

# UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*



**“Seroprevalencia de *Neospora caninum* en llamas del distrito de Huancavelica, Lachocc, Huancavelica”**

Tesis para optar el Título Profesional de:  
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Marelsy Pilco Pinedo**

**Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**LIMA - PERÚ**

**2017**

## AGRADECIMIENTOS

- A Dios por la vida y permitirme estudiar esta carrera. A mi familia por el apoyo incondicional durante los años de estudio.
- A FONDECYT por el apoyo financiero brindado al proyecto “Obtención y caracterización del primer aislado de *Neospora caninum* causante de abortos en camélidos sudamericanos del Perú, con finalidad inmunodiagnóstica y vacunal” (convenio de gestión N° 220-2015 FONDECYT-DE)
- Al Dr. Enrique Serrano Martínez, a la Dra. Luisa Echevarría Cureé y al Dr. Carlos Shiva Ramayoni por la asesoría y guía en la ejecución del estudio.

## ABSTRACT

Neosporosis is a parasitic illness, caused by *Neospora caninum*, a protozoan responsible of reproductive problems in ruminants such as repeated abortions, mummified fetuses, stillbirths, birth of weak animals and neurological disorders. It also affects other intermediate hosts such as South American camelids (CSA - Camélidos Sudamericanos), which constitute part of the economic resources for the small producers. Therefore, the aim of the present study was to determinate, using the IFAT technique, the percentage of llamas, of the Association of Livestock of Lachocc from Huancavelica, that has antibodies against *N. caninum*. Blood was sampled by venipuncture of the jugular vein from 98 adult llamas, older than one year old. The serum samples were analyzed by IFAT using a 1: 100 cut-off point and positive serum were titrated with serial dilutions, so a seroprevalence of 12.2% (12/98) was determined. From the 12 positive sera, a 75.0% (9) presented titles of 1: 100; a 16.7% (2) with 1: 200 and a 8.3% (1) with 1: 400, likewise no significant statistical association was found between the variables of age, history of abortions and numbers of deliveries with the presentation of seroreactors against this parasite . It is suggested to continue investigating the seroprevalence of *N. caninum* in CSA.

**Key Words:** Neosporosis, South American camelids, Immunofluorescence, Reproductive problems.

## RESUMEN

La neosporosis es una enfermedad parasitaria, causada por un protozooario *Neospora caninum*, el cual es responsable de problemas reproductivos en rumiantes como los abortos, mortalidad neonatal, mortinatos, nacimiento de animales débiles y desórdenes neurológicos. Además, afecta a otros hospederos intermediarios como son los camélidos sudamericanos (CSA), quienes constituyen parte de los recursos económicos de pequeños productores en el Perú. El objetivo del presente estudio fue determinar, mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFAT), el porcentaje de llamas de la comunidad ganadera de Lachocc- Huancavelica, que presenten anticuerpos frente a *N. caninum*. Se muestreó sangre de 98 llamas hembras adultas, mayores de un año, mediante punción de la vena yugular. Los sueros recolectados se analizaron mediante IFAT empleando un punto de corte 1:100 y los sueros positivos fueron titulados con diluciones seriadas, determinándose una seroprevalencia de 12.2% (12/98). De los 12 sueros positivos el 75.0% (9) presentaron títulos de 1:100; el 16.7 % (2) con 1:200 y el 8.3 % (1) con 1:400, asimismo no se encontró asociación estadística significativa entre las variables edad, antecedentes de abortos y número de partos con la presentación de seroreactores frente a este parásito. Se sugiere continuar investigando la seroprevalencia de *N. caninum* en CSA.

**Palabras clave:** Neosporosis, Camélidos sudamericanos, Inmunofluorescencia, Problemas reproductivos.

## INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos (CSA) forman parte de la región andina, cuya fuente de fibra y carne han beneficiado para la subsistencia de este sector (FAO, 1996; Mengoni, 2008). La llama (*Lama glama*) es el CSA más grande (Rossanigo *et al.*, 1997) cuyo peso adulto corresponde de 100 a 120 kilos, está adaptado a diferentes condiciones ambientales beneficiando a la población andina con el aporte alimenticio mediante la carne y como animal de carga o transporte (FAO, 2005; Novoa, 2007). Las enfermedades en CSA se presentan por diversos cambios en la conformación de un órgano o tejido (Martín *et al.*, 2010), tales como las enfermedades por agentes infecciosos y parasitarios (Ortiz, 1988; Ameghino y DeMartini, 1991) incrementándose con el inicio de lluvias el cual corresponde a los meses de diciembre a marzo (Llanos *et al.*, 2012). Al igual que otros animales las llamas están expuestas a un número elevado de bacterias, virus, hongos, parásitos y el riesgo aumenta con las prácticas deficientes de manejo (FAO. 1996).

*Neospora caninum* es un parásito intracelular del género Apicomplexa, familia *Sarcocystidae* (Radostits *et al.*, 1999), responsable de la neosporosi. Este parásito comprende tres estadios como son: Taquizoitos, bradizoitos y el ooquiste y hasta el año 1984 se diagnosticaba como *Toxoplasma gondii* (Dubey *et al.*, 2002). La *N. caninum* es cosmopolita y ha sido reportado en bovinos, ovejas, perros, ciervos de cola blanca, búfalos de agua (Dubey & Lindsay, 1996; Dubey *et al.*, 2007) y camélidos (Chávez *et al.*, 2002; Wolf *et al.*, 2005) como hospederos intermediarios. En el ganado bovino, la neosporosis ocasiona pérdidas económicas por los abortos repetidos y mortalidad neonatal (Dubey 1992; Radostits *et al.*, 1999). El perro, el coyote y el dingo son los hospederos definitivos de *N. caninum*, se infectan al ingerir tejidos quísticos con bradizoitos de los hospederos intermediarios. A nivel intestinal se desarrolla la fase sexual del parásito para luego ser

eliminado con las heces al ambiente en forma de ooquistes (Dubey *et al.*, 2007), después de 24 horas esporulan tornándose infectivos (Lindsay *et al.*, 1999) contaminando el agua y los pastos. Los herbívoros, al ingerir el alimento contaminado, desarrollan la fase asexual del parásito, el cual corresponde a los taquizoitos, estos invaden diferentes órganos causando lesiones, así como su transmisión al feto en hembras gestantes y posterior formación de quistes tisulares (bradizoitos) en el sistema nervioso central, médula y músculos cerrando el ciclo con la ingestión de las vísceras por los cánidos (Dubey, 2003; Dubey *et al.*, 2007).

En el 2004 Serrano-Martinez *et al.* confirmaron la presencia de *N.caninum* en fetos de alpacas y llamas aislando los tejidos cerebrales mediante la técnica de PCR 28% (14/50) e inmunohistoquímica (IHC) 26% (13/50). Las técnicas serológicas de diagnóstico para la detección de anticuerpos de este parásito son la Inmunofluorescencia Indirecta (IFAT), Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) y la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) como diagnóstico molecular Dubey (2003). La prevalencia de la neosporosis en bovinos se ha reportado en varios países: en Brasil fue de 14.09% (Gondim *et al.*, 1999), Taiwan 44.9% (Ooi *et al.*, 2000), Argentina 9.9% (More *et al.*, 2008) Uruguay 61.3% (Dubey *et al.*, 2007); todos detectados mediante la prueba de IFAT. En cuanto a la prevalencia en camélidos Chávez *et al.* (2002), investigando en la sierra central del país mediante la misma técnica, reportó una seroprevalencia de 42.4% en alpacas y 18.4% en llamas, y en el 2006, Casas *et al.* evaluando llamas de la empresa Sociedad Agraria de Interés Social (SAIS) – Junín, encontró una seroprevalencia reducida ( $2.9 \pm 2.5\%$ ). Actualmente las llamas desempeñan un rol importante en la economía y alimentación de los pobladores de Huancavelica, pero se ven afectados por los constantes problemas reproductivos desconociendo el verdadero estatus de la problemática. Es por ello que el objetivo del estudio fue determinar el porcentaje de llamas con anticuerpos frente a *Neospora caninum* mediante la técnica de Inmunofluorescencia indirecta de la comunidad ganadera de Lachocc, Huancavelica.

# MATERIALES Y MÉTODOS

## 1. Lugar de Estudio

El estudio se llevó a cabo en la Comunidad Ganadera de Lachocc, localizado en el Distrito de Huancavelica, Departamento de Huancavelica a una altitud de 4450 msnm, posee una temperatura anual promedio de 10.3°C (SENAMHI, 2016). Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Parasitología Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

## 2. Tamaño de muestra

El tamaño de la muestra fue determinado mediante el empleo de la fórmula proporciones en poblaciones finitas (Morillas, 2007) obteniendo como tamaño mínimo de muestra 44 llamas hembras, considerando un tamaño de población de 4,261 (INEI, 2012) animales, un nivel de confianza de 95%, una proporción anterior de 2.9% (Casas *et al.*, 2006) y una precisión de 0,05, considerando únicamente llamas hembras,  $\geq$  de 1 año, excluyendo crías menores de 1 año, del Distrito de Huancavelica, comunidad de Lachocc.

## **Colección de muestras**

La colección se realizó en los meses de agosto a noviembre en coordinación con los ganaderos de la estancia de la comunidad de Lachocc. Mediante la sujeción de la llama se recolectó muestras sanguíneas por punción directa de la vena yugular utilizando una aguja 21x1", la sangre fue depositado en tubos vacutainers estériles y posteriormente fueron centrifugados a 3000 rpm por tres minutos para obtener las muestras de suero. Los sueros fueron conservados en viales, los cuales estuvieron en congelación hasta su procesamiento en el Laboratorio de Parasitología Animal de la UPCH.

Paralelamente se levantó información situacional y epidemiológica de los animales muestreados considerando los antecedentes de abortos, edad, número de partos, mortinatos en las pariciones anteriores, la cual fueron registradas en una base de datos especialmente diseñada para los fines del proyecto (Anexo 1).

Todas las muestras se colectaron con previa aprobación del Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH).

### **3. Procesamiento de muestras**

Se procedió a evaluar los sueros mediante la técnica de IFAT por ser una prueba idónea para la detección de rebaños infectados (Dubey *et al.*, 2007) no observando reacciones cruzadas con otros protozoos del Phylum Apicomplexa (Dubey y Lindsay, 1996). Se consideró animales positivos con un título de anticuerpos anti *Neospora* igual o mayor a 1:100; los sueros positivos fueron titulados, realizando diluciones seriadas hasta alcanzar una dilución negativa.

#### **4.1. Técnica de IFAT**

##### **1. Detección de anticuerpos.**



Se determinó mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFAT) con una dilución de 1:100 (Chávez-Velásquez *et al.*, 2004). Mediante el siguiente protocolo:

- Se diluyó el suero problema en 1:100 con PBS 1x. Adicionando 10 µL de dilución en cada pocillo de la lámina de IFAT que portan los taquizoítos de *N.caninum* fijados de la cepa SPAIN 7.
- En los dos primeros pocillos de cada lámina, se colocaron los sueros control positivo y negativo anti-*Neospora caninum*.
- Se incubó en la estufa a 37°C por 30 minutos y en cámara húmeda.
- Se procedió al lavado de la lámina con PBS 1x, con agitación leve, dos veces y 10 minutos cada una.
- Se adicionó 10 µL de conjugado anti llama Ig G FITC (Lab VMRD) en cada pozo y protegiéndolo de la luz.
- Se Incubó en la estufa a 37°C por 30 minutos y en cámara húmeda.
- Se continuó con el lavado de la lámina con PBS 1x, con agitación leve, dos veces y 10 minutos cada una.
- Se procedió al secado de la lámina.
- Se adicionó el fluido de montaje (glicerina tamponada) en cada pozo y cubriéndola luego con una laminilla cubreobjetos.

### **3.2. Titulación de muestras positivas**

Una vez identificadas las muestras positivas, se procedió a realizar su titulación, para lo cual se usaron láminas con el antígeno y se realizaron las siguientes diluciones en los sueros positivos a 1/100: 1/200: 1/400; 1/800; 1/1600; 1/3200, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente para la técnica de IFAT. Se determinó el suero positivo, a la fluorescencia completa del taquizoito; o el suero negativo, a la fluorescencia parcial o nula del taquizoito.

#### **4. Análisis estadístico**

Los resultados de frecuencias fueron expresados en forma porcentual con un nivel de confianza de 95% (Thrusfield, 1990) y sus respectivos intervalos de confianza. Las variables edad, antecedentes de abortos, procedencia y la presencia de anticuerpos específicos fueron analizadas por el método de Chi Cuadrado para observar su posible asociación con las infecciones parasitarias

## RESULTADOS

La seroprevalencia de anticuerpos frente a *N. caninum* en llamas del distrito de Huancavelica, Lachocc – Huancavelica mediante el análisis de la técnica IFAT, fue de 12.2% (12/98) ± 6,5% (12/98).

Los resultados encontrados, de acuerdo al grupo etéreo, se encuentran resumidos en la Tabla 1, siendo el mayor porcentaje positivas de 18.7% (6/32) en llamas mayores de 6 años y el menor con 4.8% (1/21) en llamas cuyas edades comprendían de 2 a 4 años, no encontrándose diferencia estadística significativa.

En lo referente a la presencia a anticuerpos frente a *N. caninum* en animales con o sin antecedentes de aborto (Tabla 2), se observó que el 46.7% (7/15) de animales con antecedentes de aborto, fue seropositivo, frente a 5.1% (4/69) sin antecedentes de aborto, no encontrándose diferencia estadística significativa entre los porcentajes.

En la tabla 3, la seroprevalencia a *N. caninum* en llamas del distrito de Huancavelica, Lachocc - Huancavelica, según la variable número de partos, se observa que las llamas multíparas y primíparas presentaron mayor frecuencia con 13.1% (8/61) y 13.0% (3/23) respectivamente, con

respecto a las nulíparas con menor porcentaje con 7.1% (1/14), no encontrándose diferencia estadística significativa entre los porcentajes.

De los títulos de anticuerpo frente a *N. caninum* obtenidos de las 12 muestras positivas, el 75.0% (9) presentaron títulos de 1:100; el 16.7 % (2) con 1:200 y el 8.3 % (1) con 1:400, no encontrando seropositividad en diluciones igual o superiores a 1/800.

Tabla 1.- Seroprevalencia de *N. caninum* en llamas según grupo etáreo, del distrito de Huancavelica Lachocc, Huancavelica mediante IFAT.

Grupo etáreo	Animales	IFAT Positivos	
	Muestreados (n)	(+)	%
1-2 años	14	1	7.1
> 2-4 años	21	1	4.8
> 4-6 años	31	4	12.9
> 6 años	32	6	18.7
<b>Total</b>	<b>98</b>	<b>12</b>	<b>12.2 ± 6.5</b>

Tabla 2.- Seroprevalencia de *N. caninum* en llamas del distrito de Huancavelica Lachocc, Huancavelica mediante IFAT, según la variable antecedente de aborto.

Antecedentes de aborto	N° de animales	IFAT Positivos	
		(+)	%
Con antecedentes	15	7	46.7
Sin antecedentes	69	4	5.1
<b>Total</b>	<b>84</b>	<b>11</b>	<b>13.1 ± 7.2</b>

Tabla 3.- Seroprevalencia de *N. caninum* en llamas del distrito de Huancavelica Lachocc, Huancavelica mediante la técnica IFAT, según la variable número de partos.

N° de partos	N° de animales (n)	IFAT Positivos	
		(+)	%
Sin partos	14	1	7.1
Primíparas	23	3	13.0
Múltiparas	61	8	13.1
<b>Total</b>	<b>98</b>	<b>12</b>	<b>12.2 ± 6.5</b>

## DISCUSIÓN

El estudio se desarrolló en el distrito de Huancavelica Lachocc, donde las comunidades realizan la crianza y comercialización de CSA. La seroprevalencia de *N. caninum* en llamas fue de  $12.24 \pm 6.5\%$  evaluado mediante la técnica IFAT.

La seroprevalencia de la neosporosis en llamas ha sido reportada en otros estudios, en el 2003, Moya *et al.* determinaron la presencia de *N. caninum* en llamas, en dos centros de crianza de la provincia de Melgar Puno, a través de IFAT, en una dilución de 1:50 encontró una seroprevalencia moderada [ $16.7 (46/275) \pm 4.4\%$ ]. En el 2006, Casas *et al.* muestreando sangre de llamas de la empresa SAIS Pachacútec, evaluada mediante la técnica IFAT en una dilución de 1:100, encontró una seroprevalencia de  $2.9 (5/175) \pm 2.5\%$  mientras que en el 2014 Chávez *et al.* muestreando 1,845 llamas de la sierra central del Perú, cuyas muestras fueron procesadas con la misma técnica de Casas, encontró una prevalencia del 8.3% (153/1845). Si bien, la investigación de Casas y Chávez fueron realizadas en diferentes zonas y con diferentes CSA de la región andina, cabe resaltar que en ambos estudios se emplearon la técnica de IFAT y con el mismo punto de corte, no obstante se puede deducir que en el 2006 los factores de riesgo para la transmisión de *N. caninum* o la viabilidad de la coccidia eran reducidos, pero en el 2014 con el transcurrir del tiempo, sumado al cambio climático y el aumento de los factores de riesgo se puede haber favorecido el brote de la neosporosis dando como resultado una seroprevalencia moderada.

En nuestro país la crianza de los camélidos se caracteriza por ser de tipo extensivo y la cercanía con los hospederos definitivos como son, los caninos domésticos, al igual que su coexistencia con los hospederos intermediarios (bovinos, ovinos, equinos) favorece al desarrollo del ciclo de vida de *N. caninum* (Dubey 2010); similar situación se observó en bovinos de crianza extensiva o mixta estudiados por Puray *et al.* (2006) en el departamento de Junín mediante la técnica de IFAT, donde reportó una seroprevalencia moderada de  $12 \pm 3.5\%$ . No obstante, la mayor ruta involucrada en la transmisión de la neosporosis es la transmisión vertical (Davisona *et al.*, 1999), y el riesgo de la neosporosis aumenta con la edad (Jensen *et al.*, 1999), ya que a mayor edad el riesgo es mayor para la exposición con el protozooario (Quevedo *et al.* 2003). En tanto de los animales muestreados en este estudio la mayor casuística de neosporosis se ha demostrado en las llamas más longevas de la comunidad de Lachocc, Cabe mencionar que la provincia de Huancavelica posee variedad de microclimas por las características geográficas de la zona, con predominio del clima seco, que se presenta de mayo a octubre, y la temporada de lluvia que se inicia en el mes de noviembre y finaliza en abril (DGP, 2016). Esta última etapa coincide con la parición y empadre; la intensidad de las lluvias y el manejo inadecuado puede conllevar al estrés del animal repercutiendo en la respuesta del sistema inmune (Tizard, 1995) con la presentación de la neosporosis. Así mismo, Quiroz *et al.*, (2011) menciona que la temperatura fría y húmeda condiciona para la esporulación y sobrevivencia de los ooquistes, incrementando el riesgo de la infección postnatal, esta condición climática se presenta en bovinos de crianza intensiva, donde los alimentos se contaminan con el crecimiento de hongos dando como resultado la producción de micotoxinas que al ser ingeridas pueden ocasionar la inmunosupresión y de esta manera contribuir con la reactivación de los parásitos latentes que infectaron al animal en alguna etapa de su vida Bartels *et al.* (1999). En un estudio realizado en dos granjas comerciales de vacas lecheras de alta producción ubicadas en la franja Lleida- Huesca, España reporta que la incidencia de abortos en vacas se incrementa con la lluvia, pero sin efecto en las novillas concluyendo que esta últimas no están sometidos al estrés

metabólico con la producción de leche por lo que pueden tolerar el estrés ambiental mejor que las vacas gestantes y en ordeño. En el 2012 Santos *et al.* estimando la transmisión vertical en bovinos lecheros de raza Friesian-Holstein y Fesian Holstein x cebú, en un sistema de producción semi-intensiva (Minas Gerais, Brasil) reportó una seroprevalencia moderada de 39.4% (93/236) de animales con anticuerpos positivos cabe mencionar que Minas Gerais posee un clima tropical seco en invierno y húmedo en verano.

En el 2014, Pinedo *et al.* evaluando a las vicuñas capturadas en un “Chaku” procedentes del distrito de Paccha, departamento de Junín, no encontraron la presencia de anticuerpos anti-*N.caninum*, dichas muestras fueron procesados mediante la técnica de IFAT en una dilución de 1:50, ellos concluyeron que en la zona sólo observaron la presencia de zorros cercanos a las vicuñas, y hasta el momento no se ha demostrado a este cánido como posible hospedero de *N. caninum* a diferencia del perro, actúan como los hospederos definitivos del parásito. En lo que respecta a las llamas del distrito de Lachocc – Huancavelica, sí se ha observado la cercanía con los caninos domésticos (en promedio dos perros en el centro de producción), y a su vez los productores lo alimentan con comida casera y restos de vísceras de los animales; estos costumbres ejercidos por los propios dueños propician a la diseminación de la coccidia.

En lo referente a la presencia a anticuerpos frente a *N. caninum* en las llamas con o sin antecedentes de aborto (Tabla 2), se observó que 46.7% (7/15) de animales con antecedentes de aborto, fueron seropositivos, frente a 5.8% (4/69) sin antecedentes de aborto, en estos resultados no se incluyeron a las 14 llamas (tuis), debido que no están aptos reproductivamente, no encontrándose diferencias estadísticas significativas entre los porcentajes. Las llamas en etapa reproductiva fueron seropositivos a *N. caninum* el 46.7% (7/15) tenían antecedente de aborto y la mayoría de éstos eran adultos, al respecto Valencia *et al.* (2009) señala que los camélidos seropositivas a *N. caninum* presentan 3.3 veces mayor riesgo de aborto que las seronegativas.



Del total de animales muestreados (98), 84 de ellos tuvieron más de dos años, a partir de esa edad el número de partos es directamente proporcional a la edad, y se pudo evidenciar que a mayor número de partos la seroprevalencia puede ser mayor (nulíparas 7.1%, primíparas 13.0%, multíparas 13.1% determinadas mediante el método del Chi Cuadrado, tabla 1), debido a mayor número de gestaciones sumado a estrés y los periodos prolongados de la lactación, asimismo, las marchas prolongadas para conseguir los pastizales, la privación del agua y alimento podrían disminuir sus defensas como lo menciona Cortéz *et al.* (2011).

Los títulos encontrados en este estudio resultaron ser de tipo crónico a la infección de *N. caninum* dado que no se encontró presencia de anticuerpos específicos a este parásito en una dilución mayor de 1/800.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De las 98 muestras serológicas de llamas del distrito de Lachocc – Huancavelica en con un punto de corte 1:100 analizado mediante la IFAT se encontró los siguientes resultados:

- La seroprevalencia de *N. caninum* en llamas fue moderada de  $12.2 \pm 6.5\%$
- Las variables edad, antecedentes de aborto y número de partos, no se encontraron asociadas a la presencia de infecciones por *N. caninum* en llamas.
- Los títulos encontrados en este estudio resultaron ser de tipo crónico a la infección por *N. caninum*.
- Se sugiere continuar investigando a fin de encontrar el verdadero rol de la Neosporosis como posible causa de mortalidad en llamas, a través del aislamiento del parásito proveniente de tejidos de fetos abortados analizando el protocolo de modelo en ratón.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ameghino E, DeMartín J. 1991. El Aspecto Sanitario en alpacas y ovinos de las Comunidades del Departamento de Puno. Ed. Lima- Perú .IVITA – UNMSM. 89 p.
- Bartels C.J.M; Wouda W; Schukken Y.H. 1999. Risk factors for *Neospora caninum* associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology*.52: 247 – 257.
- Casas G, Chávez A, Casas E, Leyva V, Alvarado A, Serrano-Martínez E, Ticona D, Puray N. 2006. Presencia de *Neospora caninum* en llamas de una empresa ganadera de la Sierra Central. *Rev Investig Vet Perú - Lima*. 17(1):8-13
- Campero, C. M.; M. L. Anderson, G. Conosciuto, H. Odriozola, G. Bretschneider y M. A. Poso. 1998. *Neospora caninum*-associated Abortions in a Dairy Herd in Argentina. *Vet Rec*. 143 (8): 228 – 229.
- Chávez A, Serrano-Martínez E, Casas E, Ortega L. 2002. *Neospora caninum* en camélidos sudamamericanos peruanos. *Rev Investig Vet Perú - Lima*. 13(2): 92-93
- Chávez A, Aguado-Martínez A, Ortega-Mora L, Casas-Astos E, Serrano-Martínez E, Casas-Velásquez G, Ruiz-Santa-Quinteria J, Álvarez-GarcíaG. 2014- *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalences in domestic South American camelids of the Peruvian Andes. *Trop Anim Health Prod*. 46 (7): 1141 - 1148
- Cortez M, Vides H, Jurado A, Ruiz M. 2011. Manual técnico de llamas. Disponible en: <http://infoalpacas.com.pe/wp-content/uploads/2016/06/Manual-Tecnico-de-Llamas-1.pdf>

- Davisona H.C., Otterb A, Treasa A.J. 1999. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *International Journal for Parasitology*. 29: 1683-1689
- [DGP] Dirección General Parlamentaria. 2016. Carpeta georeferencial región Huancavelica Perú. *Congreso de la República*. Lima, Perú. 18 p.
- Dubey J.P, Barr B.C, Barta J.R, Bjerkas I, Björkman C, Blogburn B.L.*et al.* 2002. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *International Journal for Parasitology*. 32: 929 - 9446
- Dubey J. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis. *The Korean Journal of parasite*. 41(1): 1-16
- Dubey J, Schares G, Ortega-Mora L. 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical microbiology reviews*. p 323-637
- Dubey J .2010. Neosporosis of animals and humans. 2da edition U.S.A: CRC Press Taylor & Francis Group. p 33 – 46.
- Dubey J, Schares G. 2011. Neosporosis in animals –The last five years. *Veterinary parasitology* 180(2011): 90-108
- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 1996. Manual de prácticas de manejo de alpacas y llamas. Roma, Italia.108 p
- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2005. Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. 63 p
- Gondim L. F. P.; Sartor I. F.; Hasegawa M., y I. Yamane. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet Parasitol*. 86: 71 – 75
- Hosseinejad M, Pirali-Kheirabadi K, Hosseini F. 2009. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in camels (*Camelus dromedarius*) in Isfahan Province, center of Iran. *Iranian J Parasitol*. 4(4): 61 -64.

- [INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2012. IV censo Nacional Agropecuario.
- Innes E, Wright S, Bartley P, Maley S. 2005. The host-parasite relationship in bovine neosporosis. *Veterinary immunology and immunopathology*. 108: 29 – 36.
- Jensen A.M., Björkman C., Kjeldsen A.M., Wedderkopp A., Willadsen C., Uggla A., Lind P. 1999. Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 40: 151 - 163.
- Lindsay D, Dubey J, Duncan R. 1999. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol*. 82: 327 - 333
- Llanos T, Morales M. 2012. Sanidad y salud animal en camélidos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Bolivia. 53 p.
- Mamani J, Condemayta Z, Calle L. 2009. Causas de mortalidad de alpacas en tres principales centros de producción ubicados en puna seca y húmeda del departamento de Puno. *Redvet*. 10(8): 1-13
- Martín E, Pinto C, Cid Ch, Cid D. 2010. Camélidos sudamericanos: Estado sanitario de sus crías. *Rev Complu de Cienc Vet*. 4(1): 37-50.
- Mengoni GL. 2008. Camelids in ancient Andean Societies: A review of the zooarchaeological evidence. *Quaternary International*. 185: 59-68.
- Morillas A. 2007. Muestreo en poblaciones finitas. España. 30 p
- Novoa M. 2007. Camélidos Sudamericanos. *Sit Argent de Producc Anim*. 07 p.
- Paré J, Thurmong M.C., Hietala S.K. 1996. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 60(2): 133 – 139.
- Puray N, Chávez A, Casas E, Falcón N, Casas G. 2006. Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de una empresa ganadera de la sierra central del Perú. *Rev Investig et Perú*. 17(2): 189 – 194.

- Ooi, H. K.; C. C. Huang, C. H. Yang y S. H. Lee. 2000. Serological survey and first finding of *Neospora caninum* in Taiwan, and the detection of this antibodies in various body fluids of cattle. *Vet Parasitol.* 90 (1-2): 47 – 55
- Ortiz S. 1988. Evaluación de algunos métodos de control de la mortalidad en crías de alpaca (*Lama paccos*) en explotaciones familiares. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 45 p.
- Pinedo K, Chávez A, Rivera H, Pinedo R, Francisco V. 2014. Frecuencia de *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* in vicuñas (*Vicugna vicugna*) of the Peruvian Central Sierra by the Immunofluorescence Indirect (IFAT) and Indirect Elisa techniques. *Rev Inv Vet Perú.* 25(1): 70 -76
- Pinto CE, Martín C, Cid M. 2010. Camélidos sudamericanos: Clasificación, origen y caracterización. *Rev Complutense Cienc Vet.* 4(1): 23 – 36.
- Prando D, Venturini M, Campero C. 2006. Avances en la neosporosis bovina. *Ac Nac de Agron y vet.* 60: 453 -485
- Quevedo J, Chávez A, Rivera H, Casas E, Serrano-Martínez E. 2003. Neosporosis en bovinos lecheros en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. *Rev Investig Vet Perú.* 14(1): 33 – 37.
- Quiroz H, Figueroa J, Ibarra F, López M. 2011. Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. Disponible en: <http://elygomez.aprenderapensar.net/files/2014/11/Quiroz-et-al-2011.pdf>
- Radostits O.M, Gay C.C, Blood D.C, Hinchcliff K.W. 1999. Enfermedades causadas por protozoos. En: Medicina Veterinaria tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino porcino, caprino y equino. 9ª ed. Madrid, España: McGraw-Hill – Interamericana de España. 1553 -1555 p.
- Rossanigo C, Giulietti J, Silva J, Frigerio K. 1997. La llama como alternativa productiva en la Provincia de San Luis. *Sit Argent de Producc Anim.* 11 p.

- Santos Raquel Ribeiro Días, Rocha Christiane Maria Barcellos Magalhães da, Gonçalves Tarcísio de Morais, Guimarães Antônio Marcos. Quantification of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cows in Minas Gerais, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* [Internet]. 2012 Sep [cited 2017 Oct 04]; 21(3): 294-297. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1984-29612012000300021&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1984-29612012000300021&script=sci_arttext)
- Serrano-Martínez E, Collantes-Fernández E, Rodríguez Bertos A, Casas-Astos E, Álvarez – García G, Chávez-Velásques A, Orgeta-Mora L. 2004. *Neospora* species-associated abortion in alpacas (*Vicugna pacos*) and llamas (*Lama glama*). *Vet Rec.* 155: 48-749.
- [SENAMHