADN del parásito puede utilizarse para establecer el número de parásitos en los tejidos y los líquidos, tales como el líquido amniótico de pacientes sospechosos de infección congénita por *T. gondii*. La PCR en tiempo real es un método muy sensible y específico; no obstante es caro y requiere sistemas de detección especializados, por lo que la relación precio/coste solo se justifica si se utiliza en laboratorios en los que se analizan grandes cantidades de muestras (Greene, 2006).

En el caso de *N. caninum* se ha usado la amplificación del locus Nc5 (Galmhi *et al.*, 2008). Las diversas pruebas serológicas podrán ser seleccionadas y utilizadas de acuerdo al tipo de estudio, recursos financieros disponibles, así las ventajas y desventajas entre ellas. Como se mencionó algunas son mayormente realizadas por la ventaja de realizar estudios epidemiológicos, sin embargo es importante recalcar que actualmente ya están disponibles kits individuales para detectar antígenos o bien anticuerpos que podrían ser utilizados de manera rutinaria en la clínica diaria (Greene, 2006).

Para nuestro estudio se decidió optar por la prueba de ELISA indirecta debido a los beneficios que ésta ofrece como rapidez, posibilidad de realizar desde 1 hasta más de 40 pruebas a la vez, sencilla interpretación y no se necesita de un gran equipo tecnológico sofisticado sino de aparatos que pueden ser comunes encontrarlos en los diferentes laboratorios de la mayoría de las universidades. Además, los costos que estas pruebas tienen las hace más asequibles para estudios epidemiológicos en un ámbito clínico.

1.1.7 Tratamiento

Aunque muchos perros mueren por Neosporosis, algunos han sobrevivido con un tratamiento inicial a base de trimetoprim-sulfonamida o combinado con pirimetamina, en algunos casos se ha dado tratamiento secuencial con clorhidrato de clindamicina o clindamicina sola. Unos cuarenta principios activos han sido probados sobre cultivo celular como el trimetoprim y algunos ionóforos como el lasalocid y monensina. Las valoraciones *in vitro* demuestran actividad de macrólidos (azitromicina, claritromicina y eritromicina), tetraciclinas (doxiciclina y minociclina) y lincosamidas (clindamicina). Para el

tratamiento de la neosporosis canina se han administrado clindamicina (11 a 32 mg/kg dos a tres veces al día), asociación sulfatrimetropin (15 mg/kg dos veces al día por 4 a 6 semanas (Dubey *et al.*, 2002). En un estudio reciente con cachorros Beagle infestados de forma natural, al administración de clindamicina (75 mg/cachorro a las 9 semanas de edad vía oral cada 12 horas y posteriormente se duplicó la dosis a las 13 semanas durante 6 meses) disminuyeron las manifestaciones clínicas de enfermedad, pero no eliminó la infección (Dubey y *col.*, 2007b). La tabla 5, muestra, de manera sintética, tratamientos establecidos y usados comúnmente para tratar la Neosporosis en perros.

Tabla 5. Tratamientos utilizados para la Neosporosis

Fármaco	Dosis (mg/kg)	Vía	Frecuencia (h)	Duración (Semanas)
Clindamicina	7.5 a 15	Oral o	8	4 a 8
	15 a 22	Subcutánea	12	
Sulfadimetoxina/Ormetoprima	1	Oral o	24	2 a 4
		Subcutánea		
Trimetoprima-sulfametaxol	15 a 20	Oral	12	4 a 8
	10 a 15	Oral	8	4 a 8

Greene, 2006.

En el caso de la toxoplasmosis los fármacos disponibles por lo general suprimen la reproducción de *T. gondii*, pero no son del todo eficaces en la exterminación del parásito. La clindamicina es el fármaco de elección para el tratamiento de la toxoplasmosis clínica en perros y gatos. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad por lo general comienzan a resolverse a las 24 o 48 horas de iniciado el tratamiento. El apetito mejora, desaparece la hiperestesia. Los déficits de neurona motora inferior y atrofia muscular pueden tardar semanas en mostrar mejoría. Los déficits neurológicos pueden no resolverse por completo, debido al daño permanente causado por la inflamación del SNC. La combinación de pirimetamina con sulfonamidas de rápida acción como la sulfadicina, sulfametacina, sulfameracina y combinaciones de tres sulfas, mostraron un efecto sinérgico en el tratamiento de toxoplasmosis sistémicas (Nelson y Couto, 2010). La tabla 6 muestra los tratamientos utilizadas para la toxoplasmosis en perros.

Tabla 6. Tratamiento para la Toxoplasmosis

Fármaco	Dosis (mg/kg)	Vía	Frecuencia (h)	Duración (semanas)
Clindamicina	3 a 13 10 a 20 30	Oral,	8	4
		Intramuscular	12	4
		Oral,	12	4
		Intramuscular		
Sulfadimetoxina/ Ormetoprima	0.25-0.5	Oral	12	4
Trimetoprima-sulfametaxol	15	Oral	12	4

Greene, 2006.

1.1.8 Prevención

En la Neosporosis, se ha detectado un enlace epidemiológico entre perros y ganado vacuno, por lo que se ha de disminuir al máximo la contaminación fecal de perros en piensos de ganado, y no se debe permitir a los perros que ingieran placentas de bovinos. El consumo de carne cruda es un factor de riesgo para los perros y debe ser evitado (Reichel *et al.*, 2007). El comportamiento de caza en perros ha de ser restringido en la medida de lo posible. Las perras que paran cachorros afectados no deberían reproducirse. No se han de administrar glucocorticoides a animales seropositivos, ya que existe un riesgo potencial de activación de la infección (Tarlow *et al.*, 2005).

La prevención de la toxoplasmosis en perros y gatos involucra medidas para intentar reducir la incidencia de infecciones felinas y la posterior diseminación de oocistos en el medio ambiente. Se debe evitar que las mascotas domésticas salgan a cazar o ingieran huéspedes intermediarios potenciales o vectores mecánicos, tales como cucarachas, lombrices de tierra y roedores. Si se les da carne, ésta debe estar perfectamente cocida (Nelson y Couto, 2010).

1.1.9 Consideraciones de salud pública

Se dispone de varios reportes de estudios epidemiológicos en busca de anticuerpos contra *N. caninum* en poblaciones humanas con resultados con seroprevalencias desde 6.7 hasta 72% (Petersen, *et al.*, 1999; Tranas, *et al.*; 1999 y Labato *et al.*, 2006. Sin embargo, el microorganismo no se ha aislado a partir de tejidos humanos, por lo que el potencial zoonótico está aún por demostrar (Dubey *et al.*, 2007a). Al ser los perros el huésped definitivo de éste parásito, continuar en búsqueda actualizada sobre la

seroprevalencia en nuestro estado aportará información clínica sabiendo la importancia del rol que juegan los caninos en la transmisión de ésta enfermedad.

En contra parte, para todo el mundo, cerca de 500 millones de personas tienen anticuerpos de *T.gondii* (Dubey, 2008). Dependiendo de la región geográfica se estima que entre un 15 y un 85% de la población humana se encuentra asintóticamente infectada. Se reporta una seroprevalencia hasta del 75.4% en países como Nigeria. Los seres humanos se infectan al ingerir quistes viables de la carne cruda o mal cocida, u oocistos eliminados en las heces de un gato con infección reciente. Las infecciones inducidas por oocistos en personas pueden ser más graves que aquellos productos de la ingestión de quistes del tejido (Dubie, *et al.*, 2014).

Los brotes transmitidos por el agua pueden ocurrir en forma esporádica al contaminarse las fuentes de agua con heces de gatos domésticos o salvajes. La infección transplacentaria de los fetos ocurre a partir de la propagación de los taquizoitos cuando una mujer embarazada se infecta por primera vez. La supervivencia de los oocistos es un determinante de importancia para la distribución y mantenimiento de la enfermedad en la naturaleza (Greene, 2006).

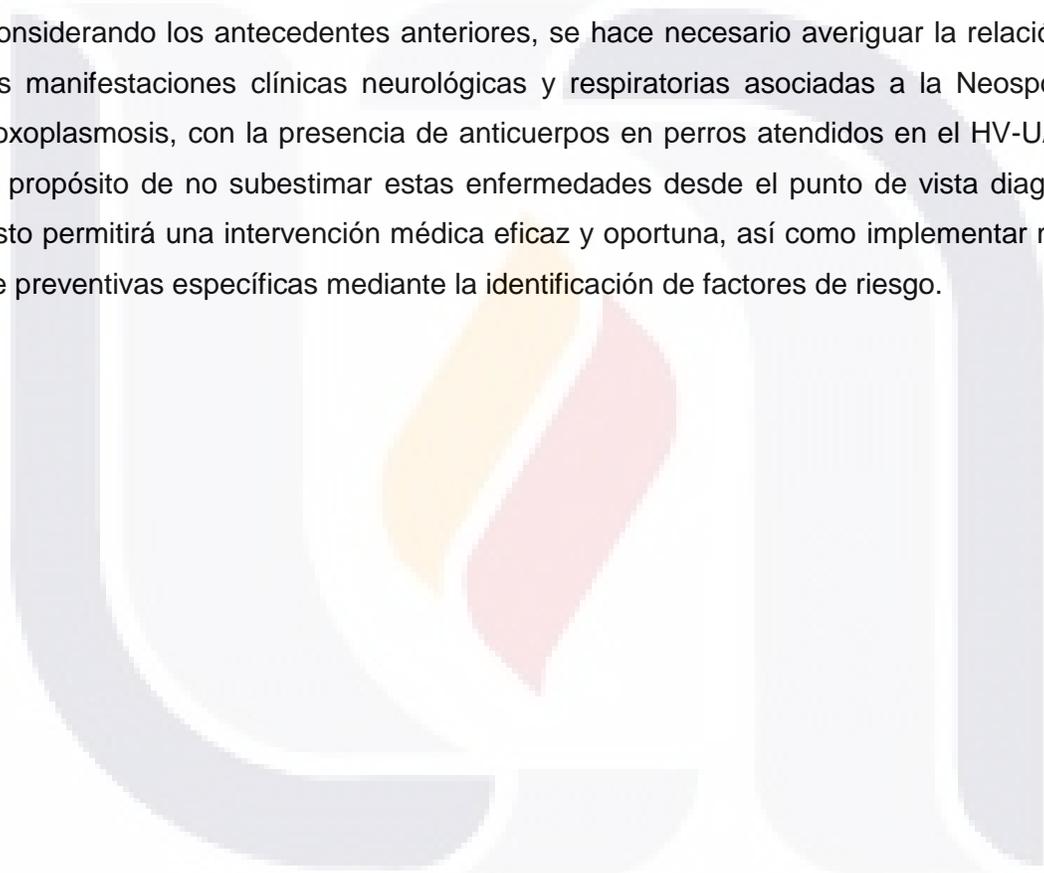
Los oocistos, esparcidos por los gatos, contaminan el medio ambiente y son ingeridos por los animales herbívoros, que luego infectan a los carnívoros de los siguientes eslabones de la cadena alimentaria. Los oocistos esporulados pueden sobrevivir hasta 18 meses en condiciones climáticas no favorables y son resistentes ante la mayoría de los desinfectantes. Los perros que comen heces de gato pueden actuar como vectores de transporte para oocistos esporulados, dado que los esparcirán en las heces durante 2 días después de haberlos ingeridos. Si bien los oocistos resultan claves en la epidemiología de la toxoplasmosis, en la mayoría de los estudios no se detectó ninguna correlación directa entre la toxoplasmosis y la tenencia de gatos (Greene, 2006).

Se ha reportado toxoplasma en comida animal en muchos países indicando la significancia de comida animal en la epidemiología de la Toxoplasmosis, en el 2013 Lin y colaboradores realizaron un estudio mediante PCR en el cuál no solo evaluaron suero de diferentes animales, sino órganos que son ingeridos de manera común en la alimentación diaria de algunas con lo que se corrobora que las personas pueden contagiarse mediante la ingestión de alimentos.

En otro estudio realizado en Francia en el año 2008 por Robert y Klein mencionan que la presencia de anticuerpos ante *N. caninum* en pacientes en buen estado de salud

es prácticamente imposible, sin embargo comentan que en pacientes inmunocomprometidos con enfermedades como el Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) la presencia de anticuerpos puede hacer suponer la presencia del parásito en el huésped humano. En éste mismo estudio se observó reacción cruzada entre *N. caninum* y *T. gondii* de antígenos homólogos, lo que sugiere una estimulación del sistema inmune de tipo policlonal por lo que al tener una sospecha de alguna de estas enfermedades es de vital importancia la elección de una prueba adecuada.

Considerando los antecedentes anteriores, se hace necesario averiguar la relación entre las manifestaciones clínicas neurológicas y respiratorias asociadas a la Neosporosis y Toxoplasmosis, con la presencia de anticuerpos en perros atendidos en el HV-UAA, con el propósito de no subestimar estas enfermedades desde el punto de vista diagnóstico. Esto permitirá una intervención médica eficaz y oportuna, así como implementar medidas de preventivas específicas mediante la identificación de factores de riesgo.



2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS

Las manifestaciones clínicas de enfermedad neurológica y respiratoria en los caninos se asocian a la presencia de anticuerpos anti *Neospora caninum* y anti *Toxoplasma gondii*.

2.2 OBJETIVO GENERAL

Determinar la asociación entre manifestaciones clínicas neurológicas y respiratorias en perros con la presencia de anticuerpos anti *Neospora caninum* o *Toxoplasma gondii*, para proponer intervenciones médicas eficaces y oportunas.

2.2.1 Objetivos específicos

2.2.1.1 Detectar la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en pacientes atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes que presenten manifestaciones clínicas compatibles con daños neurológico y respiratorio.

2.2.1.2 Detectar la presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en pacientes atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes que presenten manifestaciones clínicas compatibles con daños neurológico y respiratorio.

2.2.1.3 Correlacionar la presencia de los anticuerpos contra *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* en pacientes con manifestaciones clínicas neurológica y respiratoria con factores de riesgo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Sitio de estudio

El estudio se realizó en la ciudad de Aguascalientes, localizada en las siguientes coordenadas geográficas: al Norte 22° 27'; al Sur 21° 38' de latitud norte; al este 101° 53' y al oeste 102°52' de longitud oeste. El tipo de clima es de carácter semiseco, se le denomina también seco estepario, se caracteriza porque en él la evaporación excede a la precipitación, y está asociado principalmente a comunidades vegetativas del tipo de matorral desértico y vegetación xerófila. Se localiza en casi todo el estado cubriendo aproximadamente el 86.30% de la superficie (Figura 5).



Figura 5. Sitio de estudio. Tomado de. <http://maps.google.com.mx/>

La lluvia media anual oscila entre los 500 y los 600 mm y la temperatura media anual es superior a los 18°C. La máxima ocurrencia de lluvias oscila entre los 110 y 120 mm, registrándose en el mes de junio. La mínima se presenta en el mes de marzo con un rango menor de 5 mm. El régimen térmico más cálido se registra en mayo con una temperatura entre los 22 y los 23°C, siendo el mes más frío enero con una temperatura de 13 a 14°C, la altitud de la ciudad capital es de 1870 metros.

