

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA**



**TESIS**

---

**SEROPREVALENCIA DE LA NEOSPOROSIS EN OVINOS DEL DISTRITO DE  
PALLPATA – ESPINAR – CUSCO**

---

**PRESENTADA POR:**

Br. AYDE CONDO CHOQUEMAQUE

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL  
DE INGENIERO ZOOTECNISTA**

**ASESOR:**

DR. M.V.Z. EDGAR ALBERTO VALDEZ  
GUTIERREZ

**CUSCO - PERÚ**

**2024**

# INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: Seroprevalencia de la  
neosporosis en quinos del distrito de pallpata - Espinar - Cusco

Presentado por: Ayde Condo Choquemaque DNI N° 74041944

presentado por: ..... DNI N°: .....

Para optar el título profesional/grado académico de Ingeniero zootecnista

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 09 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 4.....%.

**Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis**

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** las primeras páginas del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 05 de mayo de 2025

  
UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABAAD DEL CUSCO  
F.C.A.  
Dr Edgar A. Valdez Gutierrez  
DOCENTE

Firma

Post firma Edgar Alberto Valdez Gutierrez

Nro. de DNI 01285940

ORCID del Asesor 0000-0002-2966-7605

**Se adjunta:**

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: **oid:** 27259:451269354 ✓

# AYDE CONDO

## SEROPREVALENCIA DE LA NEOSPOROSIS EN OVINOS DEL DISTRITO DE PALLPATA – ESPINAR – CUSCO

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

### Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:451269354

**92 Páginas**

Fecha de entrega

21 abr 2025, 8:48 p.m. GMT-5

**19.670 Palabras**

Fecha de descarga

21 abr 2025, 8:56 p.m. GMT-5

**108.343 Caracteres**

Nombre de archivo

TESIS FINAL AYDECONDO CHOQUEMAQUE.pdf

Tamaño de archivo

1.4 MB

## 4% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

### Filtered from the Report

- Bibliography
- Cited Text
- Small Matches (less than 20 words)

### Exclusions

- 12 Excluded Matches

---

### Top Sources

- 4%  Internet sources
- 0%  Publications
- 3%  Submitted works (Student Papers)

---

### Integrity Flags

#### 0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

## **DEDICATORIA**

A Dios y al Apu Laramani, por otorgarme la salud y la sabiduría necesaria para alcanzar este importante objetivo.

Dedico este trabajo con todo el cariño y aprecio a mi madre, Lorenza Choquemaque Condori, quien me ha apoyado incondicionalmente durante mi formación profesional. En los momentos de tristeza, alegría y éxito, has estado siempre a mi lado, vigilante de mi desarrollo y corrigiendo mi rumbo hacia el éxito. Tu dedicación y amor han sido fundamentales en este logro.

A mi padre, Marcos Condo Quintanilla, por tu amor y esfuerzo incansable. Siempre trabajaste arduamente, incluso en los días más difíciles, para brindarnos seguridad y bienestar. Tu deseo de que yo sea un profesional en la vida me ha inspirado en cada paso del camino. Este trabajo es para ti.

A mis hermanos Dennis, Jasmín y Carmen, mis sobrinos Yuliam y Fabricio, por su constante apoyo y su dedicación a sus estudios. Me siento muy orgullosa de cada uno de ustedes. A ustedes dedico también este trabajo de investigación.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y a la Facultad de Agronomía y Zootecnia, por brindarme la oportunidad de ser parte de esta gran institución y por facilitar mi crecimiento profesional. A mis docentes de la Escuela Profesional de Zootecnia, quienes han impartido valiosos conocimientos que han contribuido a mi formación académica.

Expreso mi agradecimiento más sincero a mi asesor, el MVZ. Edgar Alberto Valdez Gutiérrez, por su comprensión, respaldo incondicional, confianza y valiosa orientación en el desarrollo de este trabajo de investigación.

Mi gratitud se extiende a las ingenieras Zootecnistas Milagros Centeno Flores y Fiorela Guzmán Figueroa, por su incondicional apoyo y por compartir sus conocimientos, así como por su orientación en la realización de esta investigación.

A todos mis compañeros de estudios, gracias por acompañarme en las aulas, donde compartimos recuerdos y nos alentamos mutuamente en nuestras investigaciones. Su compañía ha sido fundamental en este proceso.

## ÍNDICE

<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>i</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>ii</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>GLOSARIO</b> .....	<b>ix</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>x</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>xi</b>
<b>I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACION</b> .....	<b>1</b>
1.1 Identificación del problema.....	1
<b>II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>2</b>
2.1 OBJETIVOS.....	2
2.1.1 Objetivo general: .....	2
2.1.2 Objetivos específicos:.....	2
2.2 JUSTIFICACIÓN .....	3
<b>III. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>4</b>
<b>3.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>4</b>
<b>3.2 BASES TEÓRICAS</b> .....	<b>6</b>
3.2.1 Neospora caninum .....	6
3.2.2 Neosporosis ovina.....	7
<b>3.3 GENERALIDADES</b> .....	<b>8</b>
3.3.1 Etiología .....	8
3.3.2 Taxonomía .....	9
3.3.3 Fases evolutivas.....	9
3.3.4 Ciclo biológico .....	10
3.3.5 Factores de riesgo .....	13
3.4 Patogénesis.....	14

3.4.1 Patogenia del aborto .....	15
3.4.2 Formas de transmisión.....	16
3.4.3 Signos clínicos .....	20
3.5 Lesiones .....	21
3.6 Inmunidad.....	22
3.7 Diagnóstico.....	24
3.8 Tratamiento .....	25
3.9 Prevención .....	26
3.10 Control.....	27
<b>3.11 MARCO CONCEPTUAL.....</b>	<b>28</b>
3.11.1 Anticuerpo .....	28
3.11.2 Antígeno .....	28
3.11.3 Reacción Antígeno-Anticuerpo .....	28
3.11.5 ELISA Competitiva .....	29
3.11.6 Prevalencia.....	30
3.11.7 Incidencia .....	31
<b>IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>32</b>
<b>4.1 ÁMBITO DE ESTUDIO .....</b>	<b>32</b>
4.1.1 Localización.....	32
4.1.2 Ubicación Geográfica.....	32
<b>4.2 MATERIALES DE ESTUDIO .....</b>	<b>32</b>
4.2.1 Equipos, reactivos y materiales auxiliares.....	32
<b>4.3 UNIDAD DE ANÁLISIS.....</b>	<b>34</b>
<b>4.4 POBLACIÓN DE ESTUDIO .....</b>	<b>34</b>
<b>4.5 TAMAÑO DE MUESTRA.....</b>	<b>35</b>
<b>4.6 TÉCNICAS DE SELECCIÓN DE MUESTRA .....</b>	<b>36</b>
<b>4.7 METODOLOGÍA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.....</b>	<b>36</b>
4.7.1 Coordinación previa con productores de ovinos.....	36
4.7.2 Toma de muestra de sangre.....	36
4.7.3 Obtención de suero.....	37
<b>4.8 METODOLOGÍA DEL TEST DE ELISA COMPETITIVO .....</b>	<b>39</b>
4.8.1 Fundamento del ensayo.....	39
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>44</b>

<b>VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>6.1. CONCLUSIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>6.2. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>48</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>49</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>62</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Resumen de antecedentes para la <i>Neospora caninum</i> .....	5
<b>Tabla 2</b> Distribución del tamaño de muestra según grupo etario para ovinos corriedale del distrito de Pallpata. ....	35
<b>Tabla 3</b> Distribución del tamaño de muestra según sexo para ovinos corriedale del distrito de Pallpata.....	36
<b>Tabla 4</b> Muestras en la placa de ELISA. ....	40
<b>Tabla 5</b> Determinación de seroprevalencia de Neosporosis en ovinos según sexo y edad del distrito de Pallpata.....	44

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1:</b> Esterilización de la cabina de flujo laminar y los materiales. ....	47
<b>Anexo 2:</b> Llevar los reactivos a una temperatura de 25 °C; descongelar las muestras y homogenizar usando el Vortex. ....	47
<b>Anexo 3:</b> Asignación de las muestras en la plantilla ELISA. ....	48
<b>Anexo 4:</b> Solución de lavado preparado antes de iniciar el ensayo ELISA. ....	48
<b>Anexo 5:</b> Coloración que toman los pocillos de la microplaca ELISA después de la adición de la solución de parada. ....	49
<b>Anexo 6:</b> Cálculos para determinar el tamaño de muestra. ....	50
<b>Anexo 7:</b> Cálculos para determinar la seroprevalencia general de Neosporosis en ovinos. ....	51
<b>Anexo 8:</b> Cálculos para determinar la seroprevalencia de la Neosporosis en ovinos de dos dientes (2D). ....	52
<b>Anexo 9:</b> Cálculos para determinar la seroprevalencia de Neosporosis en ovinos de cuatro dientes (4D). ....	53
<b>Anexo 10:</b> Cálculos para determinar la seroprevalencia de Neosporosis en ovinos machos. ....	54
<b>Anexo 11:</b> Cálculos para determinar la seroprevalencia de Neosporosis en ovejas hembras. ....	55
<b>Anexo 12:</b> Densidades ópticas de las muestras evaluadas para anticuerpos contra la <i>Neospora caninum</i> en ovinos del distrito de Pallpata, placa I. ....	56
<b>Anexo 13:</b> Densidades ópticas de las muestras evaluadas para anticuerpos contra la <i>Neospora caninum</i> en ovinos del distrito de Pallpata, placa II. ....	56
<b>Anexo 14:</b> Porcentaje de inhibición para determinar anticuerpos contra la <i>Neospora caninum</i> en ovinos del distrito de Pallpata, placa I. ....	57
<b>Anexo 15:</b> Porcentaje de inhibición para determinar anticuerpos contra la <i>Neospora caninum</i> en ovinos del distrito de Pallpata, placa II. ....	57

<b>Anexo 16:</b> Cálculos para determinar la asociación de la variable sexo por el método del Chi Cuadrado con el programa estadístico MINITAB. ....	58
<b>Anexo 17:</b> Cálculos para determinar la asociación de la variable por grupo etario por el método del Chi Cuadrado con el programa estadístico MINITAB. ....	59
<b>Anexo 18:</b> Registro de ovinos para la prueba de Elisa Directa. ....	60

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Lesiones microscópicas de Neosporosis ovina.....	7
<b>Figura 2</b> Ciclo biológico de la <i>Neospora caninum</i> .....	12
<b>Figura 3</b> Vía de transmisión transplacentaria endógena .....	17
<b>Figura 4</b> Fase de la técnica ELISA competitivo .....	30
<b>Figura 5</b> Flujo del proceso del trabajo de campo.....	38

## GLOSARIO

RM/P = Resultado de la muestra porcentual.

ELISA = Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas

Nm = Nanómetros.

Ig G = Inmunoglobulina G.

Ig M = Inmunoglobulina M.

$\mu$ L = Microlitro.

mL = Mililitro.

ADN = Ácido desoxirribonucleico.

IB = Inmunoblot.

IFI = Inmunofluorescencia indirecta.

IHQ = Inmunohistoquímica.

DO = Densidad Óptica.

CN = Control negativo.

CP= Control positivo.

PCR = Reacción en Cadena de la Polimerasa

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación titulado "Seroprevalencia de la Neosporosis en ovinos del distrito de Pallpata – Espinar – Cusco", se analizaron 167 muestras de sangre mediante punción de vena cefálica conservándose en tubos vacutainer de los ovinos de la raza Corriedale y criolla, utilizando el método ELISA competitiva, la investigación se realizó en el laboratorio de Sanidad Animal "M.V. Atilio Pacheco Pacheco", de la escuela profesional de Zootecnia-UNSAAC, mostrando una prevalencia del 4.55% (2/44) en la categoría 2D(1.5 a 2.5 años), y del 7.69% (3/39) en la categoría 4D(2.5 a 3.5 años), mientras que no se detectaron casos positivos ( $0.00 \pm 0.00$ ) en los ovinos de 6D(3.5 a 4 años) en adelante. En cuanto al sexo, se identificaron en machos (3/84) y en hembras (2/83), con prevalencias del 3.57% y 2.41%, respectivamente y una prevalencia general de anticuerpos contra *Neospora caninum* en los ovinos Corriedale y criollos fue del  $2.99\% \pm 0.02$  (5/167).

Se concluye que existe el parasito de la *Neospora caninum* en ovinos en el distrito de Pallpata, esto probablemente debido a la presencia de hospederos intermediarios como los perros, quienes consumen placentas y fetos abortados.

**Palabras clave:** Neosporosis, ovinos, raza corriedale, ELISA.

## INTRODUCCIÓN

La ganadería ovina en la región andina del Perú se caracteriza por su dependencia de pastos naturales y su desarrollo principalmente en los valles interandinos, con un sistema de crianza extensiva. El censo de 2012 reportó una población de 9'523,198 ovinos, mostrando un descenso del 21.2% en comparación con censos agropecuarios anteriores. A pesar de esta disminución, la crianza ovina se mantiene como un sistema de producción económicamente importante, debido a su adaptabilidad a diversos climas y su integración con otros sistemas de crianza (CENAGRO,2012).

La ganadería ovina es un componente esencial de la economía rural en muchos países, y en el Perú, su relevancia se acentúa en las regiones andinas, donde millones de familias dependen de esta actividad pecuaria para su subsistencia. Según Aguirre et al.(2019), la producción ovina se caracteriza por ser una fuente de proteína animal y un medio para generar ingresos en comunidades altoandinas. En este contexto, el distrito de Pallpata, ubicado en la provincia de Espinar, región Cusco, destaca por su tradición en la crianza de ovinos que, a pesar de su importancia económica, enfrenta diversos desafíos, siendo las enfermedades una de las principales limitaciones para su desarrollo.

La Neosporosis, causada por el protozoo *Neospora caninum*, ha emergido como un problema significativo en la salud animal, afectando predominantemente a rumiantes como el ganado bovino y ovino. Según Dubey (2013), la Neosporosis es responsable de altas tasas de abortos y complicaciones reproductivas, lo que repercute negativamente en la productividad y la viabilidad económica de las explotaciones ganaderas. En el caso de los ovinos, esta enfermedad ha sido poco estudiada en el Perú, lo que crea un vacío crítico en la información necesaria para la

implementación de estrategias de manejo y control efectivas (Benavides, 2022).

A pesar de la relevancia de esta problemática, pocos estudios han investigado la prevalencia de *Neospora caninum* en los rebaños ovinos en el Perú, lo que ha llevado a un desconocimiento sobre su impacto en la producción ovina local. La falta de datos epidemiológicos impide la formulación de políticas de salud pública y de tratamientos adecuados que podrían beneficiar a los productores y sus rebaños (Serrano-Martínez, 2018).

Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo determinar la seroprevalencia de la Neosporosis en ovinos del distrito de Pallpata, a través de la detección de anticuerpos contra *Neospora caninum*. Mediante un enfoque cuantitativo, se analizará la relación entre la seropositividad, el grupo etario y el sexo de los animales. Este trabajo no solo busca contribuir al acervo académico existente, sino que también pretende proporcionar información práctica y relevante a los productores altoandinos, facilitando la adopción de medidas preventivas que aseguren la salud de los rebaños y por ende, la sostenibilidad de la actividad ovina en la región.

## I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACION

### 1.1 Identificación del problema

La producción ovina es crucial para la economía de las diversas comunidades rurales en el Perú, principalmente en las regiones de alta altitud como el distrito de Pallpata, provincia de Espinar, Cusco. No obstante, esta actividad enfrenta serios desafíos debido a la prevalencia de enfermedades parasitarias, siendo unos de los importantes problemas la Neosporosis, ocasionada por el protozoo *Neospora caninum*, según Benavides (2022), la Neosporosis es responsable de abortos y problemas reproductivos en rumiantes, lo que no solo afecta a la salud animal, sino que también genera pérdidas económicas significativas para los productores altoandinos.

Adicionalmente, estudios previos han focalizado su atención en poblaciones bovinas, dejando un vacío en la investigación relacionada con los ovinos. Según Díaz y Oviedo (2013), la falta de un diagnóstico adecuado y de una comprensión clara de la epidemiología de *Neospora caninum* en ovinos impide la implementación de políticas efectivas de control y salud pública. De esta manera, los productores continúan expuestos a riesgos económicos sin la información necesaria para tomar decisiones informadas sobre la gestión de sus rebaños.

Por lo tanto, el presente estudio busca abordar esta problemática, investigando la seroprevalencia de la Neosporosis en ovinos del distrito de Pallpata, con el objetivo de generar datos que permitan comprender mejor la distribución de la enfermedad y su relación con los factores de riesgo, como el grupo etario y el sexo de los ovinos.

Esta investigación pretende servir como una herramienta para mejorar la gestión sanitaria en la producción ovina y, en última instancia, contribuir al bienestar de los productores y la sostenibilidad de esta actividad económica en la región.

## **II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN**

### **2.1 OBJETIVOS**

#### **2.1.1 Objetivo general:**

Determinar la seroprevalencia de la Neosporosis en ovinos del distrito de Pallpata de la provincia de Espinar, región Cusco.

#### **2.1.2 Objetivos específicos:**

- Determinar la seroprevalencia de la Neosporosis en ovinos según el grupo etario.
- Determinar la seroprevalencia de la Neosporosis en ovinos según sexo.

## 2.2 JUSTIFICACIÓN

El distrito de Pallpata, ubicado en la provincia de Espinar, se caracteriza por una economía principalmente basada en la ganadería, siendo la producción ovina un pilar fundamental para su desarrollo económico y productivo. Sin embargo, la presencia de enfermedades parasitarias como la Neosporosis representa una amenaza para la productividad de los hatos ganaderos de la zona.

La Neosporosis, causada por el protozoo *Neospora caninum*, es una enfermedad que afecta principalmente al ganado bovino y ovino, provocando abortos, nacimientos de crías débiles o muerte neonatal. En el distrito de Pallpata, no se han realizado investigaciones previas sobre la detección de anticuerpos contra *Neospora caninum*, lo que genera un vacío de conocimiento entre los productores locales. Esta falta de información dificulta la toma de decisiones informadas sobre el manejo de la enfermedad, la implementación de medidas preventivas y el desarrollo de estrategias para su control.

Este estudio busca contribuir al conocimiento sobre la presencia de *Neospora caninum* en el distrito de Pallpata, realizando una investigación que permita determinar la prevalencia de la enfermedad en la población ovina. Los resultados obtenidos serán presentados a los productores y representantes de entidades vinculadas al sector pecuario, con el objetivo de generar conciencia sobre la importancia de la Neosporosis y promover la adopción de medidas de control.

Además, el estudio investigará si la presencia de problemas reproductivos, como los abortos, está asociada a la presencia de la enfermedad. Esta información permitirá establecer una relación entre la Neosporosis y las pérdidas económicas que genera en la producción ovina del distrito.

### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Montañez (2020), tuvo como objetivo realizar la detección de anticuerpo contra Neosporosis en ovinos criollos y corriedale de la comunidad campesina Ccollana, Quiñota, Chumbivilcas, Cusco, con 95 muestras de suero. Los cuales analizaron por el test de ELISA-competitiva. Reportó una incidencia de *Neospora caninum* fue de 5%  $\pm$  0.189 para carneros, considerando 1.72%  $\pm$  0.033 para la raza corriedale, 0% para la raza criolla.

En un estudio realizado en SAIS Tupac Amaru-Junín, determinó la prevalencia de anticuerpos anti-*Neospora caninum*, en ovinos de crianza extensiva. Mediante la prueba ELISA indirecta evidenciaron 0.82% (3/367) de seropositividad para la enfermedad (Chilge, 2018)

Cosendey *et al.* (2018), se centraron en determinar de seroprevalencia anti-*Neospora caninum* y factores asociados en el estado de Río de Janeiro. Analizaron muestras de sangre de 388 ovinos y se analizaron los sueros mediante el método ELISA. Evidenciando una seroprevalencia general de 6.2% (24/388) y a nivel de rebaño, el 50% (6/12) y de los hatos encuestados tenían al menos un animal seropositivo.

En México, Castañeda *et al.* (2014) determinaron la seroprevalencia de anticuerpos anti- *Neospora caninum*, estimaron la asociación entre la seroprevalencia y los factores de riesgo potenciales en ovinos en Aguas calientes. Tomaron un total de 324 muestras de sangre que se analizaron mediante ELISA para detectar anticuerpos. La seroprevalencia general alcanzó 5.5% (18/324), en ovejas 5.2% (15/286) y en carneros 7.9% (3/38). No encontraron asociación estadísticamente

significativa entre la seroprevalencia y los factores de riesgo considerados en este estudio.

Machado *et al.* (2011), en Brasil, evaluaron la seroprevalencia y factores de riesgo relacionados con la Neosporosis en ovinos y perros de propiedades rurales. Recolectaron 1497 muestras de sangre de ovinos y 42 de perros que convivieron con ovinos. Para detectar anticuerpos contra *N. caninum* realizaron el test de anticuerpos fluorescentes indirectos (IFAT  $\geq$  25). Obtuvieron una Seroprevalencia de 8.0% (IC 95% = 6.7–9.2%) y de los perros de 4.8% (IC 95% = 0–7.2%).

**Tabla 1**

Resumen de antecedentes para la *Neospora caninum*

Autor, año y lugar	N° animales	Muestra	Prueba	Prevalencia
(Montañez,2020), Cusco (Chumbivilcas- Quiñota)	95	Suero Sanguíneo	ELISA competitiva	1.72%
(Chilge, 2018), Junin (SAIS Tupac Amaru)	367	Suero sanguíneo	ELISA Indirecta	0.82%
(Cosendey et al., 2018), Brasil (Rio de Janeiro)	388	Suero sanguíneo	ELISA	6.2%
(Castañeda et al., 2014), Mexico (Aguas calientes)	324	Suero sanguíneo	ELISA	5.2%
(Machado et al., 2011), Brasil (São Paulo)	1797	Suero sanguíneo	ELISA	8,0%

## 3.2 BASES TEÓRICAS

### 3.2.1 *Neospora caninum*

Es un protozoo apicomplejo conocido como *Neospora caninum* el cual ocasiona una enfermedad que está distribuida en las ganaderías en todo el mundo, este protozoo está asociada a pérdidas económicas mayores a 1.300 millones en dólares cada año a nivel mundial, y el mayor efecto es en la industria lechera, originalmente fue investigada en los perros y posteriormente fue catalogado como una causa de los abortos epidémicos que afectan a los crías de bovinos de leche (Pereyra *et al.*, 2021).

Se identificó *Neospora caninum* como un contagio originado en ovinos; se hallaron lesiones parasitarias histenoides en la médula espinal y en el cerebro de un ovino, el cual fue incapaz de mantenerse en pie después de nacer de una semana debido a una infección hereditaria (Dubey & Lindsay, 1990).

En los ovinos con 64, 90 y 120 días de gestación se realizó la inoculación de taquizoitos del parásito *Neospora caninum* en la reproducción esto ocasionó aborto espontáneo en ovinos inoculadas al día 65 de preñez y por otro lado se obtuvieron crías clínicamente normales al inocular la enfermedad a los 120 días de preñez (McAllister *et al.*, 1998).

La aparición de *Neospora caninum* en ovinos naturalmente infectadas fue detectada por PCR en cerebros de fetos abortados (Howe *et al.*, 2012).

La Neosporosis fue reportada por primera vez como una causa de aborto en vacas lecheras en el año 1989 por Thilsted y Dubey en una granja de Nuevo México, después de pasados dos años ya se le describió como el causante de muchas pérdidas, es por esto que hoy en día se le considera como una de las principales etiologías del aborto (Piaggio *et al.*, 2010).

### 3.2.2 Neosporosis ovina

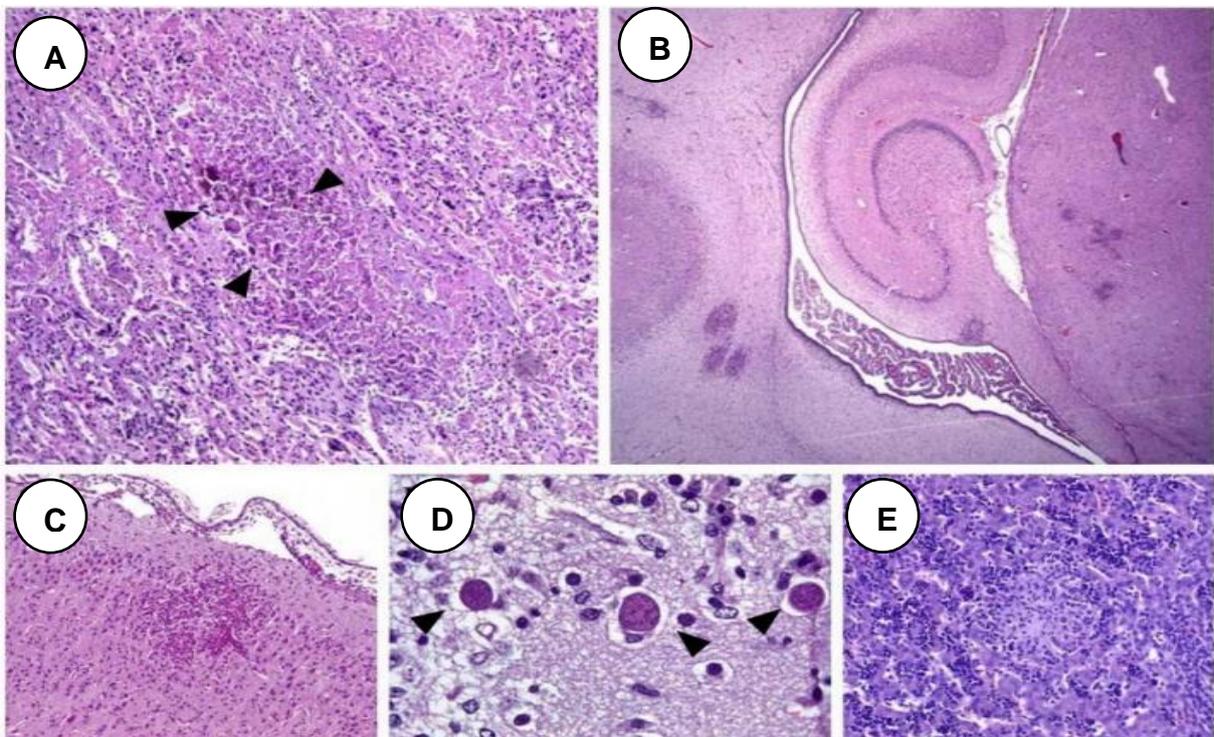
Debido a que las hembras infectadas transmiten el parásito a sus crías, esta enfermedad parasitaria asintomática se clasifica como una enfermedad reproductiva del ganado (Rizzo *et al.*, 2017).

Es considerada como poco frecuente, dado que a un existe una escasa información sobre esta patogenia, que se genera por la ingestión natural o experimental de ooquistes, o sobre el mecanismo de transmisión transplacentaria (Benavides *et al.*, 2022).

Es la enfermedad que los ovinos presentan, la cual brota de la enfermedad de *N. caninum* generando abortos o mortinatos, pérdidas económicas importantes en los rebaños de los ovinos (Romanelli *et al.*, 2021).

#### Figura 1

Lesiones microscópicas de Neosporosis ovina



Fuente: (Benavides *et al.*, 2022).

En la presente, se muestra las lesiones microscópicas de la Neosporosis ovina;

**(A)** Placenta: El foco de necrosis y el escaso infiltrado de las células inflamatorias, de manera principal los linfocitos y macrófagos, asimismo, la mineralización en el centro del área necrótica, HE. 4X. **(B)** Cerebro fetal: la encefalitis que se caracteriza por los focos gliales multifocales dispersados aleatoriamente en el neuropilo, HE. 2X. **(C)** Cerebro fetal: Se observa un aumento significativo en la cantidad de focos gliales mononucleares dentro de la materia gris de la corteza cerebral. Además, se detecta una leve inflamación caracterizada por la presencia de células mononucleares en las meninges adyacentes, HE. 4X. **(D)** Cerebro fetal: Se observan quistes de tejido parasitario (señalados con puntas de flecha) ubicados dentro del neuropilo. Es notable la escasa respuesta inflamatoria por parte de las células en relación con la presencia de estos quistes., HE. 40X. **(E)** Hígado fetal: Se observa un foco de necrosis caseosa con infiltración de células mononucleares, principalmente macrófagos, dentro del parénquima hepático. Los agregados de células mononucleares oscuras corresponden a focos de tejido hematopoyético, un hallazgo considerado normal en el hígado fetal, HE. 10X.

### **3.3 GENERALIDADES**

#### **3.3.1 Etiología**

La etiología principal es el protozoo intracelular que fue descubierta por Dubey en 1998, se le denomina *Neospora caninum*, su efecto está relacionado con la causa de los abortos en los bovinos, asimismo de la disminución de la carne y leche; en las personas no se encuentran antecedentes sobre la infección de este parásito, no obstante hay una probabilidad de que pueda ser subdiagnosticada como toxoplasmosis (Baquero *et al.*, 2022).

La Neosporosis tiene la procedencia del protozoo *Neospora caninum*, miembro del filo Apicomplexa y familia Sarcocystidae. Los rasgos del filo pueden identificarse mediante microscopía electrónica (Dubey & Schares, 2006).

*N. caninum* es conocido como un protozoo intracelular obligado, cuyo huésped principal es el perro, y mediante el consumo de pastos contaminados llega a bovinos y ovinos quienes son hospedadores intermediarios (Dubey, 2003).

Produce mortalidad, abortos neonatales en bovinos y en perros alteraciones neuromusculares (Dubey & Schares, 2011).

### 3.3.2 Taxonomía

Reino: Protista

Subreino: Protozoo

Phylum: Apicomplexa

Clase: Esporozoa

Orden: Eucoccida

Familia: Sarcocystidae.

Subfamilia: Toxoplasmatinae

Género: *Neospora*

Especie: *Neospora caninum*

(Vignau M *et al.*, 2005)

### 3.3.3 Fases evolutivas

#### Taquizoitos.

Los taquizoitos se dividen por endodigénesis en forma rápida. Miden aproximadamente de 3- 7  $\mu$ m de longitud, tiene entre 6 -16 roptries y en algunos casos presentan entre 4 - 6 roptries localizados en la parte posterior del núcleo, raramente se observa un microporo. Son de forma ovoide, semilunar o globosa (Aycachi., 2005).

Es uno de los tres estados infecciosos de *Neospora caninum* y se encuentra en el hospedero intermediario, en forma intracelular, generalmente a nivel

citoplasmático, específicamente, en la vacuola parasitófaga de la célula hospedador. Puede parasitar a un gran número de células como neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miocitos, hepatocitos (*Dubey et al., 1988*).

### **Bradizoítos**

Los bradizoítos se dividen por endodiogénesis, en forma lenta, encontrándose dentro de los quistes tisulares. Miden aproximadamente 7-8  $\mu\text{m}$ , contiene los mismos organelos que el taquizoito, presentan un número menor de roptries. Morfológicamente son similares a los taquizoitos (*Aycachi., 2005*).

### **Quistes**

Es un estado que se encuentra en el hospedero intermediario. Los quistes en el tejido son ovalados o redondos y miden hasta 107  $\mu\text{m}$  de diámetro y se encuentran primariamente en el sistema nervioso central, dentro de los quistes encontramos los bradizoitos, aproximadamente miden de 50-500  $\mu\text{m}$ . Su pared es lisa y gruesa (4  $\mu\text{m}$ ) (*Aycachi., 2005*).

### **Ooquistes**

No esporulados: Son los eliminados en las heces del hospedador definitivo son esféricos o sub esféricos, miden 10 a 11  $\mu\text{m}$  (*Barriga., 2002*).

Esporulados: Los ooquistes esporulados, son los que después de tres días en el medio ambiente contienen dos esporozitos con cuatro esporozoitos cada uno, son morfológicamente similar a los ooquistes de *T. gondii* y *Hammondia* en el perro (*Aycachi., 2005*).

### **3.3.4 Ciclo biológico**

El ciclo biológico de *N. caninum* manifiesta de dos fases: la fase sexual, que tiene lugar en el hospedador definitivo (el perro), y la fase asexual (*McAllister et al.,*

1998), etapa asexual, desarrollada en huéspedes intermedios (bovinos, equinos, ovinos, caprinos) (Dubey & Lindsay, 1990) en los que se da la formación de taquizoitos y quistes tisulares que son idénticos que contienen bradizoítos dentro (Dubey & Lindsay, 1996). La única forma de provocar la liberación de ooquistes en el huésped definitivo es la ingesta de quistes tisulares (Dubey & Lindsay, 1996). (McAllister *et al.*, 1998) presentes en matrices biológicas blandas (placentas y fetos abortados) (Dubey, 2003). Después de este suceso, en el tracto digestivo, los jugos gástricos debilitan la pared del quiste incitando una multiplicación sexual y en efecto la formación de ooquistes sin esporo que son evacuados en la materia fecal con un periodo de 8-14 días posteriores a la infección y durante un período de tiempo variable (Lindsay *et al.*, 1999). El ooquiste expuesto al medio ambiente inicia su proceso de esporulación, volviéndose infeccioso dentro de las 24 a 72 horas (Dubey, 2004; McAllister *et al.*, 1998).

Las primeras etapas de la infección son causadas por taquizoitos que ingresan a las células infiltrándose activamente durante 5 minutos (Hemphill & Gottstein, 1996), luego de lo cual quedan confinados dentro de vacuolas parasitarias formadas por el parásito y la célula hospedadora, donde comienzan a multiplicarse por consanguinidad sobre un rango grande de células (Speer & Dubey, 1989), incluidas células endoteliales, células renales, fibroblastos, hepatocitos, macrófagos, neutrófilos y miocitos, donde una célula tiene la capacidad para almacenar a más de cien taquizoítos (Bjerkås & Presthus, 1989; Dubey *et al.*, 1988). Aunque es un parásito intracelular definitivo, también puede ser encontrado a nivel extracelular después de que se rompa la célula infectada y comience a adherirse e invadir nuevas células diana en cuestión de horas (Hemphill & Gottstein, 1996).

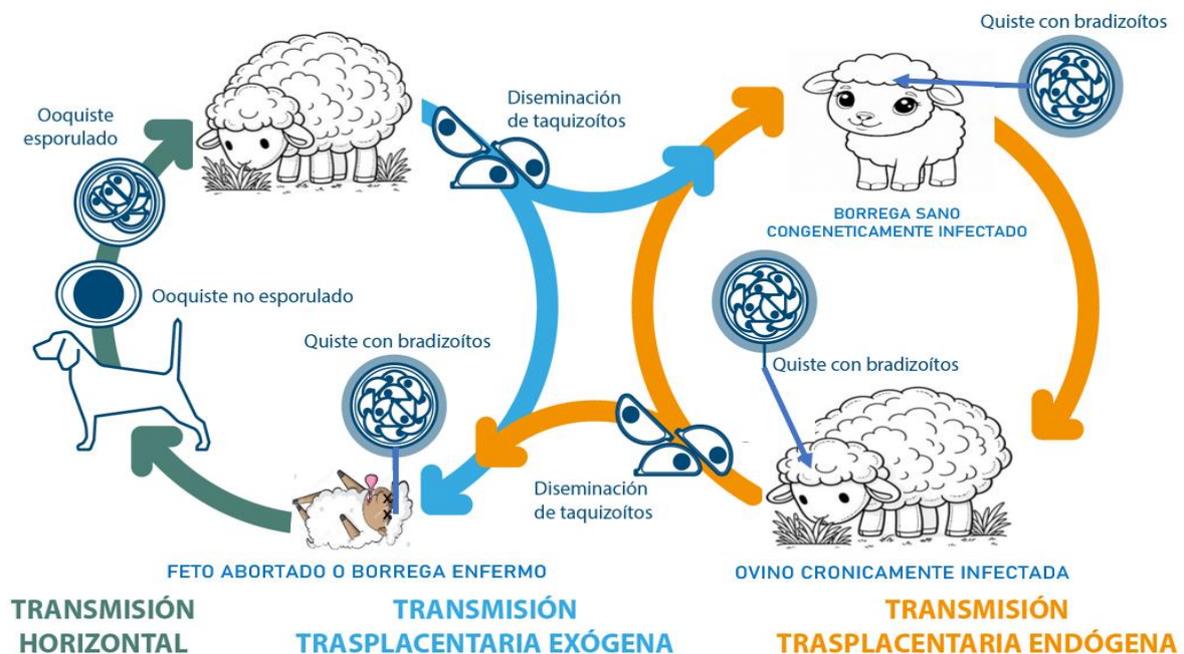
Durante la transición de taquizoitos a bradizoítos, hay una fase prolongada con mínima proliferación de quistes hísticos. Esto puede ser el resultado de la evasión del huésped de los mecanismos de respuesta inmune (Buxton *et al.*, 2002; Buxton *et al.*, 1998).

Los quistes hísticos, ya sea de forma experimental o causados naturalmente por una infección, a menudo se forman en el tejido nervioso y muscular (Dubey *et al.*, 2002; Peters *et al.*, 2001).

Durante la gestación de un huésped intermediario, una infección primaria causada por la ingestión de ooquistes esporulados o una infección prolongada de bradizoíto a taquizoíto puede entrar en la placenta a través de la circulación e infectar al feto en crecimiento (Williams *et al.*, 2009).

**Figura 2**

Ciclo biológico de la *Neospora caninum*



Fuente: (Dubey *et al.*, 2017).

El ciclo biológico, muestra al perro como el principal hospedador y los bovinos como los intermediarios, en la que la reproducción asexual se da en forma de taquizoitos, estos están dentro de las diferentes células y de los bradizoítos los cuales están ubicadas en el tejido nervioso en los quistes intracelulares, cabe recalcar que el perro es considerado el productor asimismo hospedador definitivo, cuando el perro ingesta la carne cruda de los bovinos genera producciones asexuales excretando grandes cantidades de ooquistes.

### **3.3.5 Factores de riesgo**

Las condiciones como el clima que son favorables para el desarrollo del agente, asimismo, la propiedad que tiene presencia de perros, también se le considera a las condiciones que muestran las prácticas del manejo sanitario con deficiencia, las condiciones climáticas con precipitaciones mayores y humedad que favorece a la esporulación de ooquistes (Rizzo *et al.*, 2017).

El ciclo de vida que tiene el parásito es heteroxeno, es en la cual el can y los coyotes actúan como los hospedadores principales, asimismo otros animales domésticos en las granjas (Romo-Gallegos *et al.*, 2019).

Los contaminantes biológicos y químicos, cabe precisar que también los pequeños rumiantes son considerados como factores de riesgo, dado que, son huéspedes intermediarios del *N. caninum*, asimismo la eliminación de restos de los animales que murieron al aire libre (Lan-Bi *et al.*, 2018).

### **Edad**

El *Neospora caninum* afecta en cualquier edad a todo tipo de ganados, cuando la vaca de cualquier edad infecta al feto mediante su placenta, sucede acontecimientos provocando el aborto que se da en cualquiera fuese el periodo gestante, sin embargo cabe precisar que, es más frecuente en el segundo tercio de

la gestación (Romanelli *et al.*, 2021).

La edad del aborto esta entre 3 a 8 meses, aunque en su mayoría se da de los 4 a los 6 meses de gestación, se pueden dar muchos abortos en periodos relativamente cortos; los ovinos que hayan tenido aborto por esta enfermedad pueden volver a gestar y sus fetos pueden volver a estar infectados de manera congénita pueden presentar sintomatologías neuromusculares, y esos signos suelen aparecer después de los 5 días de nacimiento o de dos semanas (Al-Shaeli *et al.*, 2020).

### **Sexo**

La edad el sexo y el contacto cercano que tienen con los caninos son considerados como factores importantes para la aparición del *Neospora caninum*, a través de estudios se considera que la tasa de los seropositivos es más alta en los ovinos que en los carneros, ello por los diferentes niveles hormonales entre las ovinos y carneros, asimismo los factores de gestación y lactancia (Benavides *et al.*, 2022).

La reproducción sexual del *N. caninum* se lleva en los hospedadores como los perros, coyotes, dingo y lobo gris, la reproducción sexual es en forma de coccidiosis intestinal con excreción de ooquistes en las heces (Rizzo *et al.*, 2017).

### **3.4 Patogénesis**

La infección en una oveja preñada puede reactivarse por influencias hormonales e inmunológicas, originando parasitemia. La hembra preñada, donde sus niveles de P4 están a niveles elevados favorece la reactivación y transmisión vertical del parásito a su descendencia, cuando ocurre el aborto respectivo hay un descenso de la progesterona y un aumento relativo de los E2 (Campero, 2002).

Se ha estimado que transcurren de 3 a 4 semanas entre la infección y el aborto, la finalización de la gestación también puede terminar con el nacimiento de un ternero, que de ser 20 hembra, transmitirá la enfermedad a su descendencia o tendrá riesgo

de abortar en sus subsecuentes preñeces (Campero, 2002).

### **3.4.1 Patogenia del aborto**

Varios factores influyen en la tasa de abortos del ganado infectado por *Neospora caninum*. Entre ellos se encuentran la caracterización del aislado de *Neospora caninum* (Innes *et al.*, 2002), el inicio de la parasitemia durante la gestación (Buxton *et al.*, 2002), la gravedad y duración de la parasitemia, la eficacia de la respuesta inmunitaria materna, la capacidad de generar una respuesta inmunitaria y la fase gestacional del animal. En determinados contextos hormonales e inmunológicos, los bradizoítos latentes en quistes de tejido del SNC llegan a activarse y producir parasitemia en hembras preñadas (Innes *et al.*, 2002; Quinn *et al.*, 2002).

Es en el intestino delgado tras la ingestión de quistes esporulados, donde se generan los esporozoítos, donde parasitan el epitelio y donde finalmente se transforman en taquizoítos (Williams *et al.*, 2000).

Éstos provocan la primera fase de la infección antes de replicarse rápidamente en los ganglios linfáticos mesentéricos y propagarse después a través del sistema circulatorio, por todo el cuerpo (Dubey & Schares, 2006).

En los tejidos los taquizoítos proliferan mediante endodiogenia una secuencia que se encuentra en el interior de las células, pueden llegar al feto a través de la circulación de la madre tras migrar al epitelio uterino y atravesar la placenta, donde desencadenan trombosis, necrosis y vasculitis en el placentoma (Dubey, 2003).

La infección por *Neospora caninum* durante el primer trimestre de gestación provoca la muerte o la absorción del feto debido al sistema inmunitario poco desarrollado del embrión. Los corderos infectados congénitamente pueden mostrar signos externos si la infección se desarrolla en el segundo trimestre de gestación o el feto puede abortar si su sistema inmunitario no está lo suficientemente maduro para

combatir la infección. Los infectados, pero clínicamente sanos nacen cuando la infección se desarrolla en el tercer trimestre (Buxton *et al.*, 2002).

La transmisión del parásito tiene menos frecuencia al principio de la gestación y, en caso de llegar producirse, acaba en mortalidad fetal y posterior reabsorción, según estudios tanto de infección natural como de infecciones experimentales en ganado vacuno (Williams *et al.*, 2000).

El impacto de la Neosporosis en el ganado ovino es mucho menor que en el bovino. Las ovinos son resistentes a la infección pandémica a menos que se críen en un rebaño (Vogel *et al.*, 2006)

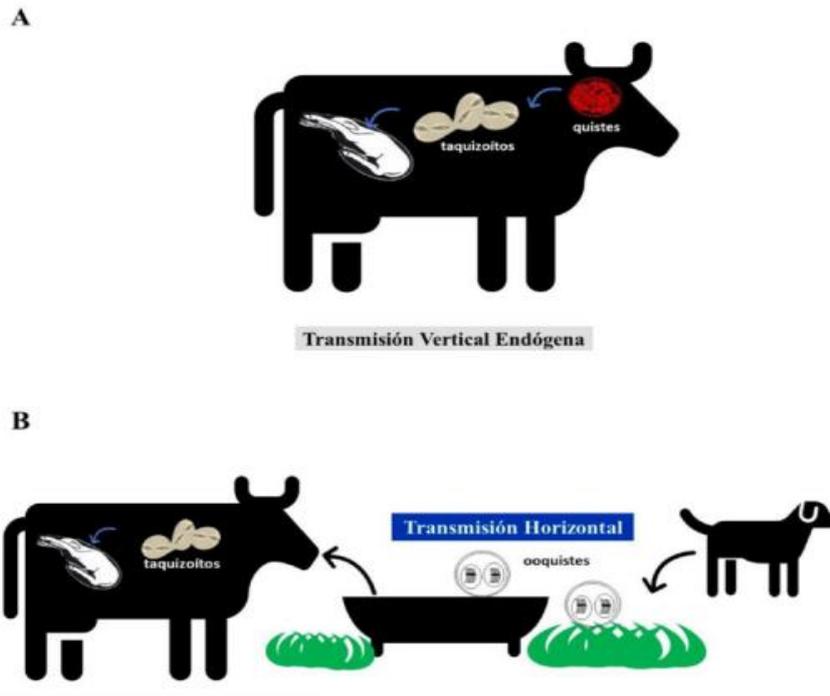
### **3.4.2 Formas de transmisión**

Se ha demostrado que *Neospora caninum* puede propagarse tanto vertical como horizontalmente entre el ganado bovino, siendo el primero el modo de transmisión principal, más eficaz y más común (Dubey, 2003).

Se considera que la edad, asimismo la falta de asociación respecto al estado serológico de los corderos y ovinos indican que la ruta principal de la transmisión en los rebaños es a través de la infección horizontal, dado que, es la transmisión por ingestión de ooquistes esporulados siendo la principal vía de infección (Romanelli *et al.*, 2021).

### Figura 3

Vía de transmisión transplacentaria endógena



Fuente: (Campero et al., 2021).

La vía transplacentaria muestra en la **(A)**: infección del feto a través del pasaje transplacentario de taquizoítos, reactivación de los quistes tisulares en la vaca preñada y crónicamente infectada, en la **(B)**: transmisión horizontal y vía transplacentaria, el perro es el que elimina ooquistes mediante las heces, generando contaminación en los alimentos y en el agua que el ganado consume lo cual es la transmisión horizontal; la vaca preñada obtiene la primoinfección por ingerir ooquistes, produciendo una infección fetal por el pasaje transplacentario de los taquizoítos lo cual es la transmisión vertical exógena.

#### Transmisión Vertical

La transmisión placentaria es el método de transmisión más investigado en el ganado vacuno porque es eficaz y común: los taquizoítos penetran en la placenta y atacan al feto en una hembra preñada, con tasas de transmisión entre el 40% y el 95% (Dubey, 2003).

Esto es crucial porque permite que la enfermedad permanezca y se propague por el rebaño sin necesidad de un hospedador específico (Schaes *et al.*, 1999).

Las hembras infectadas al nacer pueden transmitir la enfermedad durante la varias gestaciones; sin embargo, a medida que se desarrolla la inmunidad, la tasa de transmisión disminuye (Anderson *et al.*, 1995).

Buxton *et al.*, 2001, descubrieron anomalías histológicas en los tejidos fetales causadas por *Neospora caninum*, lo que indica una transmisión transplacentaria en fetos ovinos infectados de forma latente en un estudio realizado en 1999.

Se han publicado varios casos de transmisión transplacentaria en ovinos (Kobayashi *et al.*, 2001).

Tanto los animales abortivos como los no abortivos son susceptibles a la transferencia transplacentaria (Dubey & Lindsay, 1996).

Se han identificado modos endógenos y exógenos de transferencia transplacentaria (Trees & Williams, 2005).

Debido a la transmisión transplacentaria endógena, los abortos se producen con frecuencia en hembras gestantes infectadas crónicamente, con tasas de aborto bajas durante meses y años (Schaes *et al.*, 2001).

Los abortos se producen con frecuencia en hembras embarazadas infectadas crónicamente debido a la transmisión transplacentaria endógena, con tasas de aborto bajas que abarcan meses y años (Schaes *et al.*, 2001).

La transmisión transplacentaria exógena, por otro lado, ocurre en hembras bovinas preñadas que se infectan por primera vez durante este periodo a través de la transmisión horizontal; en este caso, la infección se transmite a la descendencia y se asocia con patrones epidémicos de aborto y tasas de aborto superiores al 10-12.5% en menos de seis a ocho semanas (Dijkstra *et al.*, 2001; Schaes *et al.*, 2005).

La transmisión vertical se ha establecido experimentalmente en bovinos a través del calostro durante el periodo neonatal (Davison *et al.*, 2001), pero no de forma espontánea.

Los abortos, la muerte neonatal por partos prematuros, la reabsorción embrionaria y el nacimiento de crías con deficiencias neuromusculares son efectos secundarios de esta vía de transmisión, que también se ha observado en ovinos (Dubey, 2003).

### **Transmisión Horizontal**

Se produce cuando un hospedador definitivo ingiere un quiste de un hospedador intermediario que alberga bradizoítos, que suelen vivir en tejidos nerviosos como el cerebro y la médula. Los quistes contienen bradizoítos, que pueden seguir proliferando y diseminando la infección mucho después de haber reventado (Bergeron *et al.*, 2001).

Los tejidos fetales abortados y las placentas incluyen quistes tisulares que pueden ser ingeridos y causar una transmisión natural (Dijkstra, 2002).

La transmisión horizontal directa en hospedadores mediadores puede producirse cuando un hospedador consume ooquistes esporulados de *Neospora caninum* que han sido dispersados en heces de perro o a través de hierba y/o agua que ha sido infectada con ooquistes (De Marez *et al.*, 1999; Trees *et al.*, 2002).

Aunque se evidencia que la transmisión vertical es eficaz en los rebaños, es necesaria la transmisión horizontal después del parto para mantener niveles estables de infección (Davison *et al.*, 1999).

Aunque la transmisión del taquizoíto es limitada en hospedadores intermediarios, se ha documentado su transmisión por vía venérea entre vacas infectadas mediante pruebas de inoculación intrauterina con esperma infectado con

taquizoíto (Serrano *et al.*, 2007).

### **3.4.3 Signos clínicos**

#### **Signos clínicos en perros**

Las alteraciones neurológicas y las anomalías musculares son los signos clínicos más comunes de la Neosporosis en perros, que pueden aparecer ya en los dos primeros días de recién nacido (Barber *et al.*, 1997)

La parálisis ascendente de las extremidades, acompañada de atrofia y rigidez muscular progresiva, es el síntoma más grave que se observa en las crías infectadas congénitamente, a menudo en animales con una vida inferior a 6 meses (Dubey & Lappin, 2005).

#### **Signos clínicos en ovinos**

Los abortos del ganado vacuno son más frecuentes entre la 4ta y 6ta semana de gestación, pero pueden producirse en cualquier momento entre la tercera y la novena semana (Lindsay *et al.*, 1996).

Según (Bildfell *et al.*, 1994), cuando un feto muere antes del quinto mes de gestación, puede momificarse y permanecer en el útero hasta la conclusión del gestación”.

Sin embargo, la reabsorción y el posterior celo pueden producirse si la madre muere en las primeras fases de la gestación (Dubey, 2003).

Los indicios clínicos suelen aparecer entre cuatro y cinco días después del parto y dos semanas después del nacimiento en animales nacidos vivos (Dubey & Lahunta, 1993; Duivenvoorden & Lusi, 1995).

Durante un examen a nivel neurológico puede detectarse una disminución de la respuesta rotuliana y de la propiocepción, así como problemas congénitos como escoliosis, hidrocefalia o un estrechamiento de la médula espinal (Barr *et al.*, 1991).

La Neosporosis congénita en ovinos se demostró experimentalmente por primera vez con un cordero que "nació débil, parcialmente atáxico y murió a la semana de vida" (Dubey & Lindsay, 1990; Jara, 2009, p. 21).

En un estudio se observó que las ovinos preñadas parían corderos congénitamente infectados pero sanos por lo demás (McAllister *et al.*, 1996).

También se observó que había muchos abortos, crías momificadas, mortinatos y cabritos frágiles. Otro estudio experimental descubrió que la mortalidad y la reabsorción de embriones, así como otros problemas reproductivos, variaban con la edad gestacional de las ovinos infectadas (McAllister *et al.*, 1996).

### **3.5 Lesiones**

Los daños en la conductividad nerviosa-muscular, debidos a la muerte de las células nerviosas, y los daños en el cerebro y la médula espinal son causados por *Neospora caninum*, que "provoca la muerte de la célula, en compañía de lesiones necróticas a la vista en los días siguientes, debido a la replicación activa de los taquizoitos" (Georgieva *et al.*, 2006; Jara, 2009).

En 1996 se descubrieron anomalías histopatológicas como encefalitis multifocal no supurativa, miositis no supurativa y placentitis necrotizante no supurativa en investigaciones con ovinos infectadas experimentalmente.(McAllister *et al.*, 1996)

Descubrieron quistes en el sistema nervioso central fetal. Se utilizaron la histopatología y la inmunohistoquímica (IHC) en una investigación de seguimiento realizada un año después (Buxton *et al.*, 1997).

Hubo informes adicionales de daños en los cotiledones de la placenta, así como en el corazón, pulmones e hígado (Buxton *et al.*, 1998).

En 2003, los investigadores utilizaron cinco ovinos preñadas en distintas fases de gestación para realizar un experimento con ovinos infectadas experimentalmente.

Se observó que los corderos nacidos de ovinos inoculadas presentaban cambios histopatológicos en el cerebro, incluidas formas quísticas del parásito, infiltrados inflamatorios mononucleares, necrosis y calcificación (Oviedo *et al.*, 2003).

Una ovino preñada asintomática y sus dos fetos presentaban encefalitis multifocal confirmada por IHC, nódulos gliales, células inflamatorias mononucleares y quistes tisulares con muchos bradizoítos (Kobayashi *et al.*, 2001).

Los fetos abortados también se han relacionado con hallazgos de IHC de quistes y lesiones de *Neospora caninum* en el cerebro (Hässig *et al.*, 2003).

## **3.6 Inmunidad**

### **3.6.1 Inmunidad en la gestación**

La producción de moléculas proinflamatorias como la IL-12 y el IFN-, perjudiciales para la gestación, se suprime y los niveles de progesterona se mantienen altos gracias a una respuesta inmunitaria Th2 (mediada por linfocitos ayudantes de tipo 2) que mantiene la gestación. Cuando la respuesta Th1 supera a la respuesta Th2, es posible el rechazo fetal. El IFN y otras citocinas asociadas a la respuesta Th1 incluyen las interleucinas IL2, IL-3 e IL-12, que promueven actividades citolíticas en macrófagos y NK (*natural killer*), activan la protrombina, facilitando así la coagulación y la trombosis, y estimulan la producción de inmunoglobulinas, activando así la cascada del complemento. El sincitiotrofoblasto se ve modificado por la respuesta TH1 fomentada por estas actividades. Además, el INF- puede actuar directamente sobre este tejido para desencadenar abortos (Granados *et al.*, 2014).

### **3.6.2 Inmunidad en las infecciones por *Neospora caninum***

La infección por *Neospora caninum* desencadena una respuesta inmunológica temprana. Las células dendríticas, las células asesinas naturales y los macrófagos llevan a cabo la línea inicial de defensa, la inmunidad innata, mediante la producción

de citoquinas de tipo IL-12 e INF- (Boysen *et al.*, 2006; Strohbusch *et al.*, 2009).

Los ratones que carecen de la enzima sintasa de óxido nítrico productora de NO son vulnerables al parásito *Neospora caninum*, lo que despierta el interés de los investigadores (Jara, 2009, pp. 18-19).

El NO es producido por los macrófagos activados y cumple múltiples funciones, entre ellas la inmunosupresión y la destrucción de parásitos intracelulares.

Los parásitos pueden provocar dos respuestas inmunitarias celulares distintas en los humanos: una en la que se producen IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IgG1 e IgE, y otra en la que se producen IL-12, INF-, TNF (factor de necrosis tumoral) e IgG2 principalmente en respuesta a los parásitos intracelulares (Tizard, 2009).

La respuesta IgG tiende a crecer con el curso de la infección tanto en infecciones naturales como experimentales de animales con taquizoítos u ooquistes de *Neospora caninum*, lo que permite la identificación de animales crónicos o recientemente infectados.

La respuesta inmunitaria Th1 provocada por *Neospora caninum* está impulsada por la IL12, y sus productos incluyen IFN-, IL-2, TNF- y la presencia de células NK que también producen INF-. Los linfocitos citotóxicos (Lc) se exponen con epítomos de proteínas antigénicas procesadas cuando las moléculas MHC-1 están presentes en la célula (Hemphill & Gottstein, 1996; Jara, 2009).

Para potenciar la respuesta citolítica y la inmunidad celular mediada por anticuerpos, las células presentadoras de antígenos (macrófagos, células dendríticas) producen epítomos que activan estos linfocitos Th1.

Las células cerebrales bovinas cultivadas, que son altamente susceptibles a *Neospora caninum*, mostraron una producción de IFN en respuesta a la infección, lo que demuestra la importancia de INF- en el control de la infección por *N. caninum*,

como lo demuestra "una inhibición significativa de la multiplicación intracelular de *N. caninum*" tras el tratamiento con INF- recombinante.

Innes *et al.* (2002) han demostrado que tanto los linfocitos CD4+ como los CD8+ producen INF- al principio de la infección, pero que posteriormente sólo predominan los linfocitos CD4+, y que los linfocitos T CD4+ pueden mediar en la rápida lisis de las células enfermas.

Al inicio de una infección, el INF- activa los linfocitos T CD4+, sesgando la replicación inmunológica hacia un tipo Th1, al tiempo que potencia los linfocitos T CD8+. Esto se debe a que, durante la fase aguda, estos últimos funcionan como células citotóxicas que ayudan a limitar la proliferación del parásito. Más adelante, en la lucha contra *Neospora caninum*, las células T CD4+ adquieren una importancia cada vez mayor. En un estudio de ratones infectados por *Neospora caninum*, los anticuerpos monoclonales anti-CD4+ se relacionaron con morbilidad grave y muerte, pero la terapia anti-CD8+ sólo produjo un 30% de mortalidad (Ritter *et al.*, 2002).

### **3.7 Diagnóstico**

Para validar un diagnóstico presuntivo de Neosporosis canina y ovina se requieren investigaciones especializadas (Dubey, 2003).

Este proceso comienza con la anamnesis, la epidemiología y un examen clínico de los síntomas y lesiones (Cornejo, 2004).

Los fetos abortados y las pruebas de detección de anticuerpos maternos y sus hijos, son dos de los métodos más precisos para determinar si la infección por *N. caninum* es o no la culpable de un aborto bovino. Deben utilizarse múltiples métodos de diagnóstico para confirmar si un rebaño está experimentando o no abortos relacionados con *N. caninum* (Ortega, 2007).

## **ELISA**

La tecnología ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) es actualmente la tecnología inmunológica más utilizada, se caracteriza por el uso de marcadores enzimáticos para detectar y amplificar reacciones antígeno-anticuerpo, estas técnicas, uno de los elementos de la respuesta inmune (antígeno o anticuerpo) se inmoviliza sobre un soporte sólido, normalmente una placa de poliestireno, polietileno, polipropileno o nailon, lo que asegura su adsorción pasiva y eliminación sin lavado, la interacción antígeno-anticuerpo está determinada por una reacción colorimétrica, que ocurre cuando una enzima (unida a un antígeno o anticuerpo) degrada el sustrato correspondiente, la medición de la absorbancia en los pocillos de una placa ELISA permite cuantificar la respuesta inmune (Rodríguez, 2004).

### **3.8 Tratamiento**

Desafortunadamente, no hay medicamentos disponibles que sean eficaces y asequibles para la terapia farmacológica de la Neosporosis bovina en este momento (Dubey *et al.*, 2011).

Se ha aconsejado la clindamicina oral a dosis de 12.5 a 18.5 mg/kg/p.v. administrada 2 veces al día por 2 a 4 semanas para el tratamiento de la toxoplasmosis canina y bovina (*T. gondii*) (Granillo & Martínez, 2008).

Otra estrategia eficaz es tomar tanto pirimetamina como sulfonamidas cada 12 horas por 4 semanas (Cuellar *et al.*, 2004; Granillo & Martínez, 2008).

Se demostró que el toltrazuril y el ponazuril, ambos derivados del medicamento triazinona utilizado para tratar la coccidiosis, reducen los daños cerebrales relacionados con la enfermedad en un estudio con un modelo animal de Neosporosis (Moore *et al.*, 2005).

Uno de los tratamientos para poder minimizar los resultados de una primera infección o la reactivación de la infección crónica en el tiempo de la gestación o en rumiantes recién nacidos con el fin de poder evitar la cronificación de la infección es la quimioprofilaxis o quimioterapia en los ovinos y vacas infectadas, que consiste en prevenir la infección, evitando que se desarrolle la enfermedad en los infectados (Sánchez-Sánchez *et al.*, 2018).

Uno de los tratamientos obtenida de manera experimental es el toltrazul y el ponazuril, los cuales tienen la acción de prevenir que haya una formación de lesiones cerebrales causando la reducción de la detección del ADN a través de PCR en porcentajes mayores al 90%, cabe precisar que el los productos lácteos libre de químicos, desarrollo a la resistencia del medicamento y el consumo de la carne pueden limitar como una medida de control a la quimioterapia (Romanelli *et al.*, 2021).

Se basa en la reducción de la transmisión horizontal, la cual es la contaminación ambiental, evitar que los canes tengan el acceso a los restos de placentas, también puede evitar que los alimentos se contaminen con las heces de los animales (Morales, 2017).

### **3.9 Prevención**

(Andrianarivo *et al.*, 2000) escriben que se ha evidenciado una vacuna contra *N. caninum*, pero con poco éxito, por lo que la inmunoprofilaxis podría ser una medida adecuada para prevenir la transmisión vertical (Álvarez, 2003).

Las tasas de aborto de repetición debidas a Neosporosis son generalmente raras siendo menos del 5% (Anderson *et al.*, 1991; Wouda *et al.*, 1998).

No obstante, una respuesta robusta de tipo Th1 resultante de la vacunación puede ser incompatible con el desarrollo de una gestación normal (Álvarez, 2003).

La vacunación de vacas gestantes con una vacuna inactivada (NeoGuar,

Intervet) estuvo autorizada en Estados Unidos hasta 2009. "A pesar de la seguridad de la vacuna, su función de protección frente al aborto fue ampliamente debatido porque esta vacuna no defendió contra el parásito a las novillas gestantes infectadas experimentalmente" (Andrianarivo *et al.*, 2000).

Además, la investigación se basa en la exploración de nuevas generaciones de vacunas que utilizan diversos antígenos recombinantes, parásitos transgénicos y técnicas novedosas de adyuvantes (Innes *et al.*, 2011; Rojo, 2012).

### **3.10 Control**

En pocas palabras, "la Neosporosis se describe como la causa adicional de aborto (en ganado ovino), y su seguimiento debe centrarse en disminuir el predominio de la infección [en el ganado con focos declarados] y prevenir su diseminación, evitando así la transmisión en todas las direcciones" (Collantes, 2003).

La infección postnatal puede reducirse eliminando los fetos y placentas abortados y limitando el acceso de los canes a agua, pastos, cobertizos y silos donde se almacena el pienso del ganado (Jara, 2009).

Se recomienda la identificación de los animales seropositivos para el control de la transmisión congénita en un rebaño; si la serología muestra una elevada predominancia del parásito, los animales infectados pueden mantenerse en el rebaño pero aislados del resto de los animales y de sus crías; las pruebas deben realizarse antes de la toma de calostro; si estos recién nacidos están libres de infección, deben ser alimentados con calostro de madres seronegativas y los rebaños con baja incidencia pueden ser manejados mediante el deshecho de los animales contaminados o la separación gradual de los mismos (Thurmond & Hietala, 1995).

## **3.11 MARCO CONCEPTUAL**

### **3.11.1 Anticuerpo**

Los anticuerpos (Ac) o las inmunoglobulinas (Ig) son moléculas de glicoproteínas (90% péptidos, 10% carbohidratos) que se unen específicamente a un antígeno o inmunógeno. También se les conoce como: anticuerpos, gammaglobulina (por su migración electroforética), antitoxinas, lectinas o precipitinas (Vega, 2009). Son productos de células B que se unen específicamente a fragmentos de antígenos (Gallastegui *et al.*, 2002).

### **3.11.2 Antígeno**

Moléculas exógenas o endógenas que son extrañas al organismo, puede unirse específicamente a anticuerpos (Ac) o receptores de células T (TCR), pero no necesariamente produce una respuesta inmune (Vega, 2009).

### **3.11.3 Reacción Antígeno-Anticuerpo**

El antígeno es una porción de un microorganismo o parásito que contiene sitios específicos de reconocimiento humoral (anticuerpos) o celular (linfocitos) de la respuesta inmunitaria, a estos sitios se les denomina epitopes, los denominados antígenos crudos por lo general son extractos solubles de los microorganismos o parásitos, se constituyen por una variedad de componentes tanto del agente como de las células en las cuales se alojan, en los antígenos crudos la mayor parte de los componentes son irrelevantes, pero pueden ser reconocidos por anticuerpos o linfocitos y dar reacciones falsas positivas o negativas, por lo tanto, es deseable purificarlos (Gallastegui *et al.*, 2002).

### 3.11.5 ELISA Competitiva

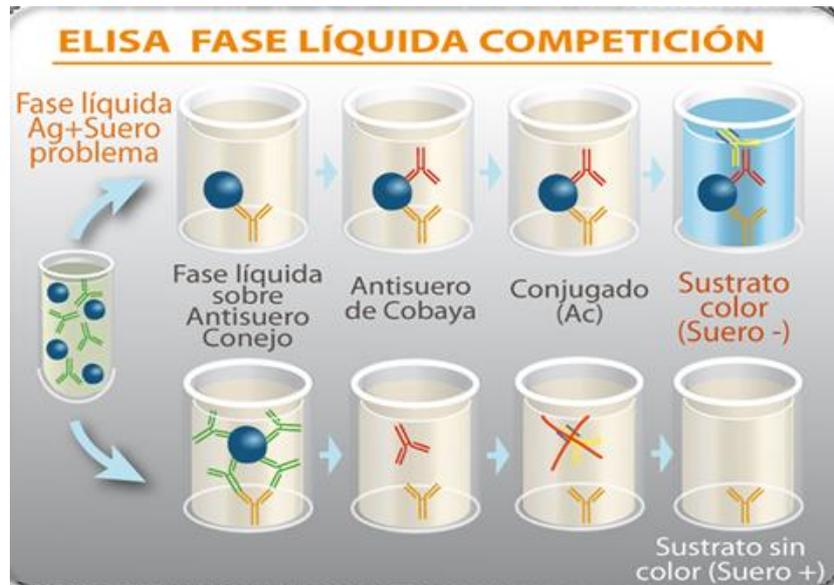
Los anticuerpos o antígenos se inmovilizan en una fase sólida y su unión a conjugados antígeno-enzima o anticuerpo-enzima se inhibe por la presencia de analitos no marcados en la muestra, las incubaciones entre la muestra y el conjugado se pueden realizar de forma simultánea o secuencial, esta última opción no es estrictamente competitiva, proporciona una mayor detectabilidad y se recomienda si se desea detectar anticuerpos de baja afinidad (Ochoa, 2012).

El procedimiento del método de ELISA competitivo según (Abyntek, 2019) sería el siguiente:

- a. El antígeno de referencia se paraliza sobre la placa.
- b. Por otro lado, se incuba un exceso de anticuerpos primarios no marcados con una muestra que contiene el antígeno de interés, lo que da como resultado la formación de complejos antígeno-anticuerpo.
- c. La mezcla antígeno-anticuerpo se añade a la placa donde el antígeno de referencia competirá con el antígeno de prueba para unirse al anticuerpo.
- d. Lavar la placa para eliminar los complejos antígeno-anticuerpo solubles.
- e. Se añaden a la placa anticuerpos secundarios marcados con enzimas, que se unen a los anticuerpos primarios unidos al antígeno de referencia.
- f. Se añade el sustrato que al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que será inversamente proporcional a la cantidad de antígeno de interés presente en la muestra.

## Figura 4

Fase de la técnica ELISA competitivo



Fuente: (Sanchez, 2010).

Esta figura muestra: **(1)** Se incuba el suero problema con el antígeno. **(2)** La mezcla anterior se deposita sobre los pocillos donde previamente se ha fijado un suero anti antígeno **(3)** se añade el conjugado. **(4)** después, el sustrato. En este caso la ausencia de color sería positivo.

### 3.11.6 Prevalencia

La prevalencia cuantifica la proporción de individuos de una población que padecen una enfermedad en un momento o periodo de tiempo determinado. La prevalencia depende de la incidencia y de la duración de la enfermedad. Si la incidencia de una enfermedad es baja pero los afectados tienen la enfermedad durante un largo período de tiempo, la proporción de la población que tenga la enfermedad en un momento dado puede ser alta en relación con su incidencia. Inversamente, si la incidencia es alta y la duración es corta, ya sea porque se recuperan pronto o fallecen, la prevalencia puede ser baja en relación a la incidencia de dicha patología. Por lo tanto, los cambios de prevalencia de un momento a otro

pueden ser resultado de cambios en la incidencia, cambios en la duración de la enfermedad o ambos (Pita et al., 2004).

### **3.11.7 Incidencia**

La incidencia se define como el número de casos nuevos de una enfermedad que se desarrollan en una población durante un período de tiempo determinado. Hay dos tipos de medidas de incidencia: la incidencia acumulada y la tasa de incidencia, también denominada densidad de incidencia (Pita et al., 2004).

## **IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### **4.1 ÁMBITO DE ESTUDIO**

#### **4.1.1 Localización**

- Región : Cusco
- Departamento : Cusco
- Provincia : Espinar
- Distrito : Pallpata

#### **4.1.2 Ubicación Geográfica**

- Latitud Sur : 14°53'25"
- Longitud Oeste : 71°12'36"
- Altitud : 4005 m. s. n. m

### **4.2 MATERIALES DE ESTUDIO**

#### **4.2.1 Equipos, reactivos y materiales auxiliares**

##### **4.2.1.1 Equipos**

- Centrifuga (NF 200-Nuve)
- Vortex (2 GENIE-Scientific industries)
- Cabina de flujo laminar (Telstar Bio IIA)
- Incubadora de 25 °C (JITTERBUG-4-Boekel Scientific)
- Refrigeradora de 2 a 8 °C (LG)
- Congeladora a -20°C (Electrolux)
- Lector de microplacas ELISA (EPOCH 2-Biotek)

##### **4.2.1.2 Instrumentos**

- Cronómetro de tiempo
- Micropipeta unicanal de 20 a 200 MI
- Micropipeta unicanal de 100 a 1000 MI

- Micropipeta multicanal de 10 a 300 MI
- Cámara

#### **4.2.1.3 Reactivos**

- Microplaca tapizada con antígeno de *Neospora caninum*
- Control negativo
- Control positivo
- Conjugado 100X
- Tampón de dilución de conjugado
- Substrato TMB
- Solución de stop
- Solución concentrada de lavado (10X)

#### **4.2.1.4 Materiales**

- Puntas de pipetas desechables o tips.
- Tubos vacutainer
- Aguja Vacutainer
- Viales criogénicos de 2mL
- Algodón
- Alcohol al 70%
- Marcadores indelebles
- Pipetas Pasteur
- Guantes de látex
- Barbijo
- Gorros
- Papel toalla
- Agua destilada

- Parafilm

#### **4.2.1.5 Otros materiales**

- Cooler refrigerante
- Geles refrigerantes
- Fichas clínicas
- Probetas graduadas
- Bandejas para depósito de reactivos
- Ligas para hemostasia
- Gradillas

#### **4.2.1.6 Indumentarias de trabajo**

- Mandil
- Botas
- Mameluco

#### **4.2.1.7 Materiales de escritorio**

- Lapiceros
- Cuadernos de campo
- Pizarra acrílica
- Fichas para cada animal
- Lapicero indeleble
- Ordenador

### **4.3 UNIDAD DE ANÁLISIS**

Ovinos de la raza corriedale a quienes se les realizó el análisis serológico.

### **4.4 POBLACIÓN DE ESTUDIO**

La población de ovinos del distrito de Pallpata, provincia Espinar corresponde a 40,313 ovinos entre machos y hembras, (CENAGRO, 2012).

#### 4.5 TAMAÑO DE MUESTRA

Se consideró 167 ovinos de la raza corriedale entre hembras y machos de los diferentes grupos etarios el cual se determinó según el método de (Vivanco, 2005)

$$n = \frac{N * Z^2 p * q}{(N - 1) * E^2 + Z^2 (p * q)}$$

Dónde:

- N: Tamaño de la población.  
Z: 1.81, nivel de confianza que se da a la muestra.  
p: Variabilidad 0.5 que tiene la enfermedad.  
q: Variabilidad 0.5 que no tiene la enfermedad.  
E: precisión o error experimental 0.07% al 93%.  
n: Tamaño de muestra.

**Tabla 2**

Distribución del tamaño de muestra según grupo etario para ovinos corriedale del distrito de Pallpata.

<b>Categoría</b>	<b>Edad</b>	<b>Tamaño de Muestra</b>
2D	1.5 a 2.5 años	44
4D	2.5 a 3.5 años	39
6D	3.5 a 4 años	24
BLL	4 a más años	60
	<b>TOTAL</b>	<b>167</b>

Fuente: Elaboración propia

El distrito de Pallpata tiene una población de 40 313 ovinos de los cuales se hizo un muestreo de 167 ovinos de la raza corriedale, siendo 44 ovinos de 2D de edad, 39 ovinos de 4D de edad, 24 ovinos de 6D de edad, 60 ovinos de BLL.

**Tabla 3**

Distribución del tamaño de muestra según sexo para ovinos corriedale del distrito de Pallpata.

<b>Sexo</b>	<b>Tamaño de Muestra</b>
Hembras (ovejas)	83
Machos (carneros)	84
<b>TOTAL</b>	<b>167</b>

Fuente: Elaboración propia

El distrito de Pallpata tiene una población de 40 313 ovinos de los cuales se hizo un muestreo de 167 ovinos de la raza corriedale, siendo 83 ovejas y 84 carneros.

#### **4.6 TÉCNICAS DE SELECCIÓN DE MUESTRA**

Se tomaron muestras al azar de 40 313 ovinos del distrito de Pallpata, 167 ejemplares, distribuidos según la edad y sexo.

#### **4.7 METODOLOGÍA PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS**

##### **4.7.1 Coordinación previa con productores de ovinos**

Antes de iniciar la recolección de las muestras, se coordinó con antelación con los productores de ovinos de la raza corriedale a través de un trabajo de sensibilización, en la que se expuso los objetivos del estudio a realizar, el mismo que se dio a conocer en una asamblea general, quienes acordaron dar la autorización.

##### **4.7.2 Toma de muestra de sangre**

Las muestras de sangre se tomaron de 167 ovinos, por punción de la vena cefálica previa desinfección de la zona de extracción con alcohol de 70 °C. Se utilizó tubos vacutainer de 5 ml con separador de suero al vacío. Concluido este procedimiento, se procedió a llenar las fichas clínicas con los datos de los ovinos muestreado y a rotular los tubos con los datos del animal. Las muestras fueron

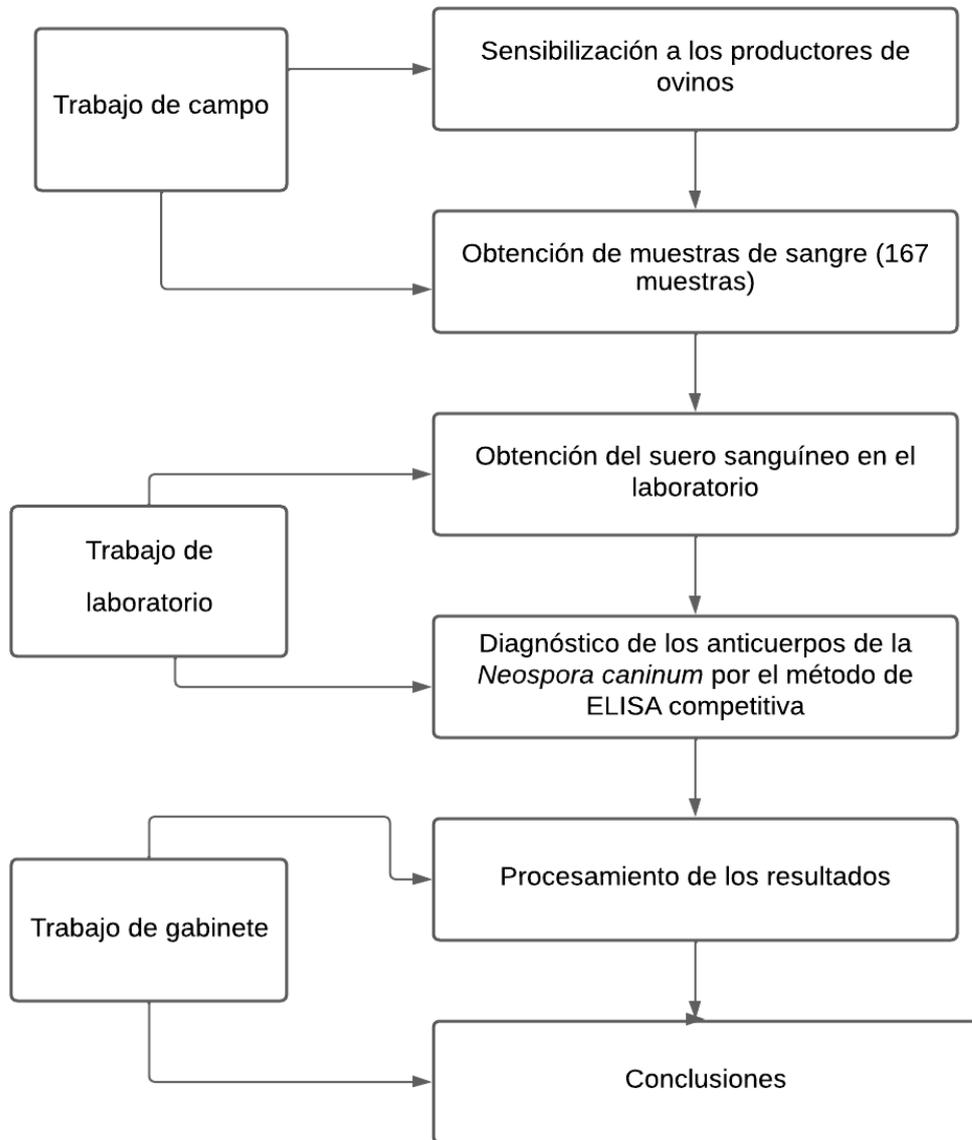
trasladados al laboratorio de Sanidad Animal “M.V. Atilio Pacheco Pacheco” de la Escuela Profesional de Zootecnia – UNSAAC, con la finalidad de realizar la centrifugación y el almacenamiento en condiciones adecuadas.

#### **4.7.3 Obtención de suero**

Se realizó mediante centrifugación las muestras a una velocidad de 1500 RPM, por un lapso de 10 minutos. Luego se aspiró cuidadosamente el suero con ayuda de una pipeta Pasteur estéril. Consecuentemente se procedió a separar en fracciones 0.5 ml en viales criogénicos, debidamente etiquetados e identificados hasta transferir todo el suero. Se realizó el sellado correcto de los tubos para conseguir un cierre hermético. Estas muestras se conservaron en la congeladora de -20 °C, hasta el momento del análisis serológico ( Muñoz & Morente, 2009).

**Figura 5**

Flujo del proceso del trabajo de campo



## **4.8 METODOLOGÍA DEL TEST DE ELISA COMPETITIVO**

### **4.8.1 Fundamento del ensayo**

El suero de la muestra de *N. caninum* inhibe la unión de los anticuerpos monoclonales específicos de *N. caninum* marcados con peroxidasa de rábano picante (HRP) al antígeno de *N. caninum* depositado en los pocillos de policarbonato de la placa de micro titulación. La mezcla de la forma monoclonal marcada con HRP se identifica mediante la adición de un sustrato compuesto y se evalúa por el posterior avance del elemento de color distinto. Un desarrollo fuerte del color indica poca o ninguna inhibición de la unión del anticuerpo monoclonal marcado con HEO y, en consecuencia, la ausencia de anticuerpo contra *N. caninum* en los sueros de la muestra. La presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en los sueros de la muestra se indica por la inhibición del desarrollo del color causada por la unión del anticuerpo monoclonal al antígeno durante la fase solicitada.

### **4.8.2 Preparación de muestras y reactivos**

- Las muestras de suero, los reactivos y las placas se llevaron a temperatura de 21°C antes de comenzar la prueba, luego se homogenizó cada reactivo agitándolo suavemente.
- La solución de lavado concentrada (10X) se llevó a una incubadora para que alcance la temperatura de 25 °C, luego se agitó para asegurar la disolución de posibles precipitados. Esta solución se diluyó en la proporción de 1 a 10 con agua destilada antes de su uso.
- El conjugado de anticuerpo peroxidasa 100X se diluyó una parte del conjugado de anticuerpo peroxidasa con 99 de tampón de dilución de conjugado €.

- Las muestras de suero sanguíneo se homogenizaron en un vortex, previo al análisis.
- La distribución de las muestras en la placa ELISA se diseñaron antes de iniciar en ensayo (Tabla 4).

**Tabla 4**

Muestras en la placa de ELISA.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CN	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
B	CN	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
C	CP	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
D	CP	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
E	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
F	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
G	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
H	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M

Donde:

**CN:** control negativo

**CP:** control positivo

M: muestras.

#### **4.8.3 Procedimiento del ensayo ELISA Competitivo**

1. Se tomó las placas tapizadas con antígenos de la *Neospora caninum* y se marcó la posición de las muestras en una plantilla.
2. Se cargó 50 µL de cada muestra de suero sin diluir a los pocillos de una placa de transferencia, según la ubicación asignada en la plantilla ELISA.
3. Se transfirió las muestras de suero a la placa recubierta de antígeno de la *Neospora caninum*.

4. Se dispensó 50  $\mu$ L del control positivo (B) por duplicado.
5. Se dispensó 50  $\mu$ L de control negativo © por duplicado.
6. Se cubrió la placa con Parafilm y se homogenizó el contenido de los pocillos en un agitador de microplacas.
7. Se incubó la placa ELISA por 1 hora a una temperatura de 25°C.
8. Se lavó cada pocillo con 300  $\mu$ L de la solución de lavado por tres veces y se realizó el respectivo secado sobre papel toalla.
9. Se dispensó 50  $\mu$ L de conjugado de anticuerpos peroxidasa (D) a los pocillos de la placa.
10. Se homogenizó el contenido de los pocillos en el agitador de microplacas.
11. Se incubó la placa durante 20 minutos adicionales a 25°C.
12. Se realizó el segundo lavado a cada pocillo con 300  $\mu$ L de la solución de lavado por tres veces.
13. Se añadió 50  $\mu$ L de solución de sustrato (G) a los pocillos de la placa, luego se cubrió las microplacas con Parafilm.
14. Se incubó la placa durante 20 minutos a 25°C.
15. Pasada la última incubación se dispensó 50  $\mu$ L de solución stop a los pocillos de la placa.
16. Se realizó la lectura de las absorbancias a 630 nm de longitud de onda en un lector de microplacas ELISA.

#### **4.8.4 Validación de la prueba**

La reacción es considerada válida, si:

La media de los controles (-) tiene una densidad óptica (OD)  $\geq 0.30$  y  $< 2.50$

La media de los controles (+) debe tener una inhibición  $\geq 30\%$ .

#### **4.8.5 Cálculo e interpretación de resultados**

Se realizó el cálculo del porcentaje de Inhibición de la reacción (%Inh), según la siguiente fórmula:

$$\% I = 100[1 - (OD (muestra) \div OD (CN))]$$

Donde:

- % I: Porcentaje de Inhibición de cada muestra
- OD (muestra): Densidad óptica de cada muestra
- OD (CN  $\bar{x}$ ): Densidad óptica media de los controles negativos
- La interpretación de los resultados se realizó de la siguiente manera:
- Si el % inhibición es  $\geq 30\%$ , la muestra se considera positiva.
- Si el % inhibición es  $< 30\%$ , la muestra se considera negativa.

#### **4.8.6 Prevalencia (P)**

Se estimó mediante la fórmula (Thrusfield, 1990).

$$P = \frac{n^{\circ} \text{muestras positivas}}{n^{\circ} \text{total de muestras}} \times 100$$

#### **4.8.7 Intervalo de confianza**

Se estimó mediante la fórmula (Armitage et al., 1987; Begg, 1988).

$$IC = P \pm Z \sqrt{pq/n}$$

Donde:

p = Prevalencia

q = 1-p

z = 1.81

n = Tamaño de muestra

#### **4.8.8 Diseño de investigación**

Es no experimental y transversal debido a que los variables del estudio se medirán una sola vez y con esa información se realizara el análisis.

#### **4.8.9 Tipo de investigación**

Según la orientación de la investigación es básica ya que la Neosporosis ovina se centra en comprender los mecanismos de infección a la respuesta inmunitaria del huésped.

#### **4.8.10 Tipo cualitativo y cuantitativo**

Se realiza observaciones cualitativas del comportamiento de los animales infectados y cuantitativa se utiliza el análisis de laboratorio para determinar la presencia del parasito.

#### **4.8.11 Análisis estadístico**

Se utilizó la prueba de Chi Cuadrado ( $\chi^2$ ) para determinar si hay asociación entre las variables de estudio (grupo etario y sexo) con la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en ovinos de la raza corriedale en el distrito de Pallpata.

Para determinar la independencia de las variables evaluadas se empleó un nivel de significancia de 0.05, cuyos datos se procesaron con el programa estadístico MINITAB.

$$\chi^2 = \sum \frac{(O_i - e_i)^2}{e_i}$$

Donde:

$O_i$  = representa a cada frecuencia observada

$e_i$  = representa a cada frecuencia esperada

## V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se evaluaron 167 muestras sanguíneas de ovinos (*Ovis aries*) recolectadas del distrito de Pallpata, Espinar, Cusco. Se determinó la prevalencia de 2.99% (5/167) de animales seropositivos a la *Neospora caninum* (Tabla 4).

Se observa la seroprevalencia según edad, donde se encontró en la categoría 2D (2/44) 4.55%; 4D (3/39) 7.69%; 6D (0/24) 0.0%; BLL (0/60) 0.0% y 3.57% (3/84) para machos; 2.14% (2/83) para hembras de seroprevalencia. En ovinos corriedale en el distrito de Pallpata.

**Tabla 5**

Determinación de seroprevalencia de Neosporosis en ovinos según sexo y edad del distrito de Pallpata.

	<b>Categoría</b>	<b>Edad</b>	<b>N° Muestras evaluadas</b>	<b>Positivos</b>	<b>Prevalencia (%)</b>
<b>Sexo</b>	Hembra	1.5 a 2.5 años	83	2	2.14 ± 0.03
	Macho	2.5 a 3.5 años	84	3	3.57 ± 0.04
<b>Categoría</b>	2D	1.5 a 2.5 años	44	2	4.55 ± 0.06
	4D	2.5 a 3.5 años	39	3	7.69 ± 0.08
	6D	3.5 a 4 años	24	0	0.00 ± 0.00
	BLL	4 años a mas	60	0	0.00 ± 0.00
<b>TOTAL</b>			<b>167</b>	<b>5</b>	<b>2.99 ± 0.02</b>

En la tabla 5, se observa los resultados obtenidos en el presente estudio de investigación, mediante técnica de ELISA competitiva, muestran similares resultados encontrados por Montañez (2020), donde informó una incidencia de *Neospora caninum* del 1.72 y 0%, en carneros 5% (1/20), para las razas de corriedale y criollos

respectivamente en la comunidad de Ccollana, Provincia de Chumbivilcas, la similitud se basaría por que se encuentran dentro de una misma región geográfica.

Sin embargo, Chilge (2018) en SAIS Tupac Amaru - Junín reportó una prevalencia de anticuerpos de *Neospora caninum* del 0,82% (3/367) en ovinos, lo cual es bajo, a lo que se encontró en el distrito de Pallpata.

Según Castañeda *et al.* (2014) determinaron la seroprevalencia de anticuerpos anti- *Neospora caninum*, estimaron la asociación entre la seroprevalencia y los factores de riesgo potenciales en ovinos en Aguas calientes. Tomaron un total de 324 muestras de sangre que se analizaron mediante ELISA para detectar anticuerpos. La seroprevalencia general alcanzó 5.5% (18/324), en ovejas 5.2% (15/286) y en carneros 7.9% (3/38). No encontraron asociación estadísticamente significativa entre la seroprevalencia y los factores de riesgo considerados en este estudio, en aguas calientes de México, lo cual es alto en comparación al presente trabajo de investigación.

Benavides *et al.* (2022) encontraron una mayor tasa de seropositivos en ovejas que en carneros, con efectos abortivos según Serrano-Martínez (2018). Estos datos enriquecen el conocimiento epidemiológico de la parasitosis en el sur andino del Perú, crucial para implementar medidas adecuadas de manejo.

Špilovská *et al.* (2009), en Eslovaquia por el método de ELISA obtuvo una prevalencia de 3.7% cuyo resultado es superior al presente trabajo, esto puede deberse a la crianza proliferada de perros en los hatos de ovinos, en estudios realizados por (Pare *et al.*, 1998; Basso *et al.*, 2001b), se muestra que la existencia de tres o más perros por hato constituye un factor de riesgo para la ocurrencia de abortos en la ganadería, por otro lado se conoce que los niveles de anticuerpos en perros de áreas rurales son mayores que en áreas urbanas (Patitucci *et al.*, 2001; Wouda *et al.*, 1998).

también mantienen la costumbre de adquirir animales de reemplazo en ferias sin evaluación previa (Moore *et al.*, 2005).

Según lo reportado por Cosendey *et al.* (2018) y Machado *et al.* (2011), por el método de ELISA evidencian prevalencias de 6.2% y 8.0% respectivamente, cuyos resultados son superiores al presente estudio, esto puede deberse a la infección transplacentaria, donde el mantenimiento de ovinos positivos, con enfermedad postnatal perpetua la presencia del parásito en los hatos, convirtiendo los hatos en seropositivos a *Neospora caninum*.

## VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1. CONCLUSIONES

- Se ha detectado la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en ovinos de la raza Corriedale y criollos en el distrito de Pallpata-Espinar con una seroprevalencia de:
- Por grupo etario 4.55% (2/44) en la categoría 2D, y del 7.69% (3/39) en la categoría 4D, mientras que no se detectaron casos positivos ( $0.00 \pm 0.00$ ) en los ovinos de 6D en adelante. En cuanto al sexo, se identificaron en machos de (3/84), en hembras (2/83), con prevalencias del 3.57% y 2.41%, respectivamente y una prevalencia general de anticuerpos contra *Neospora caninum* en los ovinos Corriedale y criollos fue del  $2.99\% \pm 0.02$  (5/167). Según el análisis estadístico del chi cuadrado realizado, no se encontraron diferencias significativas entre ambos sexos y grupo etario en cuanto a la presencia de la *Neosporosis caninum* ( $p > 0.05$ ).

## **6.2. RECOMENDACIONES**

1. A los productores del distrito de Pallpata se recomienda comprar animales de hatos certificados y que posean sus respectivos controles sanitarios.
2. Efectuar medidas de bioseguridad sometiendo a los animales adquiridos a cuarentena, para evitar la propagación de la enfermedad.
3. Para cortar el ciclo biológico del parásito, evitar que los canes tengan acceso a las vísceras y membranas placentarias crudas de los vacunos parasitados.
4. Como medida preventiva, fomentar la desparasitación de los perros con los productos adecuados para reducir la transmisión del parásito a los ovinos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abyntek (2019). Tipos de ELISAS ¿Conoces las diferencias?  
<https://www.Abyntek.Com/Tipos-de-Elisa/>.
- Aguirre, M. et al. (2019). Producción ovina y su impacto en la economía rural. Revista de Zootecnia.
- Al-Shaeli, S., Ethaeb, A. M., & Gharban, H. (2020). Molecular and Histopathological Identification of Ovine Neosporosis (*Neospora caninum*) in Aborted Ewes in Iraq. *Veterinary World*, 13(3). <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.597-603>
- Álvarez, G. (2003). Identificación y caracterización de antígenos de “*Neospora caninum*” con interés inmunodiagnóstico en bovinos. Universidad Complutense de Madrid. <https://hdl.handle.net/20.500.14352/55415>
- Anderson ML, Blanchard PC, Barr BC, Dubey JP, Hoffman RL, Conrad PA. Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc*. 1991 Jan 15;198(2):241-4. PMID: 2004983.
- Anderson, M., Palmer, C., & Thurmond, M. (1995). Evaluación de abortos en ganado bovino atribuibles a neosporosis en rebaños lecheros seleccionados en California. *J Am Vet Med Assoc*, 205, 1206-1210.
- Andrianarivo, A., Rowe, J., Barr, B., Anderson, M., Packham, A., Sverlow, K., Choromanski, L., Loui, C., Grace, A., & Conrad, P. (2000). Con adyuvante de POLÍGENO La preparación de taquizoítos de *Neospora caninum* muerta no logró prevenir la muerte fetal. Infección en bovinos preñados después de administración i.v/i.m. Taquizoíto experimental desafío. *Int. J. Parasitol.*, 30(9), 985-990.
- Armitage, B. (1987). *Statistical methods in medical research*. 2da ed. Great Britain. Blackwell Scientific Publications pp 115 - 120.
- Basso W, Venturini L, Venturini MC, Moore P, Rambeau M, Unzaga JM, Campero C, Bacigalupe D, Dubey JR. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. *J Parasitol*. 2001 Aug;87(4):906-7. doi:10.1645/0022-3395(2001)087[0906: PONCII]2.0.CO;2. PMID: 11534656.

- Baquero, F., Díaz, B., & Vinueza, P. (2022). Estudio de la Neosporosis en bovinos de la provincia de Chimborazo, Ecuador. *Revista Alfa*, 6(17), Article 17. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v6i17.163>
- Barber, J., Gasser, R., Ellis, J., Reichel, M., McMillan, D., & Trees, A. (1997). Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en diferentes poblaciones de cánidos. *J Parasitol*, 83, 1056-1058.
- Barr BC, Anderson ML, Dubey JP, Conrad PA. Infecciones por protozoos similares a *Neospora* asociadas con abortos bovinos. *Patología veterinaria*. 1991;28(2):110-116. doi: 10.1177/030098589102800202
- Begg, C. B. (1988). Statistical methods in medical research. *Statistics in Medicine*, 7(7), 817-818. <https://doi.org/10.1002/sim.4780070711>
- Benavides, J., González-Warleta, M., Arteché-Villasol, N., Pérez, V., Mezo, M., & Gutiérrez-Expósito, D. (2022). Ovine Neosporosis: The Current Global Situation. *Animals*, 12(16). <https://doi.org/10.3390/ani12162074>
- Bergeron N., Fecteau G., Villeneuve A., Girard C., Pare J. Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *Neospora caninum*. *Vet.Parasitol*.2001;97(2):145-152, [https://doi.org/10.1016/S03044017\(01\)00396-X](https://doi.org/10.1016/S03044017(01)00396-X).
- Bildfell, B., Davidson, J., & Dubey, J. (1994). *Neospora* indujo aborto bovino protozoario en Isla del Príncipe Eduardo. *Poder. Veterinario. J*, 35(2), 122.
- Bishop S, King J, Windsor P, Reichel MP, Ellis J, Slapeta J. The first report of ovine cerebral neosporosis and evaluation of *Neospora caninum* prevalence in sheep in New South Wales. *Vet Parasitol*. 2010 May 28;170(1-2):137-42. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.01.030. Epub 2010 Jan 28. PMID: 20189309.
- Bjerkås, I., & Presthus, J. (1989). La neuropatología en una infección similar a la toxoplasmosis causada por un esporozoo formador de quistes recientemente reconocido en perros. *APMIS: actas patológicas, microbiológicas e inmunológicas escandinavas*, 97(5), 459-468. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1989.tb00816.x>
- Boysen P., Klevar S., Olsen I., Storset A. The protozoan *Neospora caninum* directly triggers bovine NK cells to produce gamma interferon and to kill infected fibroblasts. *Infect Immun*. 2006; 74 (2): 953-960,

- Buxton, D., Maley, S., Thomson, K., Trees, A., & Innes, E. (1997). Infección experimental de Ovejas gestantes y no gestantes con *Neospora caninum*. *J Comp Pathol*, 117(1), 1-16, doi: 10.1016/s0021-9975(97)80062-x. PMID: 9263840.
- Buxton, D., Maley, S., Wright, S., Thomson, K., Rae, A., & Innes, E. (1998). La patogénesis de Neosporosis experimental en ovejas preñadas. *J Comp Pathol*, 18(4), 267-279. doi: 10.1016/s0021-9975(07)80003-x. PMID: 9651804.
- Buxton D., Wright S., Maley A., Rae A. Lundén. Immunity to experimental neosporosis in pregnant sheep. *Parasite immunol.* 2001; 23(2): 85-91. DOI: 10.1046/j.1365-3024.2001.00362.x
- Buxton, D., McAllister, M., & Dubey, J. (2002). La patogénesis comparada de la neosporosis. *Tendencias en Parasitología*, 18(12), 546-552. DOI: 10.1016/s1471-4922(02)02414-5
- Campero, L., Moore, D., Echaide, I., Campero, C., & Venturini, M. (2021). Bovine Neosporosis in Argentina: 25 Years From the First Report in The Country. *Analecta Veterinaria*, 41(1), 056. <https://doi.org/10.24215/15142590e056>
- Casas, G., Chávez, A., Casas, E., Leyva, V., Alvarado, A., Serrano, E., Ticona, D., & Puray, N. (2006). Presencia de *Neospora caninum* en llamas de una empresa ganadera de la Sierra Central. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 17(1), 8-13.
- Castañeda, A., Cruz, C., & Medina, L. (2014). *Neospora caninum*: Seroprevalencia y detección de ADN en sangre de ovinos de Aguascalientes, México. *Investigación sobre pequeños rumiantes*, 119(1-3), 182-186. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.03.002>
- Chilge, S. (2018). Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en ovinos de crianza extensiva de la Sais Túpac Amaru, Junín [Universidad Científica del Perú]. <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/829>
- Collantes, E. (2003). Patogenia de la neosporosis en el feto bovino y en un modelo murino experimental. Universidad Complutense de Madrid. <https://elibro.net/ereader/unincaragua/88595>
- Cornejo, N. (2004). Seroprevalencia de *N. Caninum* en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del valle del Mantaro. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

- Cosendey, R., De Oliveira, F., Frazão, E., De Souza, G., Brandão, F., Ferreira, A., & Lilenbaum, W. (2018). Seroprevalencia de anticuerpos anti- *Neospora caninum* en ovejas de un rebaño en rápida expansión de Río de Janeiro, Brasil. *Parasitología veterinaria: estudios e informes regionales*, 14, 59-62. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.09.001>
- Cuellar, K., López, C., & Romero, L. (2004). Evidencia Serológica de *Neospora caninum* en vacas con historial de abortos en once ganaderías lecheras de la zona Centro-Occidental de El Salvador. Universidad de El Salvador.
- Daniel, W. (2006). Organización y resumen de los datos. *Bioestadística. Base para el Análisis de las ciencias de la Salud*. México D. F. México: Editorial Limusa Wiley, S.A. del Grupo Editorial Noriega.
- Davison, H., Guy, C., McGarry, J., Guy, F., Williams, D., & Trees, A. (2001). Estudios experimentales sobre la transmisión de *Neospora caninum* entre bovinos. *Res Vet Sci*, 70, 163-168.
- Davison, H., Guy, F., & Trees, A. (1999). Aislamiento in vitro de *Neospora caninum* de un ternero muerto en el Reino Unido. *Res Vet Sci*, 67, 103-105.
- De Marez, Liddell, S., Dubey, J., Jenkins, M., & Gasbarre, L. (1999). Infección oral de terneros con ooquistes de *Neospora caninum* de perros: Respuestas inmunitarias humorales y celulares. *Revista internacional de parasitología*, 29, 1647-1657.
- Díaz R., Oviedo F. Cadena productiva de ovinos, Ministerio de Agricultura y Riego, 2013.
- Dijkstra T, Barkema HW, Hesselink JW, Wouda W. Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. *Vet Parasitol*. 2002 Apr 30;105(2):89-98. doi: 10.1016/s0304-4017(02)00009-2. PMID: 11900922.
- Dijkstra, T., Eysker, M., Schares, G., Conraths, F., & Barkema, H. (2001). Los perros eliminan quistes de *Neospora caninum* después de la ingestión de placenta bovina naturalmente infectada, pero no después de la ingestión de calostro enriquecido con taquizoítos de *Neospora caninum*. *Int J Parasitol*, 31, 747-752. DOI: 10.1016/s0020-7519(01)00230-2
- Dijkstra, T., Lam, T., Bartels, C., Eysker, M., & Wouda, W. (2008). Naturales infección posnatal por *Neospora caninum* en el ganado puede persistir y provocar

- Infección transplacentaria endógena. *Vet Parasitol.*, 152, 220-225. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.12.034.
- Dubey, J. (2003). Revisión de *Neospora caninum* y neosporosis en animales. La revista coreana de parasitología, 41(1), 1-16. <https://doi.org/10.3347/kjp.2003.41.1.1>
- Dubey, J. (2004). Toxoplasmosis: Una zoonosis transmitida por el agua. *Parasitología veterinaria*, 126(1-2), 57-72. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.005>
- Dubey, J., Barr, B., Barta, J., Bjerkås, I., Björkman, C., Blagburn, B., Bowman, D., Buxton, D., Ellis, J., Gottstein, B., Hemphill, A., Hill, D., Howe, D., Jenkins, M., Kobayashi, Y., Koudela, B., Marsh, A., Mattsson, J., Modrý, D., & Lindsay, D. (2002). Redescrición de *Neospora caninum* y su diferenciación de coccidios relacionados. *Revista internacional de parasitología*, 32(8), 929-946. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(02\)00094-2](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(02)00094-2)
- Dubey, J., Buxton, D., & Wouda, W. (2006). Patogénesis de la neosporosis bovina. *J.Comp. Patol*, 134(4), 267-289. DOI: 10.1016/j.jcpa.2005.11.004
- Dubey, J., Carpenter, J., Speer, C., Topper, M., & Uggla, A. (1988). Enfermedad protozoaria mortal recientemente reconocida en los perros. *Revista de la Asociación Estadounidense de Medicina Veterinaria*, 192, 1269-1285. PMID: 3391851.
- Dubey, J., Hemphill, A., Calero-Bernal, R., & Schares, G. (2017). *Neosporosis in Animals*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315152561>
- Dubey, J., Jenkins, M., Adams, D., McAllister, M., Anderson, R., Baszler, T., Kwok, O., Lally, N., Björkman, C., & Uggla, A. (1997). Respuestas de anticuerpos de las vacas durante un brote de neosporosis evaluado por anticuerpo fluorescente indirecto test y diferentes ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas. *J Parasitol*, 83(6), 1063-1069. PMID: 9406780.
- Dubey, J., Jenkins, M., Rajendran, C., Miska, K., Ferreira, L., & Martins, J. (2011). El lobo gris (*Canis lupus*) es un huésped natural definitivo de *Neospora caninum*. *Veterinario. Vet. Parasitol*, 181(2-4), 382-387. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.05.018
- Dubey, J., & Lahunta, A. (1993). Neosporosis asociada a deformidades congénitas de las extremidades en una pantorrilla. *Aplicación Parasitol*, 34(4), 229-233.

- Dubey, JP, Lappin, MR 2005. Toxoplasmosis y Neosporosis. En: Greene, CE, editor. Enfermedades infecciosas de perros y gatos. St. Louis, MO: Saunders-Elsevier. pág. 754-775
- Dubey, J., & Lindsay, D. (1990). Aborto inducido por *Neospora caninum* en ovejas. Revista de investigación de diagnóstico veterinario, 2(3), 230-233. <https://doi.org/10.1177/104063879000200316>
- Dubey, J., & Lindsay, D. (1996). Una revisión de *Neospora caninum* y neosporosis. Parasitología veterinaria, 67(1-2), 1-59. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(96\)01035-7](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(96)01035-7)
- Dubey, J., & Schares, G. (2006). Diagnóstico de la neosporosis bovina. Parasitología veterinaria, 140(1-2), 1-34. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.03.035>
- Dubey, J., & Schares, G. (2011). Neosporosis en animales: Los últimos cinco años. Parasitología veterinaria, 180(1-2), 90-108. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.031>
- Dubey, J., Schares, G., & Ortega, L. (2007). Epidemiología y control de la neosporosis y *Neospora caninum*. Clin Microbiol Rev., 20(2), 323-367. doi: 10.1128/CMR.00031-06. PMID: 17428888; PMCID: PMC1865591.
- Duivenvoorden, J., & Lusi, P. (1995). Abortos de *Neospora* en rebaños lecheros del este de Ontario. Can. Vet. J, 36(10), 623.
- Gaffuri, A., Giacometti, M., Tranquillo, V., Magnino, S., Cordioli, P., & Lanfranchi, P. (2006). Encuesta serológica de corzos, rebecos y ovejas domésticas en los Alpes centrales de Italia. Revista de enfermedades de la vida silvestre, 42(3), 685-690. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-42.3.685>
- Gallastegui, C.; Bernardez, B.; Regueira, A.; Davila, C.; Leboeiro, B. (2002). Inmunología. Farmacia Hospitalaria, 1077-1106. <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/fhtomo2/CAP11.pdf>.
- Georgieva, D., Prelezov, P., & Koinarsky, V. (2006). *Neospora caninum* y neosporosis a revisar. Bulg J Vet Med, 9, 1-26.
- Granados, S. (2012). Frecuencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros de cuatro distritos del Valle del Mantaro (Junín). Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Granados, S., Rivera, H., Casas, E., Suárez, F., Arana, C., & Chávez, A. (2014). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros de cuatro distritos

- del Valle del Mantaro, Junín. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 25(1), 58-64. <https://doi.org/10.15381/rivep.v25i1.8468>
- Granillo, G., & Martínez, J. (2008). Determinación serológica de *Neospora caninum* en *canis domesticus* en tres ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, de El Salvador. Universidad de El Salvador.
- Hässig, M., Sager, H., Reitt, K., Ziegler, D., & Gottstein, B. (2003). *Neospora caninum* en ovejas: Un informe de caso de rebaño. *Vet. Parasitol*, 117(3), 213-220. DOI: 10.1016/j.vetpar.2003.07.029
- Helmick, B., Otter, A., McGarry, J., & Buxton, D. (2002). Investigación serológica de ovejas y cerdos abortados para detectar infección por *Neospora caninum*. *Res Vet Sci*, 73(187). DOI: 10.1016/s0034-5288(02)00093-0
- Hemphill, A., & Gottstein, B. (1996). Identificación de una proteína de superficie importante en los taquizoitos de *Neospora caninum*. *Parasitol Res*, 82, 497-504. <https://doi.org/10.7892/boris.118699>
- Howe, L., Collet, M., Pattison, R., Marshall, J., West, D., & Pomroy, W. (2012). Posible implicación de *Neospora caninum* en abortos naturales en ovinos en Nueva Zelanda. *Veterinary parasitology*, 185(2-4), 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.033>
- INEI Instituto nacional de estadística e informática. III Censo Nacional Agropecuario. Lima: Ministerio de Agricultura y Riego; 1994.
- INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática, PE). (2012). IV Censo Nacional Agropecuario. Recuperado de <http://censos.inei.gob.pe/Cenagro/redatam/>
- Innes, E., Andrianarivo, A., Björkman, C., Williams, D., & Conrad, P. (2002). Respuestas inmunes a *Neospora caninum* y perspectivas de vacunación. *Tendencias Parasitol*, 18, 497-504. DOI: 10.1016/s1471-4922(02)02372-3
- Innes, E., Bartley, P., Rocchi, M., Benavidas, J., Burrells, A., Hotchkiss, E., Chianini, F., Canton, G., & Katzer, F. (2011). Desarrollo de vacunas para controlar protozoos parásitos en rumiantes: ¿vivos o muertos? *Vet Parasitol.*, 180(1-2), 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.036>
- Jara Vila J.A. Determinación de anticuerpos contra *Neospora caninum* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en el distrito de Jenaro Herrera, Loreto. Tesis para optar el título de médico veterinario. 2009. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

- Kobayashi, Y., Yamada, M., Omata, Y., & Koyama, T. (2001). Infección natural por *Neospora caninum* en una oveja adulta y sus fetos gemelos. Infección natural por *Neospora caninum* en una oveja adulta y sus fetos gemelos, 87(2), 434-436. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2001\)087\[0434:NONCII\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[0434:NONCII]2.0.CO;2)
- Lan-Bi, N., Cong, W., Zou, Y., Dong-Hui, Z., Qin-Li, L., Wen-Bin, Z., Jian-Gang, M., Du, R., & Xing-Quan, Z. (2018). First Report of Seroprevalence and Risk Factors of *Neospora caninum* Infection in Tibetan Sheep in China. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2018/2098908>
- Lindsay, D., Kelly, E., & McKown. (1996). Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* en coyotes (*Canis latrans*) e infecciones experimentales de coyotes con *Neospora caninum*. *J Parasitol*, 82, 657-659.
- Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol*. 1999 May;82(4):327-33. doi: 10.1016/s0304-4017(99)00054-0. PMID: 10384909.
- Machado, G., Kikuti, M., Langoni, H., & Paes, A. (2011). Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a neosporosis en ovinos y perros de granjas. *Parasitol veterinario*, 182(2-4), 356-358. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.021>
- Martínez-Lagos, Josué, Schwerter A., Félix, Urrutia C., Natalie (2018). Neosporosis bovina: signos clínicos, diagnóstico, prevención y control [en línea]. Osorno, Chile: Ficha Técnica INIA Remehue. no. 20. <https://hdl.handle.net/20.500.14001/66849>
- McAllister, M., Dubey, J., Lindsay, D., Jolley, D., Wills, R., & McGuire, A. (1998). Los perros son huéspedes definitivos de *Neospora caninum*. *International journal for parasitology*, 28(9), 1473-1478.
- McAllister, M., McGuire, A., Jolley, W., Lindsay, D., Trees, A., & Stobart, R. (1996). Experimental Neosporosis en ovejas preñadas y sus crías. *Vet Pathol*, 33(6), 647-655. DOI. 10.1177/030098589603300603
- Montañez, R. (2020). Detección del anticuerpo contra la neosporosis (*Neospora caninum*) en ovinos criollos y corriedale de la comunidad Ccollana distrito Quiñota provincia de Chumbivilcas – Cusco [Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco]. <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/5291?locale=attribute=en>

- Moore, D., Leunda, M., Zamorano, P., Odeón, A., Romera, S., Cano, A., De Yaniz, G., & Campero, C. (2005). Respuesta inmune a *Neospora caninum* en novillas naturalmente infectadas y novillas vacunadas con antígeno inactivado durante el segundo trimestre de gestación. *Vet Parasitol*, 130(1-2), 29-39. DOI: 10.1016/j.vetpar.2005.03.010
- Moore, D., Odeón, A., & Campero, C. (2001). Neosporosis bovina: Una actualización. *Vet Arg.*, 180(13), 752-775.
- Morales, E. (2017). Neosporosis Bovina: Control Y Prevención. Sitio Argentino de Producción Animal, 74.
- Muñoz, Á., & Morente, M. M. (2009). Obtención, procesado y almacenamiento de muestras de suero. *Red Biobancos-Instituto de Salud Carlos III.*, 12.
- Ochoa A., R. B. (2012). Técnicas Inmunoenzimático para ensayos clínicos de vacunas y estudios inmunológicos.
- Ortega, L. (2007). Aborto por protozoarios en rumiantes de granja: Pautas para el diagnóstico y Control. *CABI*, 323-380.
- Oviedo, T., Goretti, R., Vargas, M., & Patarroyo, J. (2003). Histopatología de la infección experimental de ovejas sin lana *Ovis aries* por *Neospora caninum*. *Rev. MVZ Córdoba*, 8(1), 261-264. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1050>
- Pare, J., Fecteau, G., Fortin, M., & Marsolais., G. (1998). Seroepidemiologic study of *Neispora caninum* in dairy herds. *Eslovaquia: J.A.V.M.A* 213: 1595-1598.
- Patitucci, A., Phil, M., Pérez, M., Rosas, M., & Israel, F. (2001). Neosporosis canina: Presencia de anticuerpos séricos en poblaciones caninas rurales y urbanas de Chile. *Arch Med Vet*, 33, 227-232. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2001000200011>
- Pereyra, W., Suarez, V., Cardoso, N., Gual, I., Martínez, G., Capozzo, A., & Mansilla, F. (2021). Prevalencia sérica de *Neospora Caninum* y Factores de Riesgo Asociados a su Transmisión en Tambos de la Provincia de Salta, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 53(2), 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.06.011>
- Peters M, Lütkefels E, Heckerroth AR, Schares G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. *Int J Parasitol*. 2001 Aug;31(10):1144-8. doi: 10.1016/s0020-7519(01)00221-1. PMID: 11429181.

- Piaggio, J., Delucchi, L., Balañales, P., & Easton, C. (2010). Actualización en Neosporosis. [https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/20256/1/FVET\\_PiaggioJ\\_2007\\_Act.Neosporosis.PDF](https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/20256/1/FVET_PiaggioJ_2007_Act.Neosporosis.PDF)
- Quinn, H., Ellis, J., & Smith, N. (2002). Neospora caninum: Una ¿Causa del fracaso de la gestacion mediado por el sistema inmunológico? *Tendencias Parasitol*, 18, 391-394. DOI: 10.1016/s1471-4922(02)02324-3
- Reichel, M., Thorton, R., Morgan, P., Mills, R., & Schares, G. (1998). Neosporosis en un cachorro. *N Z Vet J*, 46, 106-110. DOI: 10.1080/00480169.1998.36069
- Ritter D., Kerlin R., Sibert G., Brake D. Immune factors influencing the course of infection with Neospora caninum in the murine host. *J. Parasitol.* 2002; 88 (2): 271-280. DOI: 10.1645/0022-3395(2002)088[0271: IFITCO]2.0.CO;2
- Rizzo, H., Jesus, T., Gaeta, N., Carvalho, J., Pinheiro, J., Gregory, L., Gennari, S., & Villalobos, E. (2017). Pesquisa de Anticorpos IgG para Neospora Caninum e Avaliação dos Fatores de Risco em Ovinos do Estado de Sergipe. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(8). <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2017000800006>
- Rodríguez R., M. A. (2004). Utilización de técnicas genéticas (PCR Y PCR cuantitativo en tiempo Real) e- Inmunológicas (ELISA), para la detección y cuantificación de diferentes especies Animales. Universidad Complutense de Madrid.,37.
- Rojo, S. (2012). Desarrollo de vacunas frente a la neosporosis bovina utilizando aislados de Neospora Caninum inactivados y atenuados. Universidad Complutense de Madrid. <https://hdl.handle.net/20.500.14352/48375>
- Romanelli, P., Caldart, E., Felipe, C., Martins, C., Matos, A., Pinto-Ferreira, F., Mareze, M., Mitsuka-Breganó, R., Freire, R., & Navarro, I. (2021). Seroprevalence and Associated Risk Factors of Ovine Neosporosis Worldwide: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Semina: Ciências Agrárias*, 42(3). <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n3Supl1p2111>
- Romo-Gallegos, J. M., Cruz-Vázquez, C., Medina-Esparza, L., Ramos-Parra, M., & Romero-Salas, D. (2019). Prevalence and Risk Factors of Neospora Caninum Infection in Ovine Flocks of Central-Western Mexico. *Acta Veterinaria Hungarica*, 67(1). <https://doi.org/10.1556/004.2019.006>
- Sanchez-Vizcaino. (2010). Curso de Introducción a la inmunología porcina. <Http://Apps.Sanidadanimal.Info/Cursos/Inmunologia/Ca051.Htm>

- Sánchez-Sánchez, R., Vázquez, P., Ferre, I., & Ortega-Mora, L. M. (2018). Treatment of Toxoplasmosis and Neosporosis in Farm Ruminants: State of Knowledge and Future Trends. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 18(15). CC
- Schares, G., Dubremetz, J., Dubey, J., Loyens, A., & Conraths, J. (1999). *Neospora caninum*: Identificación de 19-38 y y 40 kDa Antígenos de superficie y un gránulo denso de 33 kDa antígeno utilizando anticuerpos monoclonales. *Exp Parasitol*, 92. DOI: 10.1006/expr.1999.4403
- Schares G, Heydorn AO, Cüppers A, Conraths FJ, Mehlhorn H. *Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. *Parasitol Res.* 2001 Oct;87(10):808-16. doi: 10.1007/s004360100445. PMID: 11688886.
- Schares, G., Pantchev, N., Barutzki, D., Heydorn, A., & Bauer, C. (2005). Ooquistes de *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* y *Hammondia hammondi* en heces recolectadas de perros en Alemania. *Revista internacional de parasitología*, 35, 1525-1537. DOI: 10.1016/j.ijpara.2005.08.008
- Serrano, E., Collantes, E., Chávez, A., Rodríguez, A., Casas, E., & Risco, V. (2007). Evaluación de infecciones por *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii* en fetos abortados de alpaca (*Vicugna pacos*) y llama (*Lama glama*) del Perú. *Veterinario Parasitol*, 150, 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.08.048>
- Serrano-Martínez, E., Evaristo, R., Quispe, M., & Hinostroza, E. (2018). Seroprevalencia de *Neospora Caninum* en Bovinos de Lima y Comparación Entre ELISA e IFI. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(3), 916-922. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i3.14757>
- Speer, C., & Dubey, J. (1989). Ultraestructura de taquizoítos, bradizoítos y quistes tisulares de *Neospora caninum*. *Revista de protozoología*, 36(5), 458-463. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1989.tb01081.x>
- Špilovská, S., Reiterová, K., Kováčová, D., Bobáková, M., & Dubinský, P. (2009). El primer hallazgo de *Neospora caninum* y la aparición de otros agentes abortivos en ovejas de Eslovaquia. *Parasitología veterinaria*, 164(2-4), 320-323. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.05.020>

- Strohbusch, M., Muller, N., Hemphill, A., Krebber, R., Greif, G., Gottstein, B. Toltrazuril treatment of congenitally acquired *Neospora caninum* infection in newborn mice. *Parasitol. Res.* 2009; 104 (6): 1335-1343.
- Thrusfield, M. (1990). *Epidemiología veterinaria* (E. A. S.A., Ed.). 8420006742
- Thurmond, M., & Hietala, S. (1995). Estrategias para controlar la infección por *Neospora* en el ganado. *El practicante bovino*, 4(29), 29-32. <https://doi.org/10.21423/bovine-vol1995no29p60-63>
- Tizard, I. (2009). *Introducción a la inmunología veterinaria* (8.a, revisada ed.). Elsevier Health Sciences.
- Trees, A., McAllister, M., Guy, C., McGarry, J., Smith, R., & Williams, D. (2002). *Neospora caninum*: Desafío de oocistos de vacas preñadas. *Parasitología Veterinaria*, 109, 147-154. doi. 10.1016/s0304-4017(02)00234-0
- Trees AJ, Williams DJ. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitol.* 2005 Dec;21(12):558-61. doi: 10.1016/j.pt.2005.09.005.
- Vega R., G. B. (2009a). Anticuerpos. *Rev Fac Med UNAM*; 52(3):136-138.
- Vega R., G. B. (2009b). Antígenos e inmunógenos. *Rev Fac Med UNAM.*, 52(1), 41–42.
- Vignau M, Venturini L, Romero J, Fernando Diego, & Basso W. (2005). *Parasitología práctica y modelos de enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. Universidad Nacional de la Plata: 1 edición.
- Vivanco. (2005). Muestreo de poblaciones finitas. In *muestreo estadístico, diseño y aplicaciones*.
- Vogel, F., Arenhart, S., & Bauermann, F. (2006). Anticuerpos anti-*Neospora caninum* en bovinos, ovinos y búfalos en el estado de Río Grande do Sul. *Ciencia Rural*, 36(6), 1948-1951. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000600048>
- Williams, D., Guy, C., McGarry, J., Guy, F., Tasker, L., Smith, R., MacEachern, K., Cripps, P., Kelly, D., & Trees, A. (2000). *Neospora caninum* -aborto asociado en bovinos: El momento de la parasitemia inducida experimentalmente durante la gestación determina la supervivencia fetal. *Parasitol*, 121, 347-358. doi. 10.1017/s0031182099006587
- Williams, D., Hartley, C., Björkman, C., & Trees, A. (2009). Endógeno y transmisión transplacentaria exógena de *Neospora caninum*– cómo la ruta de transmisión

impacta en la epidemiología y el control de enfermedad. *Parasitología*, 136(14), 1895-1900. doi. 10.1017/S0031182009990588

Wouda, W., Moen, A., & Schukken, Y. (1998). Riesgo de aborto en la descendencia de vacas después de una Epidemia de *Neospora caninum*. *Teriogenología*, 49(7), 1311-1316. DOI: 10.1016/S0093-691X(98)00078-8

# **ANEXOS**

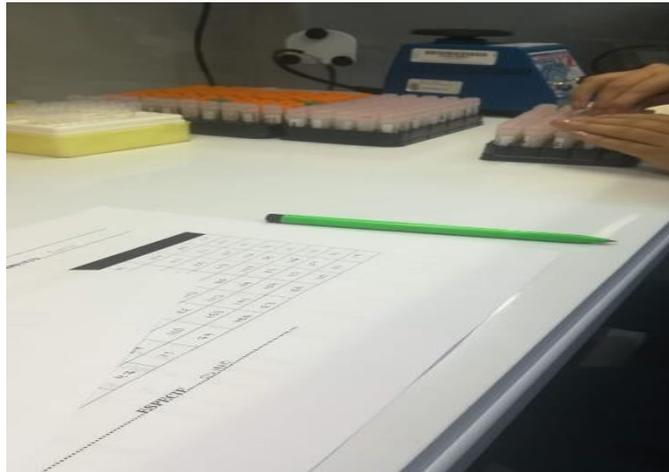
**Anexo 1:** Esterilización de la cabina de flujo laminar y los materiales.



**Anexo 2:** Llevar los reactivos a una temperatura de 25 °C; descongelar las muestras y homogenizar usando el Vortex.



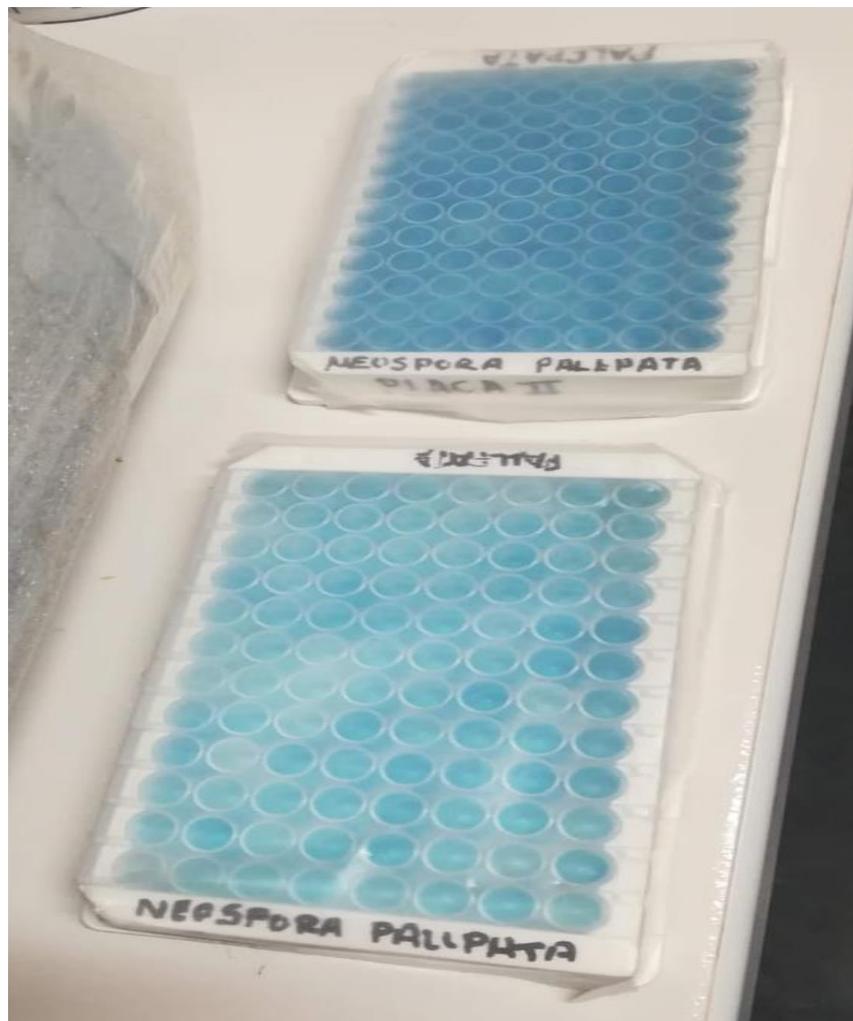
**Anexo 3:** Asignación de las muestras en la plantilla ELISA.



**Anexo 4:** Solución de lavado preparado antes de iniciar el ensayo ELISA.



**Anexo 5:** Coloración que toman los pocillos de la microplaca ELISA después de la adición de la solución de parada.



**Anexo 6:** Cálculos para determinar el tamaño de muestra.

$$n = \frac{N * Z^2 p * q}{(N - 1) * E^2 + Z^2 (p * q)}$$

Donde:

N: Tamaño de la población.

Z: 1.81 nivel de confianza que se da a la muestra.

p: Variabilidad 0.5 que tiene la enfermedad.

q: Variabilidad 0.5 que no tiene la enfermedad

E: Precisión o error experimental 0.07% al 93%.

n: Tamaño de muestra.

$$n = \frac{40.313 \times (1.81)^2 (0.5 \times 0.5)}{(40.313 - 1)(0.07)^2 + (1.81)^2 (0.5 \times 0.5)}$$

$$n = \frac{33.017.35}{198.35}$$

$$n = 166.46$$

$$n = 167$$

**Anexo 7:** Cálculos para determinar la seroprevalencia general de Neosporosis en ovinos.

$$P = \frac{5}{167} \times 100$$

$$P = 2.99 \%$$

Entonces:

$$p \pm z \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{\frac{2.99 \times 97.01}{167}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{\frac{0.0299 \times 0.9701}{167}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{0.000174}$$

$$IC \pm 1.81 \times 0.01319$$

$$IC \pm 0.0238$$

$$2.99 \pm 0.02\%$$

**Anexo 8:** Cálculos para determinar la seroprevalencia de la Neosporosis en ovinos de dos dientes (2D).

$$P = \frac{2}{44} \times 100$$

$$P = 4.55 \%$$

Entonces:

$$p \pm z \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{\frac{4.55 \times 95.45}{44}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{\frac{0.0455 \times 0.9545}{44}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{0.00098}$$

$$IC \pm 1.81 \times 0.01319$$

$$IC \pm 0.056$$

$$4.55 \pm 0.06\%$$

**Anexo 9:** Cálculos para determinar la seroprevalencia de Neosporosis en ovinos de cuatro dientes (4D).

$$P = \frac{3}{39} \times 100$$

$$P = 7.69\%$$

Entonces:

$$p \pm z \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{\frac{7.69 \times 92.31}{39}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{\frac{0.0769 \times 0.9231}{39}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{0.0018}$$

$$IC \pm 1.81 \times 0.04243$$

$$IC \pm 0.076$$

$$7.69 \pm 0.08\%$$

**Anexo 10:** Cálculos para determinar la seroprevalencia de Neosporosis en ovinos machos.

$$P = \frac{3}{84} \times 100$$

$$P = 3.57\%$$

Entonces:

$$p \pm z \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{\frac{3.57 \times 96.43}{84}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{\frac{0.0357 \times 0.9643}{84}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{0.0004}$$

$$IC \pm 1.81 \times 0.02$$

$$IC \pm 0.0362$$

$$3.57 \pm 0.04\%$$

**Anexo 11:** Cálculos para determinar la seroprevalencia de Neosporosis en ovejas hembras.

$$P = \frac{2}{83} \times 100$$

$$P = 2.41\%$$

Entonces:

$$p \pm z \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{\frac{2.41 \times 97.59}{83}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{\frac{0.0241 \times 0.9759}{83}}$$

$$IC \pm 1.81 \sqrt{0.00028}$$

$$IC \pm 1.81 \times 0.01673$$

$$IC \pm 0.030$$

$$2.41 \pm 0.03\%$$

**Anexo 12:** Densidades ópticas de las muestras evaluadas para anticuerpos contra la *Neospora caninum* en ovinos del distrito de Pallpata, placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.472	0.799	0.921	0.852	0.754	0.501	1.115	0.789	0.573	0.868	0.69	0.74
B	0.442	1.022	0.648	0.951	0.906	0.899	0.889	0.754	0.795	0.635	0.885	1.099
C	0.201	0.885	0.751	0.867	1.069	1.05	0.969	0.809	0.911	0.98	0.831	0.808
D	0.247	0.76	0.88	1.097	1.054	0.772	0.909	0.928	0.742	0.402	0.706	0.683
E	0.9	0.751	1.429	0.904	1.018	0.703	0.818	1.19	0.435	0.88	1.186	1.061
F	0.898	1.034	0.951	0.908	0.785	1.048	0.257	0.844	0.763	0.437	0.739	0.8
G	0.514	1.283	0.85	0.832	1.103	1.136	0.82	0.765	0.864	0.658	0.523	0.925
H	0.651	1.13	0.693	0.989	1.267	0.466	0.909	0.908	0.939	0.843	0.696	1.227

**Anexo 13:** Densidades ópticas de las muestras evaluadas para anticuerpos contra la *Neospora caninum* en ovinos del distrito de Pallpata, placa II.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	0.472	0.426	0.369	0.427	0.744	0.62	0.768	0.576	0.732	0.398
B	0.442	0.457	0.41	0.471	0.668	0.662	0.285	0.622	0.757	0.663
C	0.201	0.518	0.606	0.544	0.929	0.458	0.735	0.526	0.654	0.668
D	0.247	0.448	0.416	0.489	0.502	0.584	0.477	0.398	0.685	0.571
E	0.418	0.382	0.418	0.424	0.586	0.524	0.838	0.704	0.629	0.461
F	0.471	0.433	0.476	0.722	0.54	0.295	0.819	0.389	0.539	0.448
G	0.382	0.537	0.508	0.326	0.465	0.418	0.388	0.675	0.215	0.395
H	0.41	0.208	0.331	0.565	0.366	0.321	0.435	0.459	0.519	

**Anexo 14:** Porcentaje de inhibición para determinar anticuerpos contra la *Neospora caninum* en ovinos del distrito de Pallpata, placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	-3.28	-74.84	-101.53	-86.43	-64.99	-9.63	-143.98	-72.65	-25.38	-89.93	-50.98	-61.93
<b>B</b>	3.28	-123.63	-41.79	-108.10	-98.25	-96.72	-94.53	-64.99	-73.96	-38.95	-93.65	-140.48
<b>C</b>	56.02	-93.65	-64.33	-89.72	-133.92	-129.76	-112.04	-77.02	-99.34	-114.44	-81.84	-76.81
<b>D</b>	45.95	-66.30	-92.56	-140.04	-130.63	-68.93	-98.91	-103.06	-62.36	12.04	-54.49	-49.45
<b>E</b>	-96.94	-64.33	-212.69	-97.81	-122.76	-53.83	-78.99	-160.39	4.81	-92.56	-159.52	-132.17
<b>F</b>	-96.50	-126.26	-108.10	-98.69	-71.77	-129.32	43.76	-84.68	-66.96	4.38	-61.71	-75.05
<b>G</b>	-12.47	-180.74	-86.00	-82.06	-141.36	-148.58	-79.43	-67.40	-89.06	-43.98	-14.44	-102.41
<b>H</b>	-42.45	-147.26	-51.64	-116.41	-177.24	-1.97	-98.91	-98.69	-105.47	-84.46	-52.30	-168.49

**Anexo 15:** Porcentaje de inhibición para determinar anticuerpos contra la *Neospora caninum* en ovinos del distrito de Pallpata, placa II.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	-3.28	6.78	19.26	6.56	-62.80	-35.67	-68.05	-26.04	-60.18	12.91
B	3.28	0.00	10.28	-3.06	-46.17	-44.86	37.64	-36.11	-65.65	-45.08
C	56.02	-13.35	-32.60	-19.04	-103.28	-0.22	-60.83	-15.10	-43.11	-46.17
D	45.95	1.97	8.97	-7.00	-9.85	-27.79	-4.38	12.91	-49.89	-24.95
E	8.53	16.41	8.53	7.22	-28.23	-14.66	-83.37	-54.05	-37.64	-0.88
F	-3.06	5.25	-4.16	-57.99	-18.16	35.45	-79.21	14.88	-17.94	1.97
G	16.41	-17.51	-11.16	28.67	-1.75	8.53	15.10	-47.70	52.95	13.57
H	10.28	54.49	27.57	-23.63	19.91	29.76	4.81	-0.44	-13.57	

**Anexo 16:** Cálculos para determinar la asociación de la variable sexo por el método del Chi Cuadrado con el programa estadístico MINITAB.

	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Todo</b>
Macho	3 2.515	81 81.485	84
Hembra	2 2.485	81 80.515	83

**Prueba de chi-cuadrada**

	<b>Chi-cuadrada</b>	<b>GL</b>	<b>Valor p</b>
Pearson	0.194	1	0.660
Relación de verosimilitud	0.195	1	0.658

*Las 2 celda(s) con conteos esperados menores que 5.*

**Anexo 17:** Cálculos para determinar la asociación de la variable por grupo etario por el método del Chi Cuadrado con el programa estadístico MINITAB.

	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Todo</b>
1 – 1.5 años	2	42	44
	2.651	41.349	
	0.15969	0.01024	
>3 – 3.5 años	3	36	39
	2.349	36.651	
	0.18017	0.01155	
<b>TOTAL</b>	<b>5</b>	<b>78</b>	<b>83</b>

**Prueba de chi-cuadrada**

	<b>Chi-cuadrada</b>	<b>GL</b>	<b>Valor p</b>
Pearson	0.362	1	0.548
Relación de verosimilitud	0.362	1	0.547

*Las 2 celda(s) con conteos esperados menores que 5.*

## Anexo 18: Registro de ovinos para la prueba de Elisa Directa.

N° De Muestra	Sexo	Cat	Edad (Años)	Nombre Del Productor	DNI	Distrito	Sector	Neospora caninum
1	M	BLL	4 a mas	VICTORIA APAZA HUANQQUE	24877129	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
2	M	2D	1.5 a 2.5	ROSMERY AYMA CHAHUARA	44533385	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
3	H	4D	2.5 a 3.5	VICTORIA APAZA HUANQQUE	24877129	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
4	H	BLL	4 a mas	DANIEL PUCHO HUILLCA	24876193	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
5	H	BLL	4 a mas	FRANCISCA AQQUEPUCHO AYMA	24874448	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
6	M	2D	1.5 a 2.5	YULI MARIBEL CARRASCO CHILO	73757908	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
7	M	2D	1.5 a 2.5	FRANCISCA CHAÑI HUILLCAHANCCO	41860247	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
8	M	BLL	4 a mas	YESENIA YUDYTH FLOREZ MAMANI	41933507	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
9	H	4D	2.5 a 3.5	ISIDORA AROSQUIPA CHARCA	24686815	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
10	H	2D	1.5 a 2.5	FRANCISCA CHAÑI HUILLCAHANCCO	41860247	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
11	H	6D	3.5 a 4	LUCIA ACROTA HINCHO	24874727	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
12	M	4D	2.5 a 3.5	YESENIA YUDYTH FLOREZ MAMANI	41933507	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
13	M	4D	2.5 a 3.5	ABEL GABINO CARRASCO VILCA	71039317	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
14	M	6D	3.5 a 4	FRANCISCA AQQUEPUCHO AYMA	24874448	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
15	M	6D	3.5 a 4	AVELINO LLAIQUE CHUCTAYA	24876426	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
16	H	BLL	4 a mas	FREDY TUNQUIPA CHOQUEPUMA	48417633	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
17	H	4D	2.5 a 3.5	CLAUDIA TEODORA HUANQQUE CRUZ	24875894	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
18	M	6D	3.5 a 4	FREDY TUNQUIPA CHOQUEPUMA	48417633	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
19	H	BLL	4 a mas	ABEL GABINO CARRASCO VILCA	71039317	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
20	H	BLL	4 a mas	FREDY TUNQUIPA CHOQUEPUMA	48417633	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
21	M	6D	3.5 a 4	ADDERLY ROY SAICO ACROTA	76047829	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
22	M	BLL	4 a mas	YULI MARIBEL CARRASCO CHILO	73757908	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
23	M	2D	1.5 a 2.5	VICTORIA APAZA HUANQQUE	24877129	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
24	M	6D	3.5 a 4	YESENIA YUDYTH FLOREZ MAMANI	41933507	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
25	H	BLL	4 a mas	LUCIO EMILIO CACERES FLORES	24890077	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
26	M	4D	2.5 a 3.5	ADDERLY ROY SAICO ACROTA	76047829	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
27	H	2D	1.5 a 2.5	ISIDORA AROSQUIPA CHARCA	24686815	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
28	H	BLL	4 a mas	ROSMERY AYMA CHAHUARA	44533385	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
29	H	4D	2.5 a 3.5	FRANCISCA CHAÑI HUILLCAHANCCO	41860247	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
30	M	2D	1.5 a 2.5	ADDERLY ROY SAICO ACROTA	76047829	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
31	M	4D	2.5 a 3.5	AVELINO LLAIQUE CHUCTAYA	24876426	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
32	H	2D	1.5 a 2.5	CLAUDIA TEODORA HUANQQUE CRUZ	24875894	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
33	M	2D	1.5 a 2.5	DIONICIA HUARCA AQQUEPUCHO	24876423	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
34	M	BLL	4 a mas	DANIEL PUCHO HUILLCA	24876193	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
35	M	4D	2.5 a 3.5	DIONICIA HUARCA AQQUEPUCHO	24876423	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
36	M	2D	1.5 a 2.5	LUCIA ACROTA HINCHO	24874727	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
37	M	BLL	4 a mas	ADDERLY ROY SAICO ACROTA	76047829	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
38	H	BLL	4 a mas	BRAULIO COLQUE CAMARGO	2275401	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
39	H	BLL	4 a mas	YESENIA YUDYTH FLOREZ MAMANI	41933507	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
40	H	6D	3.5 a 4	FRANCISCA CHAÑI HUILLCAHANCCO	41860247	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
41	M	4D	2.5 a 3.5	BRAULIO COLQUE CAMARGO	2275401	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO

42	H	BLL	4 a mas	LUCIO EMILIO CACERES FLORES	24890077	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
43	H	BLL	4 a mas	DIONICIA HUARCA AQQUEPUCHO	24876423	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
44	H	4D	2.5 a 3.5	MARCELINA CHAÑI AYMA	24676474	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
45	M	BLL	4 a mas	LUCIO EMILIO CACERES FLORES	24890077	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
46	M	BLL	4 a mas	ROSMERY AYMA CHAHUARA	44533385	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
47	H	2D	1.5 a 2.5	AVELINO LLAIQUE CHUCTAYA	24876426	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
48	H	6D	3.5 a 4	VICTORIA APAZA HUANQQUE	24877129	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
49	M	BLL	4 a mas	FRANCISCA CHAÑI HUILLCAHANCCO	41860247	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
50	M	BLL	4 a mas	MATIAS TRELLES CONDORI	24877267	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
51	H	BLL	4 a mas	LUIS DAVID CHUCHULLO TORRES	42561397	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
52	H	BLL	4 a mas	DANIEL PUCHO HUILLCA	24876193	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
53	M	4D	2.5 a 3.5	FREDY TUNQUIPA CHOQUEPUMA	48417633	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
54	H	BLL	4 a mas	MATIAS TRELLES CONDORI	24877267	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
55	M	2D	1.5 a 2.5	MATIAS TRELLES CONDORI	24877267	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
56	H	BLL	4 a mas	FRANCISCA CHAÑI HUILLCAHANCCO	41860247	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
57	M	6D	3.5 a 4	BRAULIO COLQUE CAMARGO	2275401	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
58	M	2D	1.5 a 2.5	VICTORIA APAZA HUANQQUE	24877129	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
59	H	4D	2.5 a 3.5	ROSMERY AYMA CHAHUARA	44533385	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
60	H	2D	1.5 a 2.5	FRANCISCA AQQUEPUCHO AYMA	24874448	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
61	M	6D	3.5 a 4	MAGDALENA CHAHUARA TUNQUIPA	44226630	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
62	H	BLL	4 a mas	AVELINO LLAIQUE CHUCTAYA	24876426	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
63	M	4D	2.5 a 3.5	BRAULIO COLQUE CAMARGO	2275401	PALLPATA	YAPITUYO	POSITIVO
64	M	6D	3.5 a 4	MAGDALENA CHAHUARA TUNQUIPA	44226630	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
65	H	2D	1.5 a 2.5	LUIS DAVID CHUCHULLO TORRES	42561397	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
66	H	4D	2.5 a 3.5	MAGDALENA CHAHUARA TUNQUIPA	44226630	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
67	H	2D	1.5 a 2.5	DANIEL PUCHO HUILLCA	24876193	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
68	H	2D	1.5 a 2.5	CLAUDIA TEODORA HUANQQUE CRUZ	24875894	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
69	M	4D	2.5 a 3.5	DIONICIA HUARCA AQQUEPUCHO	24876423	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
70	H	4D	2.5 a 3.5	MARCELINA CHAÑI AYMA	24676474	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
71	M	2D	1.5 a 2.5	MARCELINA CHAÑI AYMA	24676474	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
72	M	4D	2.5 a 3.5	FRANCISCA AQQUEPUCHO AYMA	24874448	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
73	M	BLL	4 a mas	DIONICIA HUARCA AQQUEPUCHO	24876423	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
74	M	BLL	4 a mas	MAGDALENA CHAHUARA TUNQUIPA	44226630	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
75	M	BLL	4 a mas	AVELINO LLAIQUE CHUCTAYA	24876426	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
76	M	2D	1.5 a 2.5	YESENIA YUDYTH FLOREZ MAMANI	41933507	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
77	H	4D	2.5 a 3.5	FRANCISCA AQQUEPUCHO AYMA	24874448	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
78	M	4D	2.5 a 3.5	ABEL GABINO CARRASCO VILCA	71039317	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
79	H	2D	1.5 a 2.5	YULI MARIBEL CARRASCO CHILO	73757908	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
80	M	BLL	4 a mas	YESENIA YUDYTH FLOREZ MAMANI	41933507	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
81	H	2D	1.5 a 2.5	DANIEL PUCHO HUILLCA	24876193	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
82	M	4D	2.5 a 3.5	ADDERLY ROY SAICO ACROTA	76047829	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
83	M	2D	1.5 a 2.5	DIONICIA HUARCA AQQUEPUCHO	24876423	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
84	M	BLL	4 a mas	AVELINO LLAIQUE CHUCTAYA	24876426	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
85	H	4D	2.5 a 3.5	BRAULIO COLQUE CAMARGO	2275401	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
86	M	BLL	4 a mas	FREDY TUNQUIPA CHOQUEPUMA	48417633	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
87	H	6D	3.5 a 4	YULI MARIBEL CARRASCO CHILO	73757908	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
88	H	2D	1.5 a 2.5	MARCELINA CHAÑI AYMA	24676474	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO

89	H	2D	1.5 a 2.5	FREDY TUNQUIPA CHOQUEPUMA	48417633	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
90	H	2D	1.5 a 2.5	ISIDORA AROSQUIPA CHARCA	24686815	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
91	M	6D	3.5 a 4	ROSMERY AYMA CHAHUARA	44533385	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
92	H	6D	3.5 a 4	LUCIO EMILIO CACERES FLORES	24890077	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
93	H	4D	2.5 a 3.5	MARCELINA CHAÑI AYMA	24676474	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
94	M	4D	2.5 a 3.5	ISIDORA AROSQUIPA CHARCA	24686815	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
95	M	6D	3.5 a 4	ABEL GABINO CARRASCO VILCA	71039317	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
96	M	4D	2.5 a 3.5	AVELINO LLAIQUE CHUCTAYA	24876426	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
97	M	BLL	4 a mas	DIONICIA HUARCA AQQUEPUCHO	24876423	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
98	M	2D	1.5 a 2.5	ISIDORA AROSQUIPA CHARCA	24686815	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
99	M	BLL	4 a mas	FRANCISCA AQQUEPUCHO AYMA	24874448	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
100	M	BLL	4 a mas	LUCIA ACROTA HINCHO	24874727	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
101	H	4D	2.5 a 3.5	AVELINO LLAIQUE CHUCTAYA	24876426	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
102	H	4D	2.5 a 3.5	MAGDALENA CHAHUARA TUNQUIPA	44226630	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
103	H	2D	1.5 a 2.5	CLAUDIA TEODORA HUANQQUE CRUZ	24875894	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
104	M	4D	2.5 a 3.5	CLAUDIA TEODORA HUANQQUE CRUZ	24875894	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
105	H	BLL	4 a mas	BRAULIO COLQUE CAMARGO	2275401	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
106	H	BLL	4 a mas	ISIDORA AROSQUIPA CHARCA	24686815	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
107	H	2D	1.5 a 2.5	ROSMERY AYMA CHAHUARA	44533385	PALLPATA	ESPERANZA	POSITIVO
108	M	BLL	4 a mas	VICTORIA APAZA HUANQQUE	24877129	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
109	H	BLL	4 a mas	ROSMERY AYMA CHAHUARA	44533385	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
110	M	4D	2.5 a 3.5	YESENIA YUDYTH FLOREZ MAMANI	41933507	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
111	H	BLL	4 a mas	MATIAS TRELLES CONDORI	24877267	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
112	H	2D	1.5 a 2.5	ISIDORA AROSQUIPA CHARCA	24686815	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
113	M	BLL	4 a mas	YESENIA YUDYTH FLOREZ MAMANI	41933507	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
114	M	6D	3.5 a 4	LUIS DAVID CHUCHULLO TORRES	42561397	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
115	H	6D	3.5 a 4	MAGDALENA CHAHUARA TUNQUIPA	44226630	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
116	H	2D	1.5 a 2.5	LUCIA ACROTA HINCHO	24874727	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
117	H	2D	1.5 a 2.5	ABEL GABINO CARRASCO VILCA	71039317	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
118	H	BLL	4 a mas	MATIAS TRELLES CONDORI	24877267	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
119	M	2D	1.5 a 2.5	MARCELINA CHAÑI AYMA	24676474	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
120	M	2D	1.5 a 2.5	YULI MARIBEL CARRASCO CHILO	73757908	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
121	H	2D	1.5 a 2.5	LUCIO EMILIO CACERES FLORES	24890077	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
122	M	BLL	4 a mas	LUCIO EMILIO CACERES FLORES	24890077	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
123	H	BLL	4 a mas	BRAULIO COLQUE CAMARGO	2275401	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
124	H	BLL	4 a mas	MAGDALENA CHAHUARA TUNQUIPA	44226630	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
125	M	6D	3.5 a 4	FRANCISCA CHAÑI HUILLCAHANCCO	41860247	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
126	H	BLL	4 a mas	FREDY TUNQUIPA CHOQUEPUMA	48417633	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
127	H	2D	1.5 a 2.5	LUIS DAVID CHUCHULLO TORRES	42561397	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
128	H	2D	1.5 a 2.5	LUCIA ACROTA HINCHO	24874727	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
129	H	6D	3.5 a 4	ROSMERY AYMA CHAHUARA	44533385	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
130	M	BLL	4 a mas	MATIAS TRELLES CONDORI	24877267	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
131	M	BLL	4 a mas	MATIAS TRELLES CONDORI	24877267	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
132	H	BLL	4 a mas	BRAULIO COLQUE CAMARGO	2275401	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
133	H	4D	2.5 a 3.5	LUIS DAVID CHUCHULLO TORRES	42561397	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
134	M	2D	1.5 a 2.5	FRANCISCA CHAÑI HUILLCAHANCCO	41860247	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
135	M	BLL	4 a mas	ABEL GABINO CARRASCO VILCA	71039317	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO

136	M	BLL	4 a mas	LUCIO EMILIO CACERES FLORES	24890077	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
137	M	4D	2.5 a 3.5	ABEL GABINO CARRASCO VILCA	71039317	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
138	H	4D	2.5 a 3.5	MARCELINA CHAÑI AYMA	24676474	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
139	H	4D	2.5 a 3.5	DANIEL PUCHO HUILLCA	24876193	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
140	H	4D	2.5 a 3.5	YULI MARIBEL CARRASCO CHILO	73757908	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
141	H	BLL	4 a mas	YULI MARIBEL CARRASCO CHILO	73757908	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
142	H	4D	2.5 a 3.5	LUIS DAVID CHUCHULLO TORRES	42561397	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
143	M	BLL	4 a mas	LUIS DAVID CHUCHULLO TORRES	42561397	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
144	H	2D	1.5 a 2.5	LUIS DAVID CHUCHULLO TORRES	42561397	PALLPATA	YAPITUYO	POSITIVO
145	M	6D	3.5 a 4	CLAUDIA TEODORA HUANQQUE CRUZ	24875894	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
146	H	BLL	4 a mas	MAGDALENA CHAHUARA TUNQUIPA	44226630	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
147	H	2D	1.5 a 2.5	VICTORIA APAZA HUANQQUE	24877129	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
148	M	2D	1.5 a 2.5	DIONICIA HUARCA AQQUEPUCHO	24876423	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
149	H	2D	1.5 a 2.5	LUCIA ACROTA HINCHO	24874727	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
150	H	4D	2.5 a 3.5	MARCELINA CHAÑI AYMA	24676474	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
151	M	BLL	4 a mas	DANIEL PUCHO HUILLCA	24876193	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
152	M	2D	1.5 a 2.5	YULI MARIBEL CARRASCO CHILO	73757908	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
153	M	BLL	4 a mas	FRANCISCA AQQUEPUCHO AYMA	24874448	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
154	H	6D	3.5 a 4	LUCIO EMILIO CACERES FLORES	24890077	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
155	H	6D	3.5 a 4	LUCIA ACROTA HINCHO	24874727	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
156	M	2D	1.5 a 2.5	LUCIA ACROTA HINCHO	24874727	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
157	M	4D	2.5 a 3.5	CLAUDIA TEODORA HUANQQUE CRUZ	24875894	PALLPATA	ESPERANZA	POSITIVO
158	M	BLL	4 a mas	ADDERLY ROY SAICO ACROTA	76047829	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
159	H	BLL	4 a mas	CLAUDIA TEODORA HUANQQUE CRUZ	24875894	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
160	M	4D	2.5 a 3.5	ADDERLY ROY SAICO ACROTA	76047829	PALLPATA	ESPERANZA	POSITIVO
161	H	BLL	4 a mas	ADDERLY ROY SAICO ACROTA	76047829	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
162	M	4D	2.5 a 3.5	FREDY TUNQUIPA CHOQUEPUMA	48417633	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
163	M	6D	3.5 a 4	ISIDORA AROSQUIPA CHARCA	24686815	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
164	H	6D	3.5 a 4	FRANCISCA AQQUEPUCHO AYMA	24874448	PALLPATA	ESPERANZA	NEGATIVO
165	M	BLL	4 a mas	MATIAS TRELLES CONDORI	24877267	PALLPATA	KAYRAHUIRI	NEGATIVO
166	M	BLL	4 a mas	ABEL GABINO CARRASCO VILCA	71039317	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO
167	H	2D	1.5 a 2.5	DANIEL PUCHO HUILLCA	24876193	PALLPATA	YAPITUYO	NEGATIVO