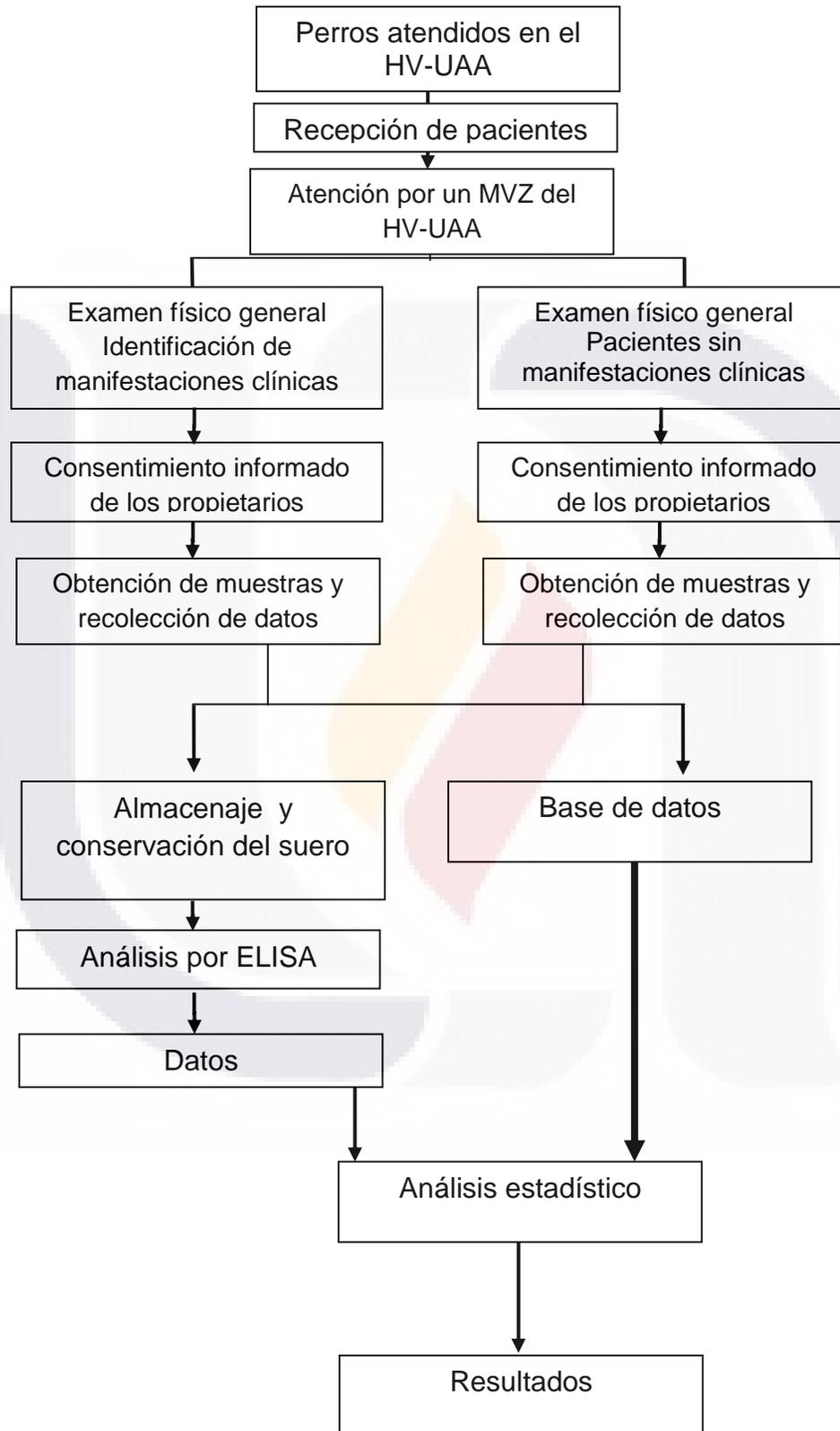
El estudio se realizó en el HV-UAA, ubicado en la calle Guadalupe González número 603, colonia Ciudad, Universitaria. Figura 6.



Figura 6. Hospital Veterinario. Universidad Autónoma de Aguascalientes (HV-UAA)

El HV-UAA es un hospital de referencia a nivel estatal. Durante el estudio el HV-UAA recibió un aproximado de 3141 pacientes tanto de la ciudad capital como de municipios del estado, 1073 fueron pacientes de medicina interna. Al ser una de las clínicas más reconocidas del estado que cuenta con una amplia infraestructura arriban a ella pacientes de todo tipo, teniendo en cuenta que la población canina de Aguascalientes se reparte en los diferentes municipios del estado un aproximado del 30% del total de la entidad de Aguascalientes son atendidos en el HV-UAA. El 96% de los pacientes muestreados fueron procedentes de la capital de Aguascalientes, el 4% restante del municipio de Pabellón de Arteaga.

3.2. DISEÑO GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN



3.2.1. Tipo de estudio y selección de perros

Para probar la hipótesis y cumplir los objetivos, se realizó un estudio descriptivo, prospectivo y correlacional. Para ello se realizó un muestreo por conveniencia no probabilístico (Thrusfield, 1995), en el que se seleccionaron a perros de cualquier edad, raza y género, que fueron atendidos en el HV-UAA y que cumplieron con los criterios de inclusión (manifestaciones clínicas de afección neurológica y/o respiratoria y que los propietarios o responsables otorgaron la aceptación mediante el consentimiento informado para incluirlos en el estudio). De igual forma por cada paciente con manifestaciones clínicas se obtuvo una muestra de un perro control es decir, asintomático que cumplió con características similares al paciente enfermo. Los pacientes que ocurren al HV-UAA proceden de las delegaciones de la ciudad, lo que permitió diferenciar las zonas con diferentes niveles de anticuerpos según el caso.

A los propietarios de los pacientes tanto de nuevo ingreso, como los que asisten de forma constante al HV-UAA, se les solicitó información clínico zootécnica como protocolo previo a su consulta. Si en el examen físico general (EFG) realizado por alguno de los médicos del Hospital y en los antecedentes clínicos se encontraban condiciones compatibles con las enfermedades estudiadas (Neosporosis y Toxoplasmosis), se solicitó a los propietarios su consentimiento para incluir a su mascota en el estudio y tomarle una muestra sanguínea. El HV-UAA se comprometió a informar a propietarios de los resultados de los análisis realizados.

El examen físico fue esencial en cada caso y se incluyeron los signos vitales (temperatura, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, etcétera), la evaluación fue ordenada y sistemática, de acuerdo con Birchard y Sherding (1996). El examen físico se realizó metódicamente y con el menor estrés posible para el paciente comenzando desde cabeza para llevar por completo el examen oftálmico (revisando desde las estructuras externas como son párpados, pestañas, revisión externa del globo ocular y anexos, el ojo se revisó usando el oftalmoscopio comenzando con las dioptrías desde 20 a menos 2 para evaluar desde córnea, cámara anterior, iris, cristalino, cámara posterior, vítreo, retina y fondo de ojo). Se continuó con revisión de, cuello, tórax incluyendo una inspección detallada del corazón (frecuencia, ritmo y válvulas) y campos pulmonares (bilateral). El examen pulmonar se realizó examinando mediante auscultación y percusión. La auscultación se inició en la región laríngea y tráquea cervical; posteriormente se auscultarán los campos pulmonares, teniendo como límite craneal el borde craneal de la

escápula dorsalmente por la columna vertebral y masas musculares (Ford, 1982). La realización minuciosa de los campos pulmonares se realizó en búsqueda de sonidos respiratorios anormales como crepitación, sibilancias o estridores. Posteriormente se continuó con revisión de abdomen (craneal, medio y caudal) permitiendo palpar los diferentes órganos dentro de esta cavidad, terminando en inspección de órganos genitales externos. Se procedió a revisar por completo la piel. En el examen dermatológico se revisó el aspecto del pelo, palpación y observación en busca de zonas alopécicas, inflamación, nódulos, costras y fístulas. La turgencia de la piel y los espacios interdigitales (Schaer, 1991).

Debido a que tanto la Toxoplasmosis como la Neosporosis incluyen manifestaciones clínicas neurológicas, el propósito del examen neurológico fue establecer la localización de una lesión; se observó la capacidad de locomoción del paciente y la calidad de la misma. Se evaluó la marcha; la habilidad de ponerse de pie y moverse para constatar que las vías motoras y sensorias estuvieran intactas y permitieran la deambulaci3n. El examen de las vías aéreas se realizó de una forma sistemática de vías altas a bajas para su valoraci3n integral (Santoscoy, 2008). Se comenzó por evaluar la habilidad de ponerse de pie y moverse ya que se requiere que las vías motoras y sensorias estén intactas y se permita el desplazamiento. Se continuó evaluando la marcha ya que si el paciente tenía alguna alteraci3n se asocia a una lesi3n en el cerebelo o en las vías cerebelares (Lorenzo, 2007). La espasticidad es el tono muscular incrementado, se revisó ya que es un hallazgo frecuente de la alteraci3n de las NMA. Se evaluó si existía paresia pues indica relajaci3n e implica debilidad de la funci3n muscular, sin embargo se mantiene movimiento voluntario remanente. Se siguió con la exploraci3n de los segmentos espinales: estos segmentos son: el segmento cervical anterior (C2 a C4); el segmento cérvico torácico o agrandamiento cervical (C5 a T2); el segmento toracolumbar (T3 a L3); el segmento lumbosacro o agrandamiento lumbar (L4 a S2) (Santoscoy, 2008). El clasificar al reflejo espinal en una de estas categorías es esencial para la localizaci3n de la lesi3n en la médula espinal (Lorenzo, 2007). Se revisó las anormalidades en la sensibilidad para la caracterizaci3n de la afecci3n. Se verificaron anormalidades motoras, sensorias, de reflejos y de los esfínteres así como la diferencia funcional entre las NMA y las NMB (Santoscoy, 2008). Se evaluaron los reflejos miotáticos, los cuales son importantes para la regulaci3n de la postura y el movimiento. Los reflejos que comúnmente se evalúan incluyen al patelar, el tibial craneal, el

gastrocnemio, el extensor carporadial, el tríceps y el bíceps. Estos reflejos reciben un valor para poder registrarlos en el expediente. En una escala del 0 al 4 se registran de la siguiente manera: (0 = sin reflejo, 1 = hiporreflejo, 2 = normal, 3 = exagerado y 4 = exagerado con clonos). La respuesta exagerada indica lesión de las NMA. La respuesta deprimida o ausente se asocia a la lesión en las NMB. Frecuentemente las razas grandes presentan una respuesta refleja más rápida que las razas pequeñas (Lorenzo, 2007)

Para unificar criterios y para facilitar la recolección de datos clínicos de cada paciente se llenó de manera inicial una hoja de ingreso general (Anexo 1). Acorde a las manifestaciones clínicas que cada paciente manifestó se llenó de manera adicional los anexos acorde a los sistemas que pudieran estar afectados. Examen neurológico (Anexo 2), examen oftalmológico (Anexo 3), examen dermatológico (Anexo 4).

3.2.2. Número de muestras

El número de muestras obtenidas fue de 92 caninos incluyendo 46 muestras de pacientes que presentaron manifestaciones clínicas (neurológicas, respiratorias o ambos) y 46 muestras de pacientes asintomáticos que sirvieron como control. La muestra estimada fue de 88 muestras serológicas, sin embargo debido al número de pruebas disponibles y para ampliar el número de pacientes incluidos en el estudio se decidió realizar 92 muestras por duplicado.

3.2.3. Obtención de la información clínico zootécnica

Para obtener los antecedentes de los pacientes, se diseñó una hoja de ingreso general (Anexo 1) y, al momento de obtener la muestra, se solicitó a los dueños de los pacientes los siguientes datos generales: nombre del paciente, edad, género (hembra o macho), raza (mestizos (no reconocidos por la Federación Canófila Mexicana (FCM)) o razas puras (razas reconocidas por la FCM), alimentación (croquetas o mixto (los propietarios incluyen junto con sus croquetas algún tipo de alimento elaborado por ellos mismos), motivo de ingreso al hospital o bien manifestaciones clínicas de enfermedad presentados con anterioridad o recientemente, hábitos de paseo y si convivían (es decir tiene contacto en su hábitat o al momento de salir a recreación con algún otra especie) o no (especificando la especie). Los datos obtenidos se registraron en una base de datos (Anexo 5).

3.2.4. Obtención de muestras sanguínea

Para la obtención de sangre se puncionó la vena yugular en perros chicos y la vena cefálica en el caso de perros grandes. El área de muestra se preparó previamente, aplicando la asepsia necesaria para la toma de muestra depilando el área y limpiándola con una torunda de algodón impregnada con alcohol de 96°. Posteriormente la sangre se transfirió a un tubo de vidrio 13x75 mm sin anticoagulante, se dejó reposar la muestra de 15 a 30 minutos para permitir que coagulara la muestra, posteriormente se procedió a centrifugar la muestra a 1,000 rpm durante 15 minutos; se almacenaron dos alícuotas en microtubos de plástico *Eppendorf* de 1.5 mL con tapa de presión. Se identificaron y se mantuvieron en congelación (-80°C) hasta su análisis (Yan., *et al.* 2012). Las muestras tomadas, se mantuvieron en congelación (-80°C) hasta su análisis mediante ELISA.

3.3. METODO DE ANALISIS

3.3.1. Materiales y reactivos. Se muestran en el anexo 3.

El análisis de las muestras se realizó mediante kits comerciales (*IDvet*[®], Francia). Los kits se conservaron a una temperatura de 2 a 8 °C y los sustratos alejados de la luz. Los reactivos se prepararon 10 minutos antes de su procesamiento.

3.3.2. Desarrollo de la técnica analítica

Las técnicas para detectar la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* y *T.gondii* son muy diversas desde pruebas como MAT, IFAT, PCR, ELISA, entre otras. A nivel mundial se han realizado estudios para conocer la seroprevalencia de estas enfermedades tanto en perros, gatos, cerdos y una variedad de especies con el propósito de disponer de información que permita tomar mejores decisiones en el manejo de las enfermedades. Para nuestro estudio se decidió utilizar la prueba de ELISA indirecta ya que se acepta como una de las pruebas validadas para determinar la presencia de anticuerpos para los parásitos de interés. Conforme a estudios previos realizados en 1998 por Packham, *et al.*, definieron la técnica de ELISA como una “Prueba de Oro” para la determinación serológica de anticuerpos de *N. caninum*. Más recientemente Ghalmi, *et al.*, 2014 concluyeron que mediante el uso de la prueba de ELISA se obtenían resultados con mayor sensibilidad y especificidad. Por otro lado Zhu, *et al.*, 2012 consideraron que la técnica de ELISA es más satisfactoria en evaluar la *T. gondii* en perros. Si bien se dispone de una gama amplia de pruebas para ambas enfermedades, esta técnica ha sido usada

en mayor medida debido a la facilidad de poder analizar desde decenas a centenas de muestras en cortos periodos.

Estudios similares realizados por Enăchescu, *et al.*, 2013 y Sharma, *et al.*, 2014 utilizando kits comerciales (*IDvet®*, Francia) mostraron resultados con una especificidad y sensibilidad del 100%. Por esta razón, el análisis de las muestras se realizó mediante estos recursos.

Para detección de anticuerpos ant-*Neospora caninum* se utilizó un kit *Id Screen® Neospora Caninum indirect multi species ELISA Kit*. El procedimiento se describe de forma breve a continuación: Se aplicaron 90 microlitros (µL) de diluyente 2 en todos los pocillos, 10 µL del control negativo en los pocillos A1 y B1 así como 10 µL del control positivo en los pocillos C1 y D1. Se colocaron 10 µL del suero de cada muestra a valorar (46) en los pocillos restantes realizando la prueba por duplicado. Las muestras se incubaron a 21°C durante 45 ±4 minutos. Se realizó el lavado de los pocillos 3 veces con 300 µL de la solución de lavado. El conjugado se preparó 1X diluyéndolo 10X al 1:10 con el diluyente 3. Se distribuyeron 100 µL del conjugado 1x a todos los pocillos y se incubó a 30 (±3) minutos a 21°C (±5). Todos los pocillos se lavaron 3 veces con 300 µL de la solución de lavado evitando que los pocillos se secan. Se aplicaron 100 µL de la solución de revelación a todos los pocillos y se incubaron a 15 (±2) minutos a 21 °C (±5) en la oscuridad. Se aplicaron 100 µL de la solución para detener la reacción a todos los pocillos. Posteriormente se leyeron en el espectrofotómetro a densidad óptica de 450nm.

El ensayo se consideró válido ya que de acuerdo a las indicaciones del fabricante, la densidad del control positivo fue mayor a 0.350. La interpretación de cada muestra se obtuvo mediante el cociente S/P (Tabla 7.)

Tabla 7. Interpretación para la prueba de Elisa para *N. caninum*

RESULTADO	ESTADO
S/P ≤ 40%	Negativo
40% < S/P <50%	Dudoso
50% ≤ S/P <200%	Positivo
S/P ≥ 200%	Altamente positivo

$$\% \frac{S}{P} = 100 \left(\frac{DO(Suero) - DO(CN)}{DO(CP) - DO(CN)} \right)$$

Dónde:

OD=Densidad óptica

CN=Control Negativo

CP=Control Positivo

%S/P= Muestra al positivo

Para la detección de anticuerpos ant-Toxoplasma se utilizó *Id Screen*® *Toxoplasmosis indirect multi species ELISA Kit*. El procedimiento se describe de forma breve a continuación: Se distribuyeron 90 µL de diluyente 2 en todos los pocillos, 10 µL del control negativo en los pocillos A1 y B1 así como 10 µL del control positivo en los pocillos C1 y D1. Se añadieron 10 µL de suero de cada muestra a analizar (46) en los pocillos restantes realizando la prueba por duplicado. Las muestras se incubaron a 21°C durante 45 (± 4) minutos. Se realizó el lavado de los pocillos 3 veces con 300 µL de la solución de lavado. El conjugado se preparó 1X diluyéndolo 10X al 1:10 con el diluyente 3. Se aplicaron 100 µL del conjugado 1X a todos los pocillos. Se incubó a 30 ± 3 minutos a 21°C (± 5°C). Todos los pocillos se lavaron 3 veces con 300 µL de la solución de lavado evitando que los pocillos se secan. Se aplicaron 100 µL de la solución de revelación a todos los pocillos y se incubaron a 15 (±2) minutos a 21 °C (± 5°C) en la oscuridad. Se aplicaron 100 µL de la solución para detener la reacción a todos los pocillos (Figura 7).



Figura 7. Representación de la reacción de la prueba de ELISA indirecta

Posteriormente se leyó en el espectrofotómetro a densidad óptica de 450nm. El ensayo se consideró válido ya que la densidad del control positivo fue mayor a 0.350. La interpretación de cada muestra se obtuvo mediante el cociente S/P (Tabla 8).

Tabla 8. Interpretación para la prueba de Elisa para *T. gondii*

RESULTADO	ESTADO
$S/P \leq 40\%$	Negativo
$40\% < S/P < 50\%$	Dudoso
$50\% \leq S/P < 200\%$	Positivo
$S/P \geq 200\%$	Altamente positivo

$$\% \frac{S}{P} = 100 \left(\frac{DO(Suero) - DO(CN)}{DO(CP) - DO(CN)} \right)$$

Dónde:

OD=Densidad óptica

CN=Control Negativo

CP=Control Positivo

%S/P= Muestra al positivo

3.4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Los datos demográficos y los derivados de la aplicación de instrumentos para la obtención de información de los pacientes, se registraron en una base de datos elaborada en una hoja electrónica (*Microsoft office Excel 2007*) para su análisis estadístico.

Se consideraron positivos los casos cuyas muestras que mostraron un S/P 50%200%. La seropositividad se relacionó con las variables edad, raza, género, tipo de alimentación, régimen de vacunación y desparasitación, hábitos de paseo, convivencia con otros animales y manifestaciones clínicas que manifestaron durante su revisión.

Los datos obtenidos se analizaron mediante Chi-cuadrada (χ^2) para probar la independencia de las variables anteriormente mencionadas. Del mismo modo, se realizó prueba de Razón de Momios (Odd Ratio) para estimar el riesgo de ocurrencia.

Para todos los análisis estadísticos, se utilizó el Software *Statgraphics Centurion*, versión 15.2.05. *Statpoint Technologies, Inc.* Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando el valor de $P \leq 0.05$, con un intervalo de confianza (CI) de 95% calculado para cada rango de seropositividad. Los análisis de realizaron conforme a las siguientes fórmulas:

Chi-Cuadrada	Razón de momios (OR)
$X^2 = \sum \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$	$O = \frac{n}{n-1}$
$O = \frac{n}{n-1}$	$O = \frac{n}{n-1}$
<p>Dónde:</p> <p>O=frecuencia observada en cada celda. E=frecuencia esperada en cada celda.</p>	<p>Dónde:</p> <p>O=Odd Ratio n=Evento</p>

Para la obtención de la muestra ideal para nuestro estudio se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{z_{\sigma}^2 \cdot 2\sigma^2}{E^2}$$

Dónde:

- n=tamaño de la muestra**
- E=precisión o error**
- Z= nivel de confianza**
- δ =Varianza**

4. RESULTADOS

De la cantidad total de pacientes, 1073 perros, atendidos en el Hospital Veterinario de enero 2013 a marzo 2014, se logró obtener 92 muestras para su análisis serológico. Esto representó el 8.57% de la población atendida.

Del total de muestras, 46 correspondieron a pacientes considerados como Casos y 46 a los pacientes Control. De ellos el 6.52% de los pacientes con manifestaciones clínicas anticuerpos detectables para *T. gondii*. En contraste, ningún paciente tuvo anticuerpos detectables para *N. caninum*. De los pacientes asintomáticos el 6.52% mostró seropositividad a *T. gondii*. No se detectaron anticuerpos para *N. caninum*.

Las características demográficas de los 92 pacientes incluidos en éste estudio para la detección de *N. caninum* y *T. gondii* se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Características demográficas de los pacientes del estudio

Características	Condición	Controles	Casos
Edad	< 1 año	22	22
	>1 año	24	24
Sexo	Hembras	15	23
	Machos	31	23
De Raza*	Sí	34	34
	No	12	12
Desparasitación	Si	36	26
	No	10	20
Vacunaciones	Sí	40	29
	No	6	17
Convivencia con otras especies	Sí	20	23
	No	26	23
Croquetas	Sí	23	26
	No	23	20
Medio Urbano	Sí	3	7
	No	43	39
Manifestaciones clínicas sugestivas	Sí		46
	No	46	

***Raza: Ejemplares con características de prototipos reconocidos por FCM.**

Los resultados de la detección de anticuerpos se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Resultados de la detección de anticuerpos en los pacientes estudiados

Grupo	Seropositivos (%)	
	Anti-Neospora	Anti-Toxoplasma
Control	No detectable	6.52
Casos	No detectable	6.52

La técnica utilizada no detectó anticuerpos anti-Neospora en ninguno de los dos grupos. Sin embargo en ambos grupos se detectó el mismo porcentaje de anticuerpos anti-Toxoplasma.

En el grupo de pacientes Controles, la frecuencia de perros seropositivos a *T. gondii* fue de 6.52%. Ninguno de los pacientes tuvo manifestaciones clínicas de neurológicas o respiratorias.

Los pacientes del grupo Casos, presentaron una frecuencia de perros seropositivos a *T. gondii* de 6.52%. De este grupo, sólo el 2.17% presentó únicamente afección neuromuscular; el 4.34% presentó afectación neuromuscular y respiratoria así como la presentación de manifestaciones dermatológicas y oftálmicas. Las manifestaciones clínicas observadas en los pacientes que tuvieron manifestaciones clínicas nerviosas fueron: ataxia, paresia, mioclonos y atrofia muscular.

Posteriormente, la seroprevalencia anti-Toxoplasma se contrastó con la edad, sexo, raza, medicina preventiva (vacunas y desparasitaciones), hábitos de paseo, dieta, hábitat y manifestaciones clínicas de los pacientes. Los datos fueron analizados mediante Chi-cuadrada, considerándose estadísticamente significativos los valores con un $P \leq 0.05$. Los resultados del análisis de factores de riesgo en los pacientes positivos a *T. gondii* se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Resultados del análisis entre los anticuerpos y las características generales de los pacientes seropositivos a *T. gondii*

Factor de riesgo		Pacientes (#)	Seropositivos (%)	χ^2	P
Género	Hembra	54	7.40	1.703	0.1919
	Macho	38	5.26		
Edad	<0	44	6.81	0.012	0.9122
	>1	48	6.25		
Medio Urbano	Si	10	20.0	3.343	0.06
	No	82	4.87		
Alimentación	Croquetas	49	4.08	1.024	0.311
	Casera	43	9.30		
Convivencia con otras especies	Si	49	8.16	1.024	0.311
	No	43	4.65		
Vacunas	Si	69	4.34	2.140	0.143
	No	23	13.0		
Desparasitación	Si	62	4.83	0.883	0.3473
	No	30	10.0		
Paseos	Si	27	3.70	0.498	0.480
	No	65	7.69		
De Raza	Si	24	8.33	0.175	0.675
	No	68	5.88		
Manifestaciones clínicas sugestivas	Sí	56	7.14	0.091	0.763
	No	36	5.55		

Entre los resultados destacables se encuentra que los pacientes menores a un año tuvieron anticuerpos anti-Toxoplasma un mayor porcentaje de casos seropositivos que en otras edades; igualmente los perros mestizos y las hembras. Los pacientes que consumieron alimento casero, los que no tienen convivencia con otras especies y a los que pasean también tuvieron más mayor porcentaje de casos seropositivos. Los pacientes no vacunados, no desparasitados y con manifestaciones clínicas sugestivas, también tuvieron un mayor porcentaje de casos positivos, que sus contrapartes.

Sin embargo a pesar de las diferencias encontradas, el análisis no reveló una asociación causal entre la seropositividad y las variables estudiadas. Es decir las diferencias encontrada en la seropositividad, son atribuibles al azar y no a alguna de las condiciones de los pacientes.

De igual forma se realizó la prueba de Razón de Momios (OR) para variables bajo en el estudio, con la finalidad de conocer el riesgo o posibilidad de seropositividad (exposición) a *T.gondii*. Los resultados de presentan en la tabla 12.

Tabla 12. Razón de momios de factores de riesgo de los pacientes seropositivos

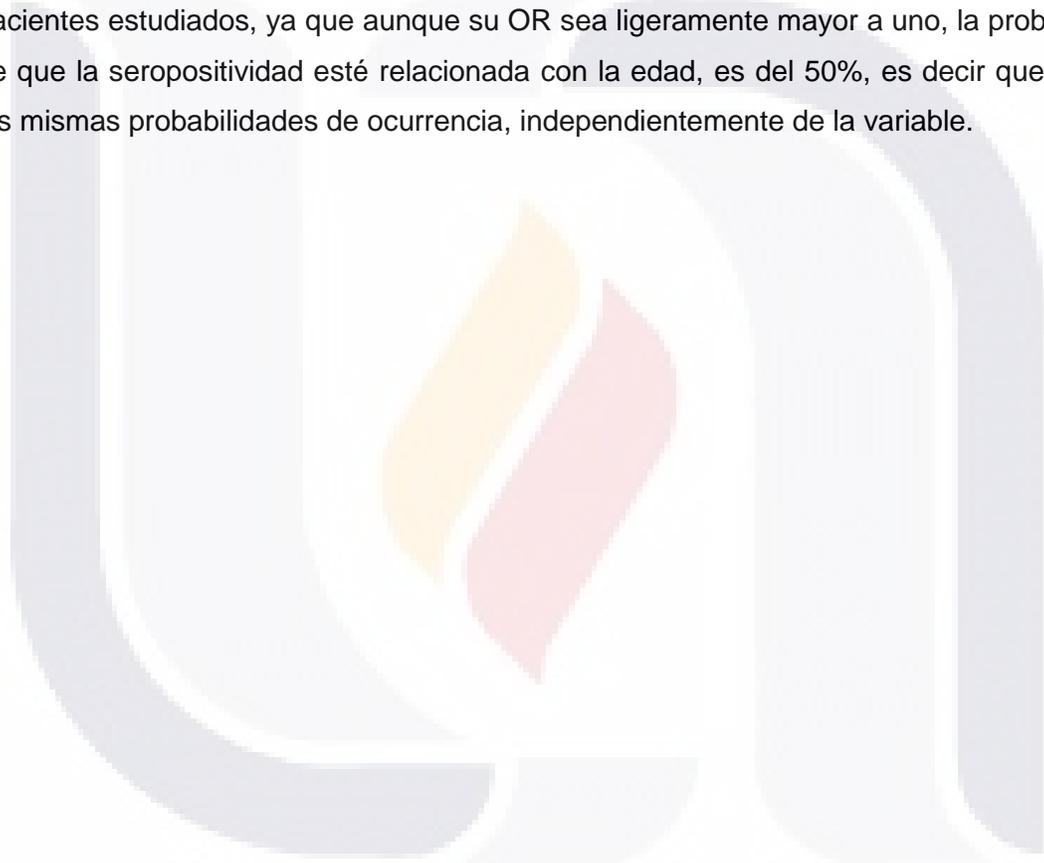
Factor de riesgo		Pacientes (#)	Seropositivos (%)	OR
Género	Hembra	54	7.40	0.32
	Macho	38	5.26	
Edad	<0	44	6.81	1.09
	>1	48	6.25	
Medio Urbano	Si	10	4.87	0.20
	No	82	20	
Alimentación	Croquetas	49	4.08	0.41
	Casera	43	9.30	
Convivencia con otras especies	Si	49	8.16	0.41
	No	43	4.65	
Vacunas	Si	69	4.34	3.3
	No	23	13.0	
Desparasitación	Si	62	4.83	2.18
	No	30	10	
Paseos	No	27	3.70	0.46
	Si	65	7.69	
De Raza	No	24	8.33	0.68
	Si	68	5.88	
Manifestaciones clínicas sugestivas	Si	56	7.14	1.30
	No	36	5.55	

Los resultados del análisis de razón de momios, muestran que la probabilidad más alta asociada a la seropositividad (3.3) se encontró en los pacientes que no estuvieron vacunados. En seguida, en orden descendiente, se encontró en el apartado de desparasitaciones indican que los pacientes no desparasitados, tuvieron 2.18 veces más probabilidad de resultar seropositivos que los pacientes desparasitados, De igual manera los pacientes que presentan signos sugestivos a la enfermedad, tiene 1.3 veces más

probabilidad de mostrar seropositividad. Lo anterior parecería indicar por lo menos, una exposición al parásito.

En contraste, el alojamiento, la alimentación, la convivencia con otras especies y la realización de paseos, mostraron un “Efecto Protector” para los pacientes, ya que el valor de OR para ellos resultó ser menor a 1, lo que parecería indicar la conveniencia de vigilar o hacer recomendaciones al respecto. Las variables o factores de riesgo tales como el género y raza mostraron OR también fueron menores a uno. Acciones integrales

La edad no mostró ser un factor de riesgo importante para la seropositividad de los pacientes estudiados, ya que aunque su OR sea ligeramente mayor a uno, la probabilidad de que la seropositividad esté relacionada con la edad, es del 50%, es decir que existen las mismas probabilidades de ocurrencia, independientemente de la variable.



5. DISCUSIÓN

La Neosporosis no ha sido catalogada como una enfermedad zoonótica hasta el momento, a pesar de que se ha encontrado la presencia de anticuerpos en el humano, como tal no se ha encontrado evidencia de que el perro pueda ser un factor de riesgo para el humano, por el contrario se ha estudiado ampliamente que el perro juega un papel importante cuando la enfermedad afecta al ganado bovino. ya que los perros pueden contagiar al ganado.

Adicionalmente en nuestro estado se han detectado anticuerpos en la población canina del área rural y urbana, sin embargo no se habían realizado estudios en pacientes con manifestaciones clínicas. La importancia de conocer lo que pasa con ésta enfermedad radica en que en la clínica veterinaria diaria se presentan de manera común un 5 a 10% de pacientes con enfermedad neurológica y ampliar las posibilidades diagnósticas ayuda al veterinario a diversificar sobre las posibilidades etiológicas y de tratamientos ante pacientes con esta semiología.

Por otra parte, la Toxoplasmosis es conocida ampliamente a nivel mundial por su alto potencial zoonótico y por la capacidad de éste parásito para afectar la salud de cualquier mamífero prácticamente. El conocimiento disponible al respecto es amplio e incluye diferentes especies, a pesar de esto, se han realizados pocos estudios en perros con una sintomatología clínica evidente. Al igual que con la Neosporosis tener evidencia serológica que constata el estado clínico de los pacientes con signología sugerente de Toxoplasmosis, constituye un auxiliar que permitirá al médico discriminar las enfermedades que cursan por un cuadro clínico similar.

En éste estudio se analizó la seropositividad de ambas enfermedades (*Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii*) en pacientes con y sin manifestaciones clínicas (neurológica y/o respiratoria) que fueron atendidos en el HV-UAA. Todos los pacientes fueron mascotas, es decir, tenían dueño o responsable que pudo aportar información precisa sobre su edad, vacunaciones, tipo de alimentación, convivencia con otras especies y datos relevantes para éste estudio lo que permitió obtener la información clínica zootécnica necesaria de cada canino incluido en éste estudio y comparar los resultados de las muestras analizadas con las variables seleccionadas.

La seropositividad de *N. caninum* en nuestro estudio fue de 0% (0/46) en pacientes con manifestaciones clínicas, este resultado difiere de otros realizados en otros países de

Latinoamérica, ya que estudios similares realizados en Brasil reportan un 6.57% por Mineo *et al.*, 2001, Jesus *et al.*, 2007, 11.56%, Fridlund *et al.*, 2011, 35.3%, Langoni *et al.*, 2012, 14%, y en Lima 5.2 ± 4.4 reportada por Ruiz *et al.*, 2012.

En contraparte los pacientes asintomáticos mostraron una seropositividad del 0% (0/46), no encontrando diferencia respecto a lo reportado por Ruiz *et al.*, 2012 de 1.7 ± 2.5 .

Al comparar la seropositividad de *N. caninum* en nuestro estudio 0% con otros estudios de seroprevalencia realizados a nivel mundial, encontramos amplia diferencia conforme lo reportado en México por Sánchez *et al.*, 2003 de 35%, Brasil por Azevedo *et al.*, 2005, 8.4%, Italia por Paradies *et al.*, 2007 de 20.9%, República Checa por Václavek *et al.*, 2007 de 26.5%, Brasil por Aguiar *et al.*, 2008 de 28.3%, México por Cruz *et al.*, 2008 de 32%, Polonia por Ploneczka y Mazurkiewicz 2008 de 16.36%, España por Regidor *et al.*, 2010 de 43.6%, Polonia por Gozdzik *et al.*, 2011 de 21.7%, Brasil por Junior *et al.*, 2011 de 12.3 %, Irán por Sharifdini *et al.*, 2011 de 30.4%, Hosseininejad *et al.*, 2010 de 31.25% y Hosseininejad y Hosseini 2011 de 29%, en Rumania por Gavrea *et al.*, 2012 de 32.7%, Angola por Lopes *et al.*, 2012 de 9.26%, Rumania por Enachescu *et al.*, 2013 de 8.7%, Venezuela por Escalona *et al.*, 2013, de 12.93% y Brasil por Dantas *et al.*, 2014, 7.5%. Si bien el número de muestras analizadas en cada estudio fue muy variable, así como la técnica analítica implementada, las diferencias de seroprevalencias se atribuyen al número de muestras incluidas en éste estudio, de igual forma, la mayoría de los pacientes que se incluyeron en este estudio son perros domiciliados y reciben una dieta basada en croquetas y escaso alimento crudo.

Comparado con estudios realizados en nuestro país para conocer la seroprevalencia de la Neosporosis en algunos estados en nuestro país encontramos amplia diferencia ya que Sánchez *et al.*, 2003 reportan un 35% y Cruz *et al.*, 2008 32%. Sin embargo no se observa diferencia conforme un estudio realizado por Dubey *et al.*, 2007 que reportaron 2% de seroprevalencia.

En un estudio realizado por Lopes *et al.*, 2012 en Brasil encontraron significancia estadística en los perros que habitaban en el área urbana y semiurbana tenían mayor presencia de anticuerpos ante *N. caninum*. La nula seropositividad obtenida en nuestro estudio puede ser atribuida a la variable de vivienda ya que, aunque nuestros perros son del área rural, habitan en una vivienda y se tiene el cuidado de que no deambulen libremente, es decir vive en condiciones más seguras.

En cuanto a la toxoplasmosis, la seropositividad encontrada en nuestros pacientes con sintomatología fue de 6.52% (3/46), la cual comparada con estudios similares presenta diferencia respecto a lo reportado en otros países tal como Brasil en el cuál Mineo *et al.*, 2001 reportan una frecuencia de 36%, Fridlund *et al.*, 2011 21.08%, Langoni *et al.*, 2012, 22% y en la ciudad de Lima, Ruiz *et al.*, 2012 reportaron un $24.0 \pm 8.5\%$ de frecuencia.

Por otro lado en los pacientes del grupo Control, la seropositividad correspondió a 6.52% (3/46) teniendo seroprevalencia similar a lo reportado por Ruiz, *et al.*, 2012 que reportaron una frecuencia de 3.3 ± 3.1 . Comparando la seropositividad de nuestro estudio, encontramos resultados similares con porcentaje de seroprevalencia reportado por Jittapalapong *et al.*, 2007 de 9.4%, Hosseininejad y Hosseini 2011 de 8.94%%, Reid *et al.*, 2012 de 10.1% y Gharekhani *et al.*, 2014 de 10.7%.

En contraparte a nivel mundial se han realizado diversos estudios de seroprevalencia de anticuerpos anti *T. gondii* que muestran diferencia en porcentaje respecto a lo encontrado en nuestro estudio, Ali *et al.*, 2003 reportan 32%, Azevedo *et al.*, 2005, 45.1%, Aguiar *et al.*, 2008, 57.6%, Kilic *et al.*, 2008, 92%, Wang *et al.*, 2012, 21.6%, Yan *et al.*, 2012, 40.93%, Enachescu *et al.*, 2013, 50%, Araujo *et al.*, 2014, 15.6%, Gharekhani *et al.*, 2014., 10.7% y Sharma *et al.*, 2014, 33.4%.

Comparando los resultados obtenidos en nuestro estudios con otros realizados en nuestro país encontramos diferencia significativa ya que Dubey *et al.*, 2007 reporta un 51.5% de seroprevalencia y Alvarado *et al.*, 2014, 67.3%.

Los hábitos alimenticios no fueron estadísticamente significativos en nuestro estudio, lo que difiere de un estudio realizado por Ali *et al.*, 2003 que reportaron mayor seroprevalencia en pacientes que consumían croquetas con comida casera.

Los pacientes que pasan tiempo fuera de casa, es decir que realizan paseos tampoco tuvieron un valor estadísticamente significativos, lo cual difiere de lo reportado por Ali *et al.*, 2003 quienes se reportaron una mayor prevalencia en pacientes que realizaban paseos libres o sin supervisión, lo cual sugiere un riesgo de exposición.

Se encontró que pacientes menores a un año presentaron mayor porcentaje de seropositividad, lo cual difiere de lo reportado por Enachescu *et al.*, 2013 y Yan *et al.*, 2012, quienes encontraron un mayor número de pacientes afectados mayores de un año, sugiriendo una exposición post-natal. Sin embargo Jadoon, *et al.*, 2009 señala que pacientes hembras menores a un año tuvieron una mayor seropresencia, situación que es

coincidente con nuestro estudio, pero como ya se mencionó, nuestros resultados no fueron estadísticamente significativos.

La mayoría de los pacientes contaban con un calendario de vacunación y desparasitación actualizado, en el análisis de OR muestra que la falta de seguimiento en ambas intervenciones genera un riesgo para los pacientes. Esta situación es consistente con el estudio realizado por Aguiar *et al.*, 2008, en donde pacientes enfermos con distemper canino, se encontraban también afectados de Toxoplasma, Neosporosis o ambas. Esta situación se presenta de manera secundaria a una inmunodepresión lo cual deriva frecuentemente en el establecimiento de las enfermedades que estudiamos, como patógenos oportunistas. Esta situación sugiere que pacientes vacunados y desparasitados oportunamente, se mantienen inmunocompetentes para afrontar desafíos de estos parásitos y de otros agentes.

Conforme los resultados obtenidos en nuestro estudio consideramos la conveniencia de realizar pruebas complementarias como detección del Distemper Canino en los pacientes que presentan no sólo seropresencia de anticuerpos ante *T. gondii* sino de manera general en los pacientes que tuvieron manifestaciones clínicas de enfermedad, hubiera sido de gran utilidad en búsqueda de la enfermedad única o bien en asociación a la Toxoplasmosis como ha sido reportada en el 2011 por Aguiar, *et al.*, quienes incluyeron a ésta enfermedad como diagnóstico diferencial ante *N. caninum* *N. caninum* y *T. gondii*.

6. CONCLUSIONES

1. El estudio realizado es el primero realizado en una institución clínico-hospitalaria de referencia en nuestro estado, que incluye pacientes con antecedentes clínicos. Esta condición permitió explorar y analizar con más elementos los resultados obtenidos.
2. La presencia de anticuerpos anti-Toxoplasmosis se detectó tanto en los dos grupos de pacientes en un porcentaje menor a lo esperado, lo que sugiere que las intervenciones médicas han sido suficientes para mantener la enfermedad bajo control.
3. Considerando el valor de OR en los factores de riesgo, promover intervenciones médicas integrales como un calendario de vacunación y desparasitación adecuado permite que el sistema inmune mantenga su competencia ante las enfermedades.
4. Al observar el resultado de OR en los factores que generan un factor de protección es importante señalar la importancia médica de asesorar a los propietarios de una manera adecuada para mantenerlos informados de cómo ayudar a prevenir la presencia de la *Toxoplasmosis* en perros.
5. No se detectaron anticuerpos anti-Neospora en ninguno de los grupos de pacientes.
6. A pesar de la baja seroprevalencia encontrada se considera que ambas enfermedades deben ser incluidas como diagnóstico diferencial en pacientes que tengan manifestaciones clínicas compatibles con las enfermedades parasitarias estudiadas.
7. La realización de estudios en ámbitos clínicos incrementando el número de muestras y de pruebas para la detección de otras enfermedades que permitan distinguir enfermedades con cursos clínicos similares como el Distemper Canino, permitirá realizar diagnósticos oportunos y precisos para actuar en consecuencia con medidas preventivas y curativas.

7. BIBLIOGRAFÍA

Aguiari, D., Amude, A., Santos, L., Ribeiro, M., Ueno., Megid, J., Paes, A., Alfieri, A., Gennari, S. (2012). Canine distemper virus and *Toxoplasma gondii* co-infection in dogs with neurological signs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.*, v.64, n.1, p.221-224.

Ali, C., Harris, J., Watkins, J., Adesiyun, A. (2003). Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in dogs in Trinidad and Tobago. *Veterinary Parasitology*, 113(3-4), 179–187. doi:10.1016/S0304-4017(03)00075-X

Al-Qassab, S., Reichel, M., Su, C., Jenkins, D., Hall, C., Windsor, P., Ellis, J. (2009). Isolation of *Toxoplasma gondii* from the brain of a dog in Australia and its biological and molecular characterization. *Veterinary Parasitology*, 164(2-4), 335–9. doi:10.1016/j.vetpar.2009.05.019

Alvarado-Esquivel, C., Romero-Salas, D., Cruz-Romero, A., García-Vázquez, Z., Peniche-Cardena, A., Ibarra-Priego, N., Dubey, J. P. (2014). High prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs in Veracruz, Mexico. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 191. doi:10.1186/s12917-014-0191-x

Azevedo, S., Batista, C., Vasconcellos, S., Aguiar, D., Ragozo, A., Rodrigues, A., Gennari, S. (2005). Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. *Research in Veterinary Science*, 79(1), 51–6. doi:10.1016/j.rvsc.2004.10.001

Barling, K. (2000). The study of *Neospora caninum* in a Texas Beef Cattle Population. *Dissertation requirement for the degree of Doctor of Philosophy, office of Graduate Studies of Texas A&M University.*

Birchard, S., Sherding, R. (1996). *Manual Clínico de Pequeñas Especies*; Ed. McGraw – Hill. Interamericana Vol.1; México. p.1-14.

Bresciani, K., Costa, A., Toniollo, G., Sabatini, G., Moraes, F., Paulillo, A., Ferraudo, A. (1999). Experimental toxoplasmosis in pregnant bitches. *Veterinary Parasitology*, 86(2), 143–145. doi:10.1016/S0304-4017(99)00136-3

Cruz, C., Medina, L., Marentes, A., Morales, E., Garcia, Z. (2008). Seroepidemiological study of *Neospora caninum* infection in dogs found in dairy farms and urban areas of Aguascalientes, Mexico. *Veterinary Parasitology*, 157(1-2), 139–143. doi:10.1016/j.vetpar.2008.07.004

Dantas, S., Fernandes, A., Souza Neto, O., Mota, R, Azevedo, S. (2014b). Fatores de risco para a ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães domiciliados no Nordeste do Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(2), 875. doi:10.5433/1679-0359.2014v35n2p875

Delucchi, L., Feijóo, G., Duran, E. (2010) Shaking puppy syndrome. *Veterinaria Montevideo*. Vol. 46, Número 177-178-179-180.

Devens, B. (2010). Neosporose canina: biologia, etiologia, sinais clínicos, diagnóstico e controle. *Pubvet*, Londrina, V. 4, N. 40, Ed. 145, Art. 975.

Dubey J., and Lindsay D. (1993). Neosporosis. *Parasitology Today* 9: 452-458.

Dubey, J., Barr, B., and Barta, J. 2002. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *International Journal for Parasitology* 32: 929-946.

Dubey, J. (2003). Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*, 41(1), 1–16.

Dubey, J., Schares, G., Ortega-Mora, L. (2007). Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 323–367. doi:10.1128/CMR.00031-06

Dubey, J., Vianna, M., Kwok, O., Hill, D., Miska, K., Tuo, W., Jenkins, M. (2007). Neosporosis in Beagle dogs: clinical signs, diagnosis, treatment, isolation and genetic characterization of *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, 149(3-4), 158–166. doi:10.1016/j.vetpar.2007.08.013

Dubey, J., Jones, J. (2008). *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *International Journal for Parasitology*, 38(11), 1257–78. doi:10.1016/j.ijpara.2008.03.007

Dubey, J., Schares, G. (2011). Neosporosis in animals-The last five years. *Veterinary Parasitology*, 180(1-2), 90–108. doi:10.1016/j.vetpar.2011.05.031
 Dubey, J., (2011). Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology* 41: 1-16.

Dubie, T., Terefe, G., Asaye, M., Sisay, T. (2014). Toxoplasmosis : Epidemiology with the emphasis of its public health importance. *Journal of Medicine and Medical Sciences* 2(4), 97–108.

Durlach Ricardo y Martino Pablo (2009). *Toxoplasma gondii*: Infección en Perros y Gatos. *Revista Veterinaria Argentina. Del Libro Temas de Zoonosis IV*. Edit. Asociación Argentina de Zoonosis. Capítulo 42

Enăchescu, V., Ioniță, M., Mitrea, I. (2013) Seroepidemiology of neospora caninum and toxoplasma gondii infections in dogs from southern Romania. *Lucrări Științifice Medicină Veterinară* Vol. XLvi(3), Timișoara 63.

Escalona, J., Corro, A., Suárez, C., Castillo, T., Pineda, Y. (2013) Seropositivity to *Neospora caninum* in Dogs of Rural and Urban Areas of Yaracuy State, Venezuela Rev. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela* . UCV. 54(1):29-34.

Ettinger, S. (1997). *Tratado de Medicina Interna Veterinaria*. Ed. Intermédica; Buenos Aires, Argentina. p. 22-32.

Ettinger, S., Sutter, P. (1970). *Canine Cardiology*. Ed. Saunders, Philadelphia, PA, USA. p. 224.

Figueredo, L., Dantas-Torres, F., de Faria, E., Gondim, L., Simões-Mattos, L., Brandão-Filho, S., Mota, R. (2008). Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. *Veterinary Parasitology*, 157(1-2), 9–13. doi:10.1016/j.vetpar.2008.07.009

Fridlund-plugge, N., Montiani-ferreira, F., Pizzol, Jr, P., Rosinelli, A., Locatelli-dittrich, R. (2008). Frequency of antibodies against *Neospora caninum* in stray and domiciled dogs from urban, periurban and rural areas from paraná state, southern brazil, *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 226, 222–226.

Galvão, A., Vaconcellos, A., Navarro, I., Bresciani, K. (2014). Aspectos da toxoplasmose na clínica de pequenos animais. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(1), 393. doi:10.5433/1679-0359.2014v35n1p393

Gavrea, R., Mircean, V., Pastiu, A., Cozma, V. (2012). Epidemiological survey of *Neospora caninum* infection in dogs from Romania. *Veterinary Parasitology*, 188(3-4), 382–385. doi:10.1016/j.vetpar.2012.03.044

Ghalmi, F., China, B., Kaidi, R., Daube, G., Losson, B. (2008). Detection of *Neospora caninum* in dog organs using real time PCR systems. *Veterinary Parasitology*, 155(1-2), 161–167. doi:10.1016/j.vetpar.2008.04.007

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: Inc*, 26(1), 136–40. doi:10.1177/1040638713515480

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Gharekhani, J., Gerami-Sadeghian, A., Tavoosidana, G., Sohrabei, A. (2014). Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in dogs and domestic equine from western Iran. *Comparative Clinical Pathology*. doi:10.1007/s00580-014-1885-

Goździk, K., Wrzesień, R., Wielgosz-Ostolska, A., Bień, J., Kozak-Ljunggren, M., Cabaj, W. (2011). Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* in dogs from urban areas in Central Poland. *Parasitology Research*, 108(4), 991–6. doi:10.1007/s00436-010-2143-0

Greene, C., (2006). *Enfermedades infecciosas del perro y el gato*. Ed. Intermédica. Argentina. p. 828-850.

Hosseininejad, M., Azizi, H., Hosseini, F., Schares, G. (2009). Development of an indirect ELISA test using a purified tachyzoite surface antigen SAG1 for sero-diagnosis of canine *Toxoplasma gondii* infection. *Veterinary Parasitology*, 164(2-4), 315–319. doi:10.1016/j.vetpar.2009.05.029

Hosseininejad, M., Hosseini, F., Mosharraf, M., Shahbaz, S., Mahzounieh, M., Schares, G. (2010). Development of an indirect ELISA test using an affinity purified surface antigen (P38) for sero-diagnosis of canine *Neospora caninum* infection. *Veterinary Parasitology*, 171(3-4), 337–342. doi:10.1016/j.vetpar.2010.04.003

Hosseininejad, M., Malmasi, A. (2010). Clinical neosporosis in three dogs in Shahrekord , Iran, *Comparative Clinical Pathology* 315–316. doi:10.1016/S0020-7519

Hosseininejad, M., Hosseini, F. (2011). Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection in dogs from west and central parts of Iran using two indirect ELISA tests and assessment of associate risk factors. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, Vol. 12, No. 1, Ser. No. 34.

Indies, W. (2014). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray and owned dogs of Grenada, West Indies, *Veterinary World*, Vol. 7, 661–664. doi:10.14202/vetworld.2014.661-664.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Ionescu, V., Ioniță, M., Mitrea, I. (2013). Lucrari Stiintifice - Universitatea de Stiinte Agricole a Banatului Timisoara, *Medicina Veterinara*, 46 (3). 63-69

Ishigaki, K., Noya, M., Kagawa, Y., Ike, K., Orima, H., Imai, S. (2012). Detection of *Nesopora caninum*-Specific DNA from Cerebrospinal Fluid by Polymerase Chain Reaction in a Dog with Confirmed Neosporosis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(8), 1051–1055. doi:10.1292/jvms.11-0341

Jadoon, A., Akhtar, T., Maqbool, A., Anjum, A., Ajmal, A. (2009). Seroprevalence of *Toxoplasma Gondii* in Canines. *The Journal of Animal & Plan Sciences* 19 (4), 179-181.

Jesus, E., Almeida, M., Atta, A. (2007). Anti-neosporal IgG and IgE antibodies in canine neosporosis. *Zoonoses and Public Health. Journal compilation* 54(9-10), 387–392. doi:10.1111/j.1863-2378.2007.01076.x

Jittapalapong, S., Nimsupan, B., Pinyopanuwat, N., Chimnoi, W., Kabeya, H., Maruyama, S. (2007). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats and dogs in the Bangkok metropolitan area, Thailand. *Veterinary Parasitology*, 145(1-2), 138–141. doi:10.1016/j.vetpar.2006.10.021

Junior, H. (2011). *Neospora caninum* antibodies and risk factors in dogs from Lages and Balneário, *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, n.1, p.262-265.

Keene, B., Bonagura, J. (1997). *Terapéutica Veterinaria de Pequeños Animales*. XII. Ed. McGraw-Hill Interamericana. México, D.F. p. 641 - 848.

Kiliç, S., Babür, C., Özkan, A., Mamak, N. (2008). Investigation of Anti-*Toxoplasma gondii* and Anti-*Leishmania infantum* Antibodies among Sivas Kangal Dogs, *The Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 32(4), 299–304.

Khanmohammadi, M., Ganji, S. (2012). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in shepherd dogs from Sarab District, Northwest Iran. *Comparative Clinical Pathology*, 23(2), 431–435. doi:10.1007/s00580-012-1637-9

Langoni, H., Matteucci, G., Medici, B., Camossi, L., Richini-pereira, V., Costa, R. (2012). Detection and molecular analysis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* from dogs with neurological disorders. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 45(3), 365–368.

Lin, Y., Taiching, A., Pong, L., Lin, M. (2013) Survey of *Toxoplasma gondii* in Taipei: Livestock Meats, Internal Organs, Cat and Dog Sera. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*. 43(1): 15-21.

Lindsay, D., Dubey, J., Duncan, R. (1999). Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, 82(4), 327–333. doi:10.1016/S0304-4017(99)00054-0

Lobato, J., Silva, D., Mineo, T., Amaral, D., Segundo, G., Julia, M., Costa-cruz, J. (2006). Detection of Immunoglobulin G Antibodies to *Neospora caninum* in Humans: High Seropositivity Rates in Patients Who Are Infected by Human Immunodeficiency Virus or Have Neurological Disorders Detection of Immunoglobulin G Antibodies to *Neospora caninum* in. *Clinical and Vaccine Immunology*. 13(1): 84–89. doi:10.1128/CVI.13.1.84

Lopes, A., Granada, S., Oliveira, A., Brancal, H., Dubey, J., Cardoso, L., Vilhena, H. (2014). Toxoplasmosis in dogs: first report of *Toxoplasma gondii* infection in any animal species in Angola. *Pathogens and Global Health*. 108(7):344-6. doi: 10.1179/2047773214Y.0000000160.

Lorenzo, V. y Bernardini, M. (2007). *Neurología del perro y el gato*. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina, p. 39:52

McAllister, M., Dubey, J., Lindsay, D., Jolleyw, R., Wills, R., McGuire, A. (1998). Dogs are definitive host of *Neospora caninum*. *The International Journal for Parasitology*. 28:1475-1478.

Macri, G., Sala, M., Linder, A., Pettrossi, N., Scarpulla, M. (2009). Comparison of indirect fluorescent antibody test and modified agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii*

immunoglobulin G antibodies in dog and cat. *The journal Parasitology Research*, 105(1), 35–40. doi:10.1007/s00436-009-1358-4

Mineo, T., Costa, G., Von Ancken, A., Kasper, L., Souza, M., Mineo, J. (2001). Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. *Veterinary Parasitology*, 98(4), 239–245. doi:10.1016/S0304-4017(01)00441-1

Ming Wu, S. Yang, S., Quan, B., Guang, F., Xu, J., Hui, D., Biao, Y., Quan, X., He, D., (2011) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in pet dogs in Lanzhou, Northwest China. *BioMed Central. Parasites & Vectors* 4: 64

Nelson, R. Couto, C., (2010). *Medicina Interna de pequeños animales*. Editorial Elsevier. España. p. 1364-1369.

Padilla, J., Castro I. (1987). *Apuntes de Medicina. Enfermedades de los Perros y los Gatos*. México. p. 28–34.

Palavicini, P., Romero, J., Dolz, G., Jiménez, A., Hill, D., Dubey, J. (2007). Fecal and serological survey of *Neospora caninum* in farm dogs in Costa Rica. *Veterinary Parasitology*, 149(3-4), 265–270. doi:10.1016/j.vetpar.2007.08.007

Paradies, P., Capelli, G., Testini, G., Cantacessi, C., Trees, A., Otranto, D. (2007). Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. *Veterinary Parasitology*, 145(3-4), 240–244. doi:10.1016/j.vetpar.2006.12.013

Perl, S., Harrus, S., Satuchne, C., Yakobson, B., Haines, D. (1998). Cutaneous neosporosis in a dog in Israel. *Veterinary Parasitology*, 79(3), 257–261. doi:10.1016/S0304-4017(98)00168-X

Petersen, E., Lebech, M., Jensen, L., Lind, P., Rask, M., Bagger, P., Björkman, C., Ugglå, A., (1999). *Neospora caninum* infection and repeated abortions in humans, *Journal of Emerging Infectious Diseases*, 5: 278.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Ploneczka, K., Mazurkiewicz, M. (2008). Seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs in south-western Poland. *Veterinary Parasitology*, 153(1-2), 168–171. doi:10.1016/j.vetpar.2008.01.007

Plugge, N., Ferreira, F., Richartz, R., Siqueira, A., Dittrich, R. (2011). Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* and/or *Toxoplasma gondii* in dogs with neurological signs. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 20(3), 202–206.

Ruiz, N., Casas, E., Suárez, F., Díaz, D., Fernández, V. (2012). Frecuencia de anticuerpos contra *neospora caninum* y *toxoplasma gondii* en canes con signos clínicos de afección neuromuscular, *Revista de investigaciones veterinarias del Perú*. 23(4), 441–447.

Razmi, G. (2009). Fecal and molecular survey of *Neospora caninum* in farm and household dogs in Mashhad area, Khorasan province, Iran. *Korean Journal of Parasitology*, 47(4), 417–420. doi:10.3347/kjp.2009.47.4.417

Regidor-Cerrillo, J., Pedraza-Diaz, S., Rojo-Montejo, S., Vazquez-Moreno, E., Arnaiz, I., Gomez-Bautista, M., Collantes-Fernandez, E. (2010). *Neospora caninum* infection in stray and farm dogs: Seroepidemiological study and oocyst shedding. *Veterinary Parasitology*, 174(3-4), 332–335. doi:10.1016/j.vetpar.2010.08.033

Reichel, M. (2000). *Neospora caninum* infections in Australia and New Zealand, *Australian Veterinary Journal*, 78(4), 258–261. DOI: 10.1111/j.1751-0813.2000.tb11751.x.

Reichel, M., Ellis, J., Dubey, J. (2007). Neosporosis and hammondiosis in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 48(6), 308–312. doi:10.1111/j.1748-5827.2006.00236.x

Reid, A., Vermont, S., Cotton, J., Harris, D., Hill-Cawthorne, G., Könen-Waisman, S., Wastling, J. (2012). Comparative genomics of the apicomplexan parasites *Toxoplasma gondii* and *neospora caninum*: Coccidia differing in host range and transmission strategy. *Plos Pathogens Journal*, 8(3), e1002567. doi:10.1371/journal.ppat.1002567

Robert-Gangneux, F., Klein, F. (2009). Serologic Screening for *Neospora caninum*, France. *Emerging Infectious Diseases*, 15(6), 987–988. doi:10.3201/eid1506.081414

Sánchez, G., Morales, S., Martínez, M., Trigo, J. (2003). Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 67(2), 142–145.

Santoscoy, E. (2008). *Ortopedía, Neurología y rehabilitación en pequeñas especies*. Manual Moderno. México. p. 355-362.

Schaer, M. (1991). *Clínicas Veterinarias de Norteamérica y Alteraciones Hidroelectrolíticas*; Intervet. Buenos Aires, Argentina. p. 32 – 38.

Schwarz, T., Johnson, V. (2008). *BSVA Manual of Canine and Feline Thoracic Imaging*. Ed. BSVA. England. p. 306

Sharifdini, M., Mohebbali, M., Keshavarz, H., Hosseininejad, M., Hajjarian, H., Akhondi, B. (2011). *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* Co-Infection in Domestic Dogs (*Canis familiaris*) in Meshkin-Shahr District , Northwestern Iran, *Journal of Arthropod-Borne Diseases*. 1(3), 60–68.

Sharma., R., Ordas, G., Tiwari, K., Chikweto, A., Iqbal, M., De Allie, C., Paterson, T. (2014) Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray and owned dogs of Grenada, West Indies. *Veterinary World*, EISSN: 2231-0916

Sicupira, P., de Magalhães, V., da Silva Galvão, G., Pereira, M., Gondim, L., Munhoz, A. (2012). Factors associated with infection by *Neospora caninum* in dogs in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 185(2-4), 305–308. doi:10.1016/j.vetpar.2011.09.029

Tarlow, J., Rudloff, E., Lichtenberger, M., Kirby, R. (2005). Emergency presentations of 4 dogs with suspected neurologic toxoplasmosis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 15(2), 119–127. Retrieved from <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-4431.2005.00134.x>

Tranas, J., Heinzen, R., Weiss, L. McAllister M., (1999). Serological Evidence of Human Infection with the Protozoan *Neospora caninum*. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 6: 765–767.

Troxel, M. (2009). Infectious Neuromuscular Diseases of Dogs and Cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24(4), 209–220. doi:10.1053/j.tcam.2009.06.003

Thrusfield, M., (1995). *Veterinary Epidemiology*. 2th edition. London. UKD. Blackwell Sciences. p. 185.

Václavek, P., Sedlák, K., Hůrková, L., Vodrážka, P., Šebesta, R., Koudela, B. (2007). Serological survey of *Neospora caninum* in dogs in the Czech Republic and a long-term study of dynamics of antibodies. *Veterinary Parasitology*, 143(1), 35–41. doi:10.1016/j.vetpar.2006.07.020

Willard, M., Tvedten, H. (2004). *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. Ed. Elsevier. USA p. 345-346.

Wang, Q., Jiang, W., Chen, Y., Liu, C.-Y., Shi, J., Li, X. (2012). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies, circulating antigens and DNA in stray cats in Shanghai, China. *Parasites & Vectors*, 5(1), 190.

Wu, S., Huang, S., Fu, B., Liu, G., Chen, J., Chen, M., Ye, D. (2011). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in pet dogs in Lanzhou, Northwest China. *Parasites & Vectors*, 4, 64. doi:10.1186/1756-3305-4-64

Yan, C., Fu, L., Yue, C., Tang, R., Liu, Y., Lv, L., Zheng, K. (2012). Stray dogs as indicators of *Toxoplasma gondii* distributed in the environment: the first report across an urban-rural gradient in China. *Parasites & Vectors*, 5(1), 5.

8. ANEXOS

Anexo	Contenido
A	Hoja de ingreso
B	Hoja de examen neurológico
C	Hoja de examen oftalmológico
D	Hoja de examen dermatológico
E	Esquema de base de datos
F	Materiales y reactivos
G	Propuesta de artículo



Anexo A. Hoja de ingreso

HOJA DE INGRESO

Nombre del propietario _____
 Dirección _____
 Teléfono _____ Raza _____ Paciente _____
 Peso _____ Color _____ Edad _____ Sexo _____

Biológicos CANINOS

Moquillo No No sabe Si Fecha _____
 Hepatitis No No sabe Si Fecha _____
 Leptospira No No sabe Si Fecha _____
 Parainfluenza No No sabe Si Fecha _____
 Parvovirus No No sabe Si Fecha _____
 Bordetella No No sabe Si Fecha _____
 Giardia No No sabe Si Fecha _____
 Rabia No No sabe Si Fecha _____

Desparasitación No No sabe Si Fecha _____
 Producto _____

Desde cuándo tiene a su mascota _____ Hay otros animales en casa _____
 Dieta principal de la mascota _____ Cuántas veces al día _____
 Otros alimentos que se le ofrezcan _____
 Duración de la enfermedad actual _____
 Ha estado en contacto con otros animales _____
 Medicamentos usados recientemente _____

Sistema tegumentario Han notado lesiones en piel Si No No sabe Área afectada Cabeza Tronco Cuello Extremidades
 Prurito Si No No sabe Descripción _____

Sistema músculo esquelético Anormalidades cuando camina Si No No sabe Miembro afectado _____
 Es intermitente Ha empeorado Se incrementa con el ejercicio Se mejora con medicamentos Si No No sabe
 Es constante Ha mejorado Desaparece con el ejercicio

Sistema respiratorio Tos Si No No sabe Productiva Si No No sabe Frecuente Infrecuente Duración _____
 Estornudos Si No No sabe Frecuente Infrecuente Duración _____ Disnea Si No No sabe
 Descarga nasal Si No No sabe Tipo _____

Sistema digestivo	Apetito <input type="checkbox"/> Sin <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Selectivo	Indigestión de agua <input type="checkbox"/> Aumentada <input type="checkbox"/> Disminuida <input type="checkbox"/> Normal	Deglución <input type="checkbox"/> Con dolor <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> No sabe
Vómito <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Relacionado con la comida <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	Descripción y frecuencia del vómito _____ _____	
Flatulencia <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Frecuencia de las evacuaciones <input type="checkbox"/> Incrementada <input type="checkbox"/> Disminuida	Consistencia de las evacuaciones _____	

Sistema nervioso	Comportamiento anormal <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Ataxia <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Dismetria <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Paresia <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Antecedentes familiares <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe
Paresis <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Propiocepción <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Convulsiones <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Descripción _____ _____		

Ojos	Descarga ocular <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Mucosa <input type="checkbox"/> Purulenta <input type="checkbox"/> Serosa <input type="checkbox"/>	Blefaro espasmo <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Opacidad corneal <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe	Ceguera <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe
-------------	--	--	--	---	--

Motivos de la consulta: _____

Historia clínica (anamnesis) _____

Anexo C. Hoja de examen oftalmológico

Oftalmología

Fecha: _____

Nombre del propietario:			
Paciente:	Especie:	Raza:	
Edad:	Sexo:	Color:	Peso:
Expediente:		Médico a cargo:	

MOTIVO DE LA CONSULTA	O.D.	O.I.
-----------------------	------	------

Visión disminuida		
Secreción ocular		
Ceguera diurna		
Ceguera nocturna		
Aumento de tamaño		

Duración del problema:
Descripción de la secreción:

PADECIMIENTOS DE OTRO ORIGEN

Cardíaco:	Respiratorio:	Neurológico:
Urinario:	Esquelético:	Digestivo:
Dermatológico:	Reproductivo:	Otro:

EXAMEN FÍSICO

T° _____ F. Cardíaca: _____ F. Respiratoria: _____ Pulso: _____

EXAMEN OFTALMOLÓGICO

OJO DERECHO		OJO IZQUIERDO	
R. Palpebral		R. Palpebral	
R. Directo	Consensual	R. Directo	Consensual
R. Seguimiento		R. Seguimiento	
R. Amenaza		R. Amenaza	
Schimmer1	mmHg/min	Schimmer1	mmHg/min
Schimmer2	mmHg/min	Schimmer2	mmHg/min
P.I.O Schiotz		P.I.O Schiotz	
Aplanación	mmHg	Aplanación	mmHg

CONJUNTIVA

OJO IZQUIERDO	OJO DERECHO
Cambio de color	Cambio de color
Secreción	Secreción
Aumento de volumen	Aumento de volumen

Párpados:

CÓRNEA

OJO IZQUIERDO	OJO DERECHO
Fluoresceína (+) (-)	Fluoresceína (+) (-)

CÁMARA ANTERIOR

OJO IZQUIERDO	OJO DERECHO
Gonioscopia	Gonioscopia

LENTE CRISTALINO

OJO IZQUIERDO	OJO DERECHO
Luxación	Luxación
Opacidad	Opacidad

Fondo ocular derecho:

Fondo ocular izquierdo:

Procedimientos especiales:

Laboratorio:

Anexo E. Esquema general de la base de datos

Base 2014 DATOS ACTUALES.xlsx - Microsoft Excel

BASE DE DATOS

	Fecha	Apellido	Alfavo	Nbeas	Interpret	Alfiron	Nbeas	Interpret	Edad	Raza	Sexo	Talla	Vacuna	Exposición	Motivo	Alqencia	Pocos	Almencia	Cambios	Se
4	25-Jun	Galileo 1293	0.255	2.2631879	0	0.068	1.038180	0	0	Eslovaco	M	G	1	1	10	0	1	1	0	5
5	01-feb	Goody	0.299	4.5799474	0	0.069	0.2276367	0	0	Mexico	M	P	1	1	3	0	2	1	0	4
6	28-ago	Jhony	0.098	-0.4210536	0	0.063	-0.2048095	0	0	Polyni	M	M	1	1	9	0	1	0	4	0
7	28-dic	Hans	0.122	0.328282	0	0.072	0.2078489	0	3	Roswiler	M	G	1	1	2	0	1	1	4	0
8	15-ene	Trini	0.300	7	0	0.127	3.042308	0	8	Schmayer	H	P	1	1	4	0	1	0	0	4
9	25-abr	Dobro	0.082	1.8847988	0	0.005	1.681918	0	3	Sulthofer	M	M	1	0	14	0	3	0	1	0
10	20-ago	Bianca 1238	0.160	5.8421062	0	0.068	0.2574304	0	0	Inhuahufo	H	P	1	1	10	0	0	0	0	3
11	18-may	Joni	0.289	23.210526	0	0.109	1.8892347	0	10	Jor Asifofoto	M	M	1	1	9	0	1	1	0	4
12	25-nov	Tacho 1238	0.098	20.708842	0	0.118	2.5042095	0	0	Jator Aleman	M	G	1	1	10	1	1	1	4	1
13	01-mar	Legacia	0.090	-0.4736842	0	0.073	0.3148628	0	13	Jator Aleman	M	G	1	1	1	0	1	1	4	2
14	22-abr	Dicky 11724	0.054	-1.0526106	0	0.063	0.1401164	0	0	Pig	M	P	4	1	12	4	0	0	0	0
15	28-nov	Bethoven	0.095	3.2651570	0	0.126	2.9995558	0	0	Jam Neapolitano	M	G	1	1	13	1	1	0	0	0
16	01-feb	Tomas	0.054	-1	0	0.074	0.3616680	0	3	Mexico	M	M	1	1	0	1	2	1	4	7
17	01-feb	Suzanne	0.098	0.0000000	1	0.073	0.4082718	0	9	Copier S	M	M	1	1	4	1	0	0	4	0
18	01-feb	Javier	0.078	1.4706842	0	0.093	1.4042067	0	8	Poodie	M	P	1	1	0	1	2	2	4	7
19	23-ago	Hunter	0.129	0.2631570	0	0.073	0.7020818	0	2	Fibuti	M	M	1	0	3	0	1	1	0	8
20	01-feb	Georgio	0.080	1.4210526	0	0.077	0.4788800	0	5	Mexico	M	M	1	1	0	2	2	2	4	7
21	22-nov	Faco	0.093	3.1052812	0	0.085	1.1235528	0	0	Mexico	M	M	0	0	13	0	0	0	4	0
22	20-ene	Simba	0.087	2.4310526	0	0.16	4.5635383	0	2	Gran Dencia	M	G	1	1	13	0	0	0	4	0
23	01-feb	Mirna	0.080	0.0000000	1	0.16	5.496668	0	4	Dachund	H	P	1	1	0	2	2	2	4	7
24	01-feb	Mia	0.089	0.5201280	0	0.142	3.8976369	0	1	Golden Re	M	G	1	1	1	0	1	0	0	8
25	22-ago	Carmie	0.100	0.8421053	0	0.073	0.4212407	0	0	Mexico	H	M	1	1	5	0	1	0	0	2
26	13-dic	Mia	0.070	-0.6842305	0	0.115	2.45729	0	2	Mexico	M	P	1	1	9	0	1	1	4	4
27	01-feb	Kyri	0.109	11.262852	0	0.079	0.482208	0	2	Mexico	M	P	1	1	0	0	1	0	4	7
28	18-nov	Foto	0.109	0.7084211	0	0.065	1.3915878	0	1	Mexico	H	P	1	0	2	0	0	0	0	0
29	18-oct	Marisa	0.280	12.804737	0	0.101	1.8233124	0	8	Inhuahufo	H	P	1	1	2	0	1	1	0	0
30	13-ago	Maria	0.100	2.8115385	0	0.063	0.9381105	0	8	Inhuahufo	M	P	0	1	14	0	0	0	0	1
31	02-oct	Gene	0.099	0.5201280	0	0.13	4.0954833	0	3	Lebrador	H	G	0	0	12	0	0	0	0	0

Anexo F. Materiales y reactivos

Materiales:

- Micropipetas o pipetas multicanales dispensadoras de volúmenes de 10 µl, 100 µl y 200 µl
- Puntas de pipetas
- Lector de placas para ELISA
- Agua destilada
- Lavador de placas
- Microplacas de pre-dilución de 96 pocillos
- Tubos para suero
- Centrífuga
- Jeringas
- Rasuradora
- Torundas de algodón
- Tubos Eppendorf

Reactivos:

- Microplacas sensibilizadas con un extracto de *Neospora caninum*
- Microplacas sensibilizadas con un extracto de *Toxoplasma gondii*
- Conjugado concentrado (10X)
- Control positivo
- Control negativo
- Diluyente 2
- Diluyente 3
- Solución de lavado concentrada (20X)
- Solución de revelación (TMB)
- Solución de parada (H_2SO_4 0.5M)

Anexo G. Propuesta de artículo

Revista Electrónica Nova Scientia

**Baja seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en perros con signología clínica
neurológica y respiratoria en Aguascalientes, México**
**Low prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs with neurological and
respiratory signs in Aguascalientes, Mexico**

Arcelia-De la Cerda-Villar¹, Raúl-Ortiz-Martínez^{1*}, Arturo-Valdivia-Flores²,
Teódulo-Quezada-Tristán²

¹ Profesor Investigador de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Centro de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Disciplinas Pecuarias. Aguascalientes, Ags. México.

² Profesor Investigador de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Centro de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Clínica Veterinaria. Aguascalientes, Ags. México.

México

Raúl Ortiz Martínez *Autor de correspondencia E-mail: rortiz@correo.uaa.mx

Centro de Ciencias Agropecuarias, Carretera la posta zootécnica, Jesús María, Ags. México. C.P. 20908. Tel. +52 044 449 467 68 60

© Universidad De La Salle Bajío (México)

Resumen

Toxoplasma gondii es un parásito protozoario que afecta la salud de los caninos y afecta prácticamente a todos los órganos y sistemas corporales; principalmente se observa una presentación clínica de tipo neurológica y respiratoria. El objetivo de éste estudio fue detectar la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* y evaluar los factores de riesgo en pacientes que manifestaron signos clínicos neurológicos y/o respiratorios así como en pacientes asintomáticos atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, Mexico (HVUAA). Se colectaron un total de 92 muestras serológicas mediante venupunción. Se atendieron 46 casos que presentaron signos clínicos de tipo neurológico, respiratorio o ambos; así como, 46 controles sin ninguna sintomatología detectable. 23 pacientes fueron machos y 23 hembras en ambos grupos. Las muestras sanguíneas se procesaron mediante un ELISA indirecta IdScreen® multiespecie y se leyeron en un espectrofotómetro a 450 nanómetros, considerando positivos a los animales con un %S/P de más de 50%. Dentro de ambos grupos se detectó un mismo valor de seroprevalencia de 6.52%. Se realizó un diagnóstico diferencial ante *Neospora caninum* no encontrando ningún paciente seropositivo. Éste estudio es el primer trabajo que se realiza en Aguascalientes que aporta información sobre la Toxoplasmosis en perros.

Palabras clave: *Toxoplasmosis, perros, ELISA, signos clínicos.*

Abstract

Toxoplasma gondii is a protozoan parasite that affects the dog's health and can sick most the organs and body systems, primarily a clinical presentation of neurological and respiratory rate are observed. The objective of this study was to detect the presence of antibodies to *T. gondii* and evaluate the risk factors in patients who

showed neurological and / or respiratory clinical signs also in asymptomatic patients treated at the Veterinary Hospital of University Autonomous of Aguascalientes, Mexico (HVUAA). A total of 92 serum samples were collected by venipuncture. 46 cases showed neurological, respiratory or both clinical signs; 46 controls with no detectable symptoms. 23 patients were males and 23 females in both groups. Blood samples were processed by indirect ELISA multispecies in a spectrophotometer at 450 nm , considering positive animals with more than 50 %. In both groups a 6.25% of seroprevalence was detected. A differential diagnosis in *Neospora caninum* was performed finding no seropositive patients. This study is the first work done in Aguascalientes that provides information on Toxoplasmosis in dogs.

Key words: *Toxoplasma gondii*, dogs, ELISA, clinical signs.

Introducción: *Toxoplasma gondii* es un protozooario apicomplejo de ciclo biológico indirecto; su distribución es mundial y afecta a una gran variedad de especies de mamíferos. Los gatos domésticos y salvajes, son los únicos huéspedes definitivos (Tarlow et al., 2005, 119). Los signos clínicos usualmente ocurren en asociación con un sistema inmune debilitado (Hosseininejad et al., 2009, 315). Su ciclo de vida es tipificado por tres estados infecciosos: taquizoito, quiste y ooquiste. Los taquizoitos y los quistes son los estados encontrados en los huéspedes intermediarios y son intracelulares (Dubey et al, 2002, 930).

Los signos clínicos que pueden presentar los huéspedes intermediarios pueden variar considerablemente e incluyen desórdenes neuromusculares, respiratorios, gastrointestinales, oculares, cardiacos y del sistema linfático (Hosseininejad et al., 2009, 315; Tarlow et al., 2005, 119). La enfermedad de tipo neurológica causada por este protozooario es poco diagnosticada en perros. Las manifestaciones neurológicas dependen del sitio de la lesión en el cerebro, cerebelo y médula espinal. Se han observado convulsiones, déficits del nervio craneal, temblores,

ataxia, y paresia o parálisis. Los perros con miositis pueden presentar en un comienzo una marcha anormal, contracción muscular o rigidez. La paraparesia y tetraparesia pueden avanzar con rapidez hasta una parálisis de la neurona motora inferior (Hosseininejad y Malmasi, 2010, 315; Fridlund et al., 2008, 223). La toxoplasmosis pulmonar es la presentación más común en perros y es especialmente grave en cachorros infectados llegando a provocar muerte neonatal. La toxoplasmosis también puede causar miocarditis. De igual forma se han descrito manifestaciones oculares como uveítis, corioretinitis y neuritis óptica, sin embargo los perros con reporte de signos oculares no reportan signos sistémicos de manera concurrente (Tarlow et al., 2005, 120; Greene, 2006,833).

En México se han realizado algunos estudios sobre la seroprevalencia de la Toxoplasmosis en perros del área rural y urbana en diferentes estados de la República como Oaxaca, Durango y Veracruz; sin embargo, no hay reportes de prevalencia de estas enfermedades en pacientes con signos clínicos de enfermedad.

El objetivo del presente estudio fue investigar la presencia de anticuerpos anti *T.gondii* en perros con afección neuromuscular y/o respiratoria que acudieron a revisión al HVUAA y asociar los signos a los títulos de anticuerpos con factores de riesgo asociados.

Método: Se realizó un estudio con diseño de Caso-Controles en perros que asistieron al Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, ubicado en Aguascalientes, México. Las muestras se recolectaron en un periodo de 13 meses (febrero 2013 hasta marzo 2014). Se consideraron como casos a los perros con dos más signos clínicos neuromusculares y/o respiratorios; mientras que se identificaron como controles a los perros que no mostraban signos clínicos de afección neuromuscular y/o respiratorios. Se consideró como afección neuromuscular los signos clínicos de mialgia, nistagmo, ataxia, paresia, parálisis y

convulsiones. Se consideró como afección respiratoria los signos de crepitaciones, estertores, disnea y secreción nasal. A los propietarios se les solicitó su participación y consentimiento informado y se aplicó un cuestionario con información de la mascota. El cuestionario incluyó datos clínicos y zootécnicos, como edad, sexo, raza, tipo de alimento que consumían, hábitos de paseo, interacción con otros animales y calendario de medicina preventiva. Se realizó una exploración física completa (Birchard y Sherding 1996, 1-14) y, se registró la signología que presentaba al momento de la exploración clínica.

Se obtuvieron 5 mL de sangre en un vacutainer sin anticoagulante, mediante la punción de la vena yugular en cachorros y perros miniatura y de la vena cefálica en el caso de perros adultos y de talla mediana o grande. Se obtuvieron 5 mL de sangre; posteriormente la sangre se transfirió a un tubo de vidrio (13x75 mm) sin anticoagulante. Se dejó reposar la sangre obtenida de 15 a 30 minutos para permitir que coagulara la muestra y posteriormente se procedió a centrifugarla (1,000 rpm 15 min); se tomaron dos alícuotas del suero en microtubos de plástico Eppendorf de 1.5 mL con tapa de presión. Se identificaron y se congelaron (-80°C) hasta su análisis (Yan *et al.*, 2012, 5). El procedimiento de análisis de las muestras se realizó mediante kits comerciales de acuerdo a las especificaciones provistas por el fabricante para la realización de la ELISA indirecta; para *T. gondii* se utilizó un kit comercial Id Screen® Toxoplasmosis indirect multi species ELISA Kit (Francia); para la detección de *N. caninum* se utilizó Id Screen® Neospora indirect multi species ELISA Kit (Francia). Todas las muestras se realizaron por duplicado, con temperatura e iluminación controladas. Posteriormente se leyeron las placas en un espectrofotómetro (Biotek® USA) a una densidad óptica de 450 nm. Los ensayos se consideraron válidos si en cada corrida la densidad óptica del control positivo era mayor a 0.350. La interpretación de cada muestra (Tabla 1) se obtuvo mediante el porcentaje entre la muestra (S) y el control positivo (P), conforme el siguiente cálculo (S/P%):

$$\% \frac{S}{P} = 100 \left(\frac{DO(Suero) - DO(CN)}{DO(CP) - DO(CN)} \right)$$

Dónde:

OD=Densidad óptica

CN=Control Negativo

CP=Control Positivo

%S/P= Muestra al positivo

Tabla 1. Interpretación para la prueba de ELISA para *T. gondi* y *N. caninum*.

RESULTADO	ESTADO
$S/P \leq 40\%$	Negativo
$40\% < S/P < 50\%$	Dudoso
$50\% \leq S/P < 200\%$	Positivo
$S/P \geq 200\%$	Altamente positivo

Los datos demográficos y los derivados de la aplicación de instrumentos para la obtención de información de los pacientes, se registraron en una base de datos elaborada en una hoja electrónica (Microsoft office Excel 2007) para su análisis estadístico. Se consideraron positivos los casos cuyas muestras que mostraron un S/P 50%-200%. La seropositividad se relacionó con las variables edad, raza, género, tipo de alimentación, régimen de vacunación y desparasitación, hábitos de paseo, convivencia con otros animales y manifestaciones clínicas que manifestaron durante su revisión. Los datos obtenidos se analizaron mediante Chi-cuadrada (X^2) para probar la independencia de las variables anteriormente mencionadas. Del mismo modo, se realizó prueba de Razón de Momios (Odd Ratio) para estimar el riesgo de ocurrencia. Para todos los análisis estadísticos, se utilizó el Software *Statgraphics Centurion*, versión 15.2.05. *Statpoint Technologies, Inc*. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando el valor de $P \leq 0.05$, con un intervalo de confianza (CI) de 95% calculado para cada rango de seropositividad.

Resultados: De la cantidad total de pacientes, 1073 perros, atendidos en el Hospital Veterinario de enero 2013 a marzo 2014, se logró obtener 92 muestras para su análisis serológico. Esto representó el 8.57% de la población atendida. Del total de muestras, 46 correspondieron a pacientes considerados como Casos y 46 a los pacientes Control. De ellos el 6.52% de los pacientes con manifestaciones clínicas anticuerpos detectables para *T. gondii*. En contraste, ningún paciente tuvo anticuerpos detectables para *N. caninum*. De los pacientes asintomáticos el 6.52% mostró seropositividad a *T. gondii*. No se detectaron anticuerpos para *N. caninum*.

Las características demográficas de los 92 pacientes incluidos en éste estudio para la detección de *N. caninum* y *T. gondii* se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Características demográficas de los pacientes del estudio.

Características	Condición	Controles	Casos
Edad	< 1 año	22	22
	>1 año	24	24
Sexo	Hembras	15	23
	Machos	31	23
Raza*	Sí	34	34
	No	12	12
Desparasitación	Si	36	26
	No	10	20
Vacunaciones	Sí	40	29
	No	6	17
Convivencia con otras especies	Sí	20	23
	No	26	23
Croquetas	Sí	23	26
	No	23	20
Medio Urbano	Sí	3	7
	No	43	39
Manifestaciones clínicas sugestivas	Sí		46
	No	46	

***Raza: Ejemplares con características de prototipos aceptados por la Federación Canófila Mexicana (FCM).**

Los resultados de la detección de anticuerpos se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la detección de anticuerpos en los pacientes estudiados.

Grupo	Seropositivos (%)	
	Anti-Neospora	Anti- Toxoplasma
Control	No detectables	6.52
Casos		6.52

La técnica utilizada no detectó anticuerpos anti-Neospora en ninguno de los dos grupos. Sin embargo en ambos grupos se detectó el mismo porcentaje de anticuerpos anti-Toxoplasma.

En el grupo de pacientes Controles, la frecuencia de perros seropositivos a *T. gondii* fue de 6.52%. Ninguno de los pacientes tuvo manifestaciones clínicas de neurológicas o respiratorias. Los pacientes del grupo Casos, presentaron una frecuencia de perros seropositivos a *T. gondii* de 6.52%. De este grupo, sólo el 2.17% presentó únicamente afección neuromuscular; el 4.34% presentó afectación neuromuscular y respiratoria así como la presentación de manifestaciones dermatológicas y oftálmicas. Las manifestaciones clínicas observadas en los pacientes que tuvieron manifestaciones clínicas nerviosas fueron: ataxia, paresia, mioclonos y atrofia muscular.

Posteriormente, la seroprevalencia anti-Toxoplasma se contrastó con la edad, sexo, raza, medicina preventiva (vacunas y desparasitaciones), hábitos de paseo, dieta, hábitat y manifestaciones clínicas de los pacientes. Los datos fueron analizados mediante Chi-cuadrada, considerándose estadísticamente significativos los valores con un $P \leq 0.05$. Los resultados del análisis de factores de riesgo en los pacientes positivos a *T. gondii* se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados del análisis entre los anticuerpos y las características generales de los pacientes seropositivos a *T. gondii*

Factor de riesgo		Pacientes (#)	Seropositivos (%)	X ²	P
Género	Hembra	54	7.40	1.703	0.1919
	Macho	38	5.26		
Edad	<0	44	6.81	0.012	0.9122
	>1	48	6.25		
Hábitat	Rural	82	4.87	3.343	0.06
	Urbano	10	20.0		
Alimentación	Croquetas	49	4.08	1.024	0.311
	Casera	43	9.30		
Convivencia	Convivencia	49	8.16	1.024	0.311
	Sin convivencia	43	4.65		
Vacunas	Vacunados	69	4.34	2.140	0.143
	No vacunados	23	13.0		
Desparasitación	Desparasitados	62	4.83	0.883	0.3473
	No desparasitados	30	10.0		
Paseos	No realiza	27	3.70	0.498	0.480
	Si realiza	65	7.69		
Razas	Mestizos	24	8.33	0.175	0.675
	Puras	68	5.88		
Manif. Clínicas	Sugestivas	56	7.14	0.091	0.763
	No sugestivas	36	5.55		

Entre los resultados destacables se encuentra que los pacientes menores a 1 año tuvieron anticuerpos anti-Toxoplasma un mayor porcentaje de casos seropositivos que en otras edades; igualmente los perros mestizos y las hembras. Los pacientes que consumieron alimento casero, los que no tienen convivencia con otras especies y a los que pasean también tuvieron más mayor porcentaje de casos seropositivos. Los pacientes no vacunados, no desparasitados y con manifestaciones clínicas sugestivas, también tuvieron un mayor porcentaje de casos positivos, que sus contrapartes. Sin embargo a pesar de las diferencias encontradas, el análisis no reveló una asociación causal entre la seropositividad y las variables estudiadas. Es decir las diferencias encontrada en la seropositividad, son atribuibles al azar y no a

alguna de las condiciones de los pacientes. De igual forma se realizó la prueba de Razón de Momios (OR) para variables bajo en el estudio, con la finalidad de conocer el riesgo o posibilidad de seropositividad (exposición) a *T.gondii*. Los resultados de presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Razón de momios de factores de riesgo de los pacientes seropositivos.

Factor de riesgo		Pacientes (#)	Seropositivos (%)	OR
Género	Hembra	54	7.40	0.
	Macho	38	5.26	32
Edad	<0	44	6.81	1.
	>1	48	6.25	09
Alojamiento	Rural	82	4.87	0.
	Urbano	10	20	20
Alimentación	Croquetas	49	4.08	0.
	Mixto	43	9.30	41
Convivencia	No convive	49	8.16	0.
	Si convive	43	4.65	41
Vacunas	Vacunados	69	4.34	3.
	No vacunados	23	13.0	3
Desparasitación	Desparasitados	62	4.83	2.
	No desparasitados	30	10	18
Paseos	No realiza	27	3.70	0.
	Si realiza	65	7.69	46
Razas	Mestizos	24	8.33	0.
	Puras	68	5.88	68
Manif. clínicas	Sugestivas	56	7.14	1.
	No sugestivas	36	5.55	30

Los resultados del análisis de razón de momios, muestran que la probabilidad más alta asociada a la seropositividad (3.3) se encontró en los pacientes que no estuvieron vacunados. En seguida, en orden descendiente, se encontró en el apartado de desparasitaciones indican que los pacientes no desparasitados, tuvieron 2.18 veces más probabilidad de resultar seropositivos que los pacientes desparasitados, De igual manera los pacientes que presentan signos sugestivos a la enfermedad, tiene 1.3 veces más probabilidad de mostrar seropositividad. Lo anterior parecería indicar por lo menos, una exposición al parásito. En contraste, el alojamiento, la alimentación, la convivencia con otras especies y la realización de paseos, mostraron un “Efecto Protector” para los pacientes, ya que el valor de OR para ellos resultó ser menor a 1, lo que parecería indicar la conveniencia de vigilar o hacer recomendaciones al respecto. Las variables o factores de riesgo tales como el género y raza mostraron OR también fueron menores a 1. La edad no mostró ser un factor de riesgo importante para la seropositividad de los pacientes estudiados, ya que aunque su OR sea ligeramente mayor a 1, la probabilidad de que la seropositividad esté relacionada con la edad, es del 50%, es decir que existen las mismas probabilidades de ocurrencia, independientemente de la variable.

Discusión: En éste estudio se analizó la seropositividad de *T. gondii* y *N. caninum* en pacientes con y sin manifestaciones clínicas que fueron atendidos en el HV-UAA. Todos los pacientes fueron mascotas, es decir, tenían dueño o responsable que pudo aportar información precisa sobre su edad, vacunaciones, tipo de alimentación, convivencia con otras especies y datos relevantes para éste estudio lo que permitió obtener la información clínica zootécnica necesaria de cada canino incluido en éste estudio y comparar los resultados de las muestras analizadas con las variables seleccionadas.

La seropositividad de toxoplasmosis encontrada en nuestros pacientes con sintomatología fue de 6.52% (3/46), la cual comparada con estudios similares presenta diferencia respecto a lo reportado en otros países tal como Brasil en el cuál

Mineo *et al.*, 2001 reportan una frecuencia de 36%, Fridlund *et al.*, 2011 21.08%, Langoni *et al.*, 2012, 22% y en la ciudad de Lima, Ruiz *et al.*, 2012 reportaron un $24.0 \pm 8.5\%$ de frecuencia. Por otro lado en los pacientes del grupo Control, la seropositividad correspondió a 6.52% (3/46) teniendo seroprevalencia similar a lo reportado por Ruiz, *et al.*, 2012 que reportaron una frecuencia de 3.3 ± 3.1 . Comparando la seropositividad de nuestro estudio, encontramos resultados similares con porcentaje de seroprevalencia reportado por Jittapalapong *et al.*, 2007 de 9.4%, Hosseininejad y Hosseini 2011 de 8.94%, Reid *et al.*, 2012 de 10.1% y Gharekhani *et al.*, 2014 de 10.7%.

En contra parte a nivel mundial se han realizado diversos estudios de seroprevalencia de anticuerpos anti *T. gondii* que muestran diferencia en porcentaje respecto a lo encontrado en nuestro estudio, Ali *et al.*, 2003 reportan 32%, Azevedo *et al.*, 2005, 45.1%, Aguiar *et al.*, 2012, 57.6%, Kilic *et al.*, 2008, 92%, Wang *et al.*, 2012, 21.6%, Yan *et al.*, 2012, 40.93%, Enachescu *et al.*, 2013, 50%, Alvarado *et al.*, 2014, 67.3%, Dantas *et al.*, 2014, 15.6%, Gharekhani *et al.*, 2014., 10.7% y Sharma *et al.*, 2014, 33.4%. Los hábitos alimenticios no fueron estadísticamente significativos en nuestro estudio, lo que difiere de un estudio realizado por Ali *et al.*, 2003 que reportaron mayor seroprevalencia en pacientes que consumían croquetas con comida casera. Los pacientes que pasan tiempo fuera de casa, es decir que realizan paseos tampoco tuvieron un valor estadísticamente significativos, lo cual difiere de lo reportado por Ali *et al.*, 2003 quienes se reportaron una mayor prevalencia en pacientes que realizaban paseos libres o sin supervisión, lo cual sugiere un riesgo de exposición. Se encontró que pacientes menores a 1 año presentaron mayor porcentaje de seropositividad, lo cual difiere de lo reportado por Enachescu *et al.*, 2013 y Yan *et al.*, 2012, quienes encontraron un mayor número de pacientes afectados mayores de un año, sugiriendo una exposición post-natal. Sin embargo Jadoon, *et al.*, 2009 señala que pacientes hembras menores a un año tuvieron una mayor seropresencia, situación que es coincidente con nuestro estudio, pero como ya se mencionó, nuestros resultados no fueron estadísticamente significativos.

La mayoría de los pacientes contaban con un calendario de vacunación y desparasitación actualizado, en el análisis de OR muestra que la falta de seguimiento en ambas intervenciones genera un riesgo para los pacientes. Esta situación es consistente con el estudio realizado por Aguiar *et al.*, en donde pacientes enfermos con distemper canino, se encontraban también afectados de Toxoplasma, Neosporosis o ambas. Esta situación se presenta de manera secundaria a una inmunodepresión lo cual deriva frecuentemente en el establecimiento de las enfermedades que estudiamos, como patógenos oportunistas. Esta situación sugiere que pacientes vacunados y desparasitados oportunamente, se mantienen inmunocompetentes para afrontar desafíos de estos parásitos y de otros agentes.

La nula seropositividad ante *N. caninum* como diagnóstico diferencial obtenida en nuestro estudio puede ser atribuida a la variable de vivienda, ya que nuestros perros son del área rural pero habitan en una vivienda y tiene se tiene el cuidado que no deambulen libremente.

Conclusión: El estudio realizado es el primero realizado en una institución clínico-hospitalaria de referencia en el estado de Aguascalientes lo que permitió explorar y analizar con más elementos los resultados obtenidos. La presencia de anticuerpos anti-Toxoplasmosis se detectó tanto en los dos grupos de pacientes en un porcentaje menor a lo esperado, lo que sugiere que las intervenciones médicas han sido suficientes para mantener la enfermedad bajo control. No se detectaron anticuerpos anti-Neospora. Considerando el valor de OR en los factores de riesgo, es importante promover intervenciones médicas integrales, es decir que involucren al menos los factores de riesgo estudiados, sin descuidar aquellos descritos por otros autores. Insistir en la importancia de seguir recomendaciones médicas que eviten factores de riesgo para los perros tales como la falta de vacunación y desparasitación, ya que al parecer esto hace que el sistema inmune mantiene su competencia. Se deben continuar con la realización de estudios en ámbitos clínicos incrementando el número de muestras y de pruebas para la detección de otras enfermedades que

permitan distinguir enfermedades con cursos clínicos similares como el Distemper Canino, ya que permitirían realizar diagnósticos oportunos y precisos para actuar en consecuencia con medidas preventivas y curativas. A pesar de la baja seroprevalencia encontrada se considera que ambas enfermedades deben ser incluidas como diagnóstico diferencial en pacientes que tengan manifestaciones clínicas compatibles con las enfermedades parasitarias estudiadas.

Agradecimientos: A la Universidad Autónoma de Aguascalientes así como el Centro de Ciencias Agropecuarias y el equipo de investigación que labora en éste centro que fueron pieza fundamental para poder realizar éste proyecto y la realización de los estudios de laboratorio.

CONACYT por financiar la beca de posgrado otorgada para mis estudios No. CVU Conacyt 370635. No. De registro 248445 y, a la Universidad Autónoma de Aguascalientes especialmente al Centro de Ciencias Agropecuarias por el financiamiento de este proyecto.

Referencias

Aguiari, D., Amude, A., Santos, L., Ribeiro, M., Ueno., Megid, J., Paes, A., Alfieri, A., Gennari, S. (2012). Canine distemper virus and *Toxoplasma gondii* co-infection in dogs with neurological signs. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.64, n.1, p.221-224.

Ali, C., Harris, J., Watkins, J., Adesiyun, A. (2003). Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in dogs in Trinidad and Tobago. *Veterinary Parasitology*, 113(3-4), 179–187. doi:10.1016/S0304-4017(03)00075-X

Alvarado-Esquivel, C., Romero-Salas, D., Cruz-Romero, A., García-Vázquez, Z., Peniche-Cardena, A., Ibarra-Priego, N., ... Dubey, J. P. (2014). High prevalence of

Toxoplasma gondii antibodies in dogs in Veracruz, Mexico. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 191. doi:10.1186/s12917-014-0191-x

Azevedo, S., Batista, C., Vasconcellos, S., Aguiar, D., Ragozo, A., Rodrigues, A., Gennari, S. (2005). Seroepidemiology of Toxoplasma gondii and Neospora caninum in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. *Research in Veterinary Science*, 79(1), 51–6. doi:10.1016/j.rvsc.2004.10.001

Birchard, S., Sherding, R. (1996). *Manual Clínico de Pequenas Especies*; Ed. McGraw – Hill. Interamericana Vol.1; México. p.1-14.

Dantas, S., Fernandes, A., Souza, O., De Mota, R., Alves, C., Azevedo, S. (2014a). Fatores de risco para a ocorrência de anticorpos contra Toxoplasma gondii e Neospora caninum em cães domiciliados no Nordeste do Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(2), 875. doi:10.5433/1679-0359.2014v35n2p875

Dubey, J., Barrb, C., Bartac, J., Bjerka, I., Bjo`rkmane O., Blagburnf, B., Bowmang, D., Buxtonh, D., Ellisi, J., Gottsteinj, B., Hemphillj, A., Hilla, D., Howek, D., Jenkinsa, M., Kobayashil, Y., Koudelam, B., Marsho, A., Mattssonp, J., McAllisterq, M., Modry, D., Omatar, Y., Sibleys, L., Speert, C., Treesu, A., Ugglap, A., Uptonv, S., Williamsu, D., Lindsayw, D. 2002. Redescription of Neospora caninum and its differentiation from related coccidia. , 32, pp.929–946.

Enăchescu, V., Ioniță, M., Mitrea, I. (2013) Seroepidemiology of neospora caninum and toxoplasma gondii infections in dogs from southern Romania. *Lucrări Științifice Medicină Veterinară Vol. XLvi(3)*, Timișoara 63.

Fridlund-plugge, N., Montiani-ferreira, F., Pizzol, Jr, P., Rosinelli, A., Locatelli-dittrich, R. 2008. Frequency of antibodies against neospora caninum in stray and domiciled dogs from urban , periurban and rural areas from paraná state , southern brazil *. , 226, pp.222–226.

Gharekhani, J., Gerami-Sadeghian, A., Tavoosidana, G., Sohrabei, A. (2014). Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in dogs and domestic equine from western Iran. *Comparative Clinical Pathology*. doi:10.1007/s00580-014-1885-

Greene, C., 2006. Enfermedades infecciosas del perro y el gato. Ed. Intermédica. Argentina. p. 833-840.

Hosseininejad, M., Azizi, H., Hosseini, F., Schares, G. 2009. Development of an indirect ELISA test using a purified tachyzoite surface antigen SAG1 for serodiagnosis of canine *Toxoplasma gondii* infection. *Veterinary Parasitology*, 164(2-4), pp.315–319.

Hosseininejad, M. & Malmasi, A., 2010. Clinical neosporosis in three dogs in Shahrekord , Iran. , pp.315–316.

Hosseininejad, M., Hosseini, F. (2011). Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection in dogs from west and central parts of Iran using two indirect ELISA tests and assessment of associate risk factors. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, Vol. 12, No. 1, Ser. No. 34.

Jadoon, A., Akhtar, T., Maqbool, A., Anjum, A., Ajmal, A. (2009). Seroprevalence of *Toxoplasma Gondii* in Canines. *The Journal of Animal & Plan Sciences* 19 (4), 179-181

Jittapalapong, S., Nimsupan, B., Pinyopanuwat, N., Chimnoi, W., Kabeya, H., Maruyama, S. (2007). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats and dogs in the Bangkok metropolitan area, Thailand. *Veterinary Parasitology*, 145(1-2), 138–141. doi:10.1016/j.vetpar.2006.10.021

Kiliç, S., Babür, C., Özkan, A., Mamak, N. (2008). Investigation of Anti-Toxoplasma gondii and Anti-Leishmania infantum Antibodies among Sivas Kangal Dogs *, 32(4), 299–304.

Langoni, H., Matteucci, G., Medici, B., Camossi, L., Richini-pereira, V., Costa, R. (2012). Article / Artigo Detection and molecular analysis of Toxoplasma gondii and Neospora caninum from dogs with neurological disorders Detecção e análise molecular de Toxoplasma gondii e Neospora caninum em cães com distúrbios neurológicos, 45(3), 365–368.

Mineo, T., Costa, G., Von Ancken, A., Kasper, L., Souza, M., Mineo, J. (2001). Detection of IgG antibodies to Neospora caninum and Toxoplasma gondii in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. Veterinary Parasitology, 98(4), 239–245. doi:10.1016/S0304-4017(01)00441-1

Reid, A., Vermont, S., Cotton, J., Harris, D., Hill-Cawthorne, G., Könen-Waisman, S., Wastling, J. (2012). Comparative genomics of the apicomplexan parasites Toxoplasma gondii and neospora caninum: Coccidia differing in host range and transmission strategy. PLoS Pathogens, 8(3), e1002567. doi:10.1371/journal.ppat.1002567

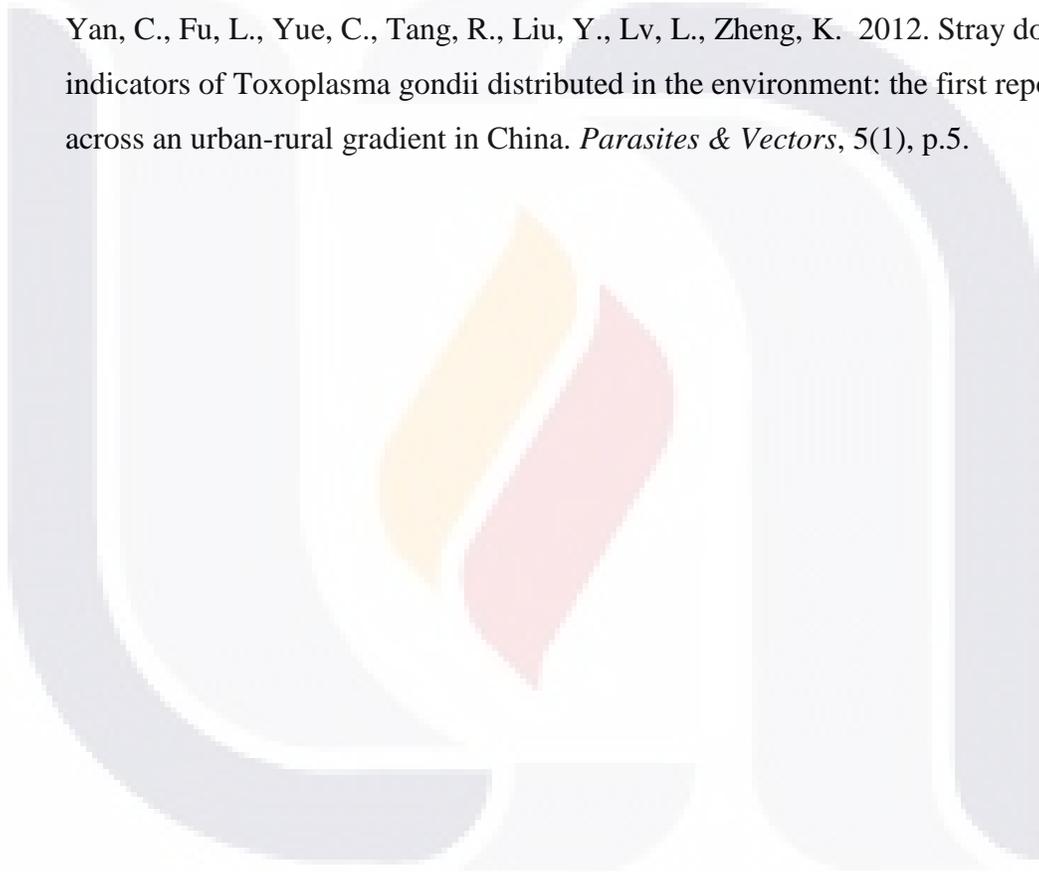
Ruiz, N., Casas, E., Suárez, F., Díaz, D., Fernández V. 2012. Frecuencia de anticuerpos contra neospora caninum y toxoplasma gondii en canes con signos clínicos de afección neuromuscular. , 23(4), pp.441–447.

Sharma., R., Ordas, G., Tiwari, K., Chikweto, A., Iqbal, M., De Allie, C., Paterson, T. (2014) Prevalence of Toxoplasma gondii antibodies in stray and owned dogs of Grenada, West Indies. Veterinary World, EISSN: 2231-0916

Tarlow, J., Rudloff, E., Lichtenberger, M., Kirby, R. 2005. Emergency presentations of 4 dogs with suspected neurologic toxoplasmosis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 15(2), pp.119–127..

Wang, Q., Jiang, W., Chen, Y., Liu, C.-Y., Shi, J., Li, X. (2012). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies, circulating antigens and DNA in stray cats in Shanghai, China. *Parasites & Vectors*, 5(1), 190

Yan, C., Fu, L., Yue, C., Tang, R., Liu, Y., Lv, L., Zheng, K. 2012. Stray dogs as indicators of *Toxoplasma gondii* distributed in the environment: the first report across an urban-rural gradient in China. *Parasites & Vectors*, 5(1), p.5.



Directrices para autores/as

De las características de los trabajos:

1 La página inicial de cada artículo contendrá: título del trabajo en español e inglés, de preferencia breve, sin sacrificar la claridad; un resumen en español e inglés, con una extensión máxima de 450 palabras cada uno; el nombre del autor(a) o autores(as) y su afiliación institucional. Se anotará el correo electrónico de uno de ellos para correspondencia.

2 Los artículos presentarán al menos cuatro palabras clave y como máximo cinco. Las palabras clave deberán presentarse tanto en castellano como en inglés.

3 Los artículos tendrán una extensión máxima de 5000 palabras, márgenes 2,5 cm, sangría 1,25 cm, interlineado 1,5 líneas, un tamaño fuente de 12 puntos y se utilizará cursiva en lugar de subrayado (excepto en las direcciones URL).



[Obtener Fichero de Formato](#)

4 Adjuntar archivo electrónico en (Word) y los cuadros en Excel para Windows o en Word con tabulador. De manera excepcional, si los autores trabajan en otro procesador distinto de Word, entregarán el artículo en formato PDF antes de su dictamen y en su caso después de su aprobación.

5 Las ilustraciones, tablas, mapas y gráficas deberán presentarse en originales claros y precisos y deberán incluir la fuente; así mismo deberán colocarse en los lugares del texto apropiados, en lugar de colocarlos al final del trabajo.

6 Las notas se presentarán a pie de página y deberán estar escritas a renglón cerrado (a un espacio) y numeración corrida (progresiva) e incluirse al pie de la página correspondiente. Las llamadas deberán ser numéricas.

7 Las citas deberán insertarse en el texto abriendo un paréntesis con el apellido del autor, el año de la publicación y la página, ejemplo (Villegas 1989, 63).

8 Las referencias bibliográficas deberán ordenarse alfabéticamente al final del texto según los apellidos del autor. Véanse los siguientes ejemplos:

Un autor:

Santos Ramírez, Leopoldo. (2004). Matrimonios de anglos y mexicanos en la frontera. Hermosillo: El Colegio de Sonora.

Dos autores:

Brooks, Daniel R. y Deborah A. McLennan. (2002). The Nature of diversity: An

Evolutionary Voyage of Discovery. Chicago: University of Chicago Press.

Capítulo de libro:

Rozo, Carlos. (1999). Las cuatro paradojas de la globalización. En Globalización, industria e integración productiva en Sonora, compilado por Blanca Lara, Cristina Taddei y Jorge Taddei, 25-37. Hermosillo: El Colegio de Sonora, Universidad de Sonora, CIAD, A. C.

Artículo de revista:

Arzaluz Solano, Socorro. (2005). La utilización del estudio de caso en el análisis local. Región y sociedad XVII (32): 107-144.

Artículo de periódico:

Reforma. (2001). El precio oculto de la impresión: los consumibles. Costos que impresionan. 2 de abril.

Tesis:

Hernández, Silvestre. (2004). La trayectoria social de un productor cultural. Tesis de maestría en Ciencias Sociales, El Colegio de Sonora.

Ponencias:

Castro, José Esteban. (2005). Agua urbana y lucha social en América Latina. Ponencia presentada en el XXV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Sociología, Porto Alegre.

Material obtenido de Internet:

Comisión Nacional del Agua. (2006). Programa playas limpias.
<http://www.cna.gob.mx/eCNA/Espaniol/Directorio/Default.aspx> (31 de enero de 2006).

De la recepción de los trabajos

El autor recibirá por correo electrónico un acuse de recibo del envío en un lapso de 24 horas.

El proceso de revisión de pertinencia por el Consejo Editorial, la dictaminación por los evaluadores y la comunicación a los autores no deberá ser mayor a 5 meses, salvo casos excepcionales.

Lista preliminar para la preparación de envíos

Como parte del proceso de envíos, los autores/as están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Se devolverán a los autores/as aquellos envíos que no cumplan estas directrices.

1. **Exclusividad:** los trabajos enviados deberán ser inéditos y sus autores se comprometen a no someterlos simultáneamente a la consideración de otras revistas. Cualquier conflicto de carácter legal, moral, ético, etc., que se pueda derivar del análisis de este aspecto será responsabilidad completa de los autores.
2. **Originalidad de los trabajos:** deberán ser resultados o avances de investigaciones originales y de alto nivel, enmarcados dentro de las disciplinas científicas.
3. **Ética:** será responsabilidad de los autores que tanto en el proceso de la investigación, como en el del envío de su trabajo a Nova Scientia, se hayan respetado los códigos éticos de sus respectivas instituciones, así como las normas legales y éticas universalmente aceptadas para el trabajo con seres humanos, animales y el medio ambiente.

El autor de la correspondencia se hace responsable de que todos los autores hayan contribuido en el trabajo y hayan dado su visto bueno a los contenidos y formas del artículo, y deberá proporcionar los correos electrónicos de todos los participantes.

4. El archivo de envío está en formato OpenOffice, Microsoft Word, RTF o WordPerfect y siempre que sea posible, se proporcionan direcciones URL para las referencias.
5. El texto reúne las condiciones estilísticas y bibliográficas incluidas en [Pautas para el autor/a](#), en Acerca de la revista.
6. En el caso de enviar el manuscrito a la sección de Ciencias Humanas y Sociales, se siguen las instrucciones incluidas en [Asegurar una evaluación anónima](#).
7. El/los Autor/es ceden los derechos de contenido del artículo para su publicación y difusión según las políticas, normas y convenios de la revista y las instancias de indización.
8. Sugiera por favor los nombres y datos de contacto de 5 posibles árbitros de su trabajo.

Al correo: nova_scientia@delasalle.edu.mx

Aviso de derechos de autor

Condiciones de libertad de edición: la revista, por su carácter científico, debe estar ajena a orientaciones que puedan darse de tipo político, institucional o de intereses de grupo ajenos al objetivo original de la misma, como de su misión, de tal manera que no exista mayor censura que la que derive del proceso de dictamen riguroso.

Por lo mismo, los contenidos de los artículos serán responsabilidad de los autores y una vez que sean publicados, las consideraciones a los mismos serán turnados a los autores para que ellos resuelvan las posibles controversias con respecto de sus trabajos.

La reproducción total o parcial está autorizada siempre y cuando se cite la fuente.

Declaración de privacidad

Los nombres y las direcciones de correo electrónico introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines establecidos en ella y no se proporcionarán a terceros o para su uso con otros fines.



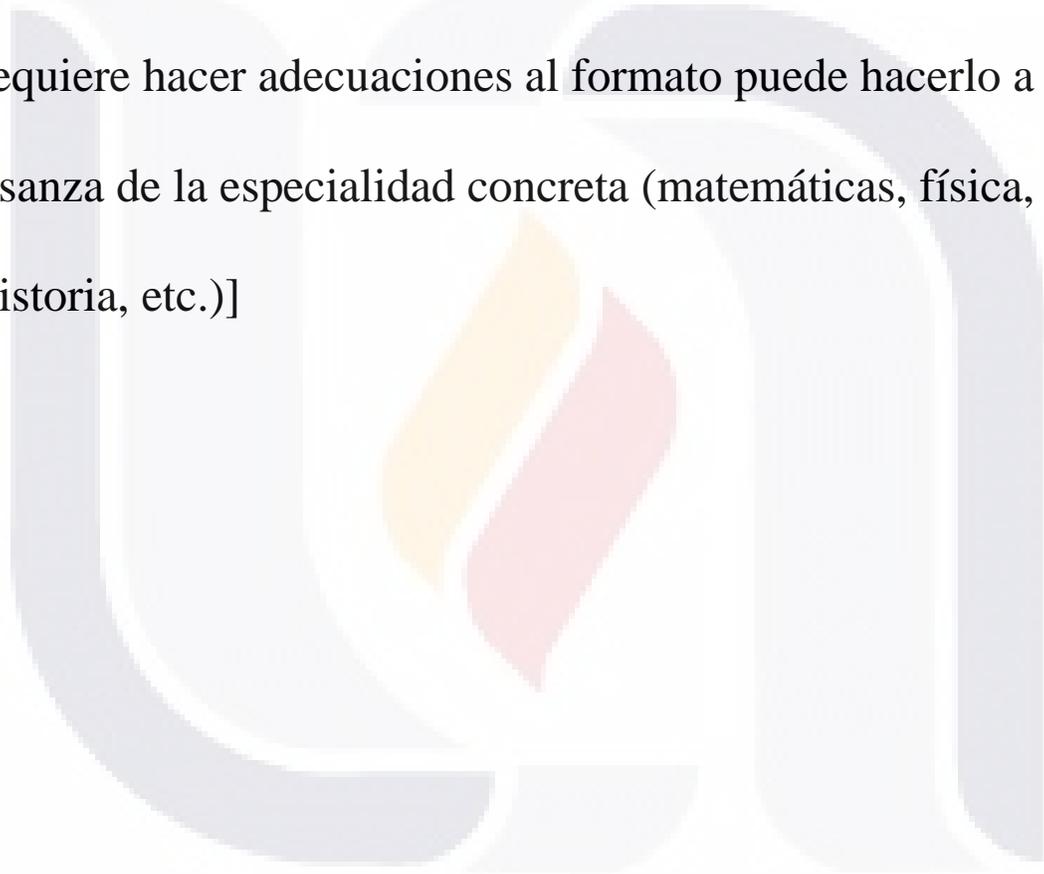
Nova Scientia, año 7, número 14, Mayo – Octubre 2015, es una publicación semestral editada por la Universidad De La Salle Bajío A. C. Av. Universidad 602, Col. Lomas del

Campestre, C. P. 37150, León, Gto. México. Tel. 52 477 7108500, <http://novascientia.delasalle.edu.mx/>. Editor responsable: José Luis Álvarez Espinosa. ISSN 2007 - 0705. Reservas de Derechos al uso Exclusivo No. 04-2008-092518225500/102, Reserva de difusión vía red de cómputo 04 - 2008 – 121011584800-203 ambas otorgadas por el Instituto Nacional del Derecho de Autor.

Responsable de la última actualización de este número: José Luis Álvarez Espinosa, Dirección de Investigación de la Universidad De La Salle Bajío, fecha de última actualización: 26 de mayo de 2015.

Los contenidos de los artículos serán responsabilidad de los autores y una vez que sean publicados, las consideraciones a los mismos serán turnados a los autores para que ellos resuelvan las posibles controversias con respecto de sus trabajos. La reproducción total o parcial está autorizada siempre y cuando se cite la fuente.

[Nota aclaratoria: Escriba su artículo sobre este fichero, en el caso excepcional de requerir procesador distinto al de Word, presente el texto correspondiente en formato PDF. La propuesta es de carácter orientador y no restrictivo, si requiere hacer adecuaciones al formato puede hacerlo a la usanza de la especialidad concreta (matemáticas, física, historia, etc.)]



Revista Electrónica Nova Scientia

Título
Title

Primer Autor¹, Segundo Autor², Tercer Autor³, etc.

¹Nombre de Departamento o Posición, Universidad u Organización, Ciudad

²Nombre de Departamento o Posición, Universidad u Organización, Ciudad

³Nombre de Departamento o Posición, Universidad u Organización, Ciudad

País

Nombre de autor para correspondencia. Dirección postal. E-mail:

© Universidad De La Salle Bajío (México)

Agradecimientos

Referencias

[Las referencias bibliográficas deberán ordenarse alfabéticamente al final del texto según los apellidos del autor. Véanse los siguientes ejemplos]

Brooks, Daniel R. y Deborah A. McLennan. (2002). *The Nature of Diversity: An Evolutionary Voyage of Discovery*. Chicago: University of Chicago Press.

Rozo, Carlos. (1999). Las cuatro paradojas de la globalización. En *Globalización, industria e integración productiva en Sonora*, compilado por Blanca Lara, Cristina Taddei y Jorge Taddei, 25-37. Hermosillo: El Colegio de Sonora, Universidad de Sonora, CIAD, A. C.

Santos Ramírez, Leopoldo. (2004). *Matrimonios de anglos y mexicanos en la frontera*. Hermosillo: El Colegio de Sonora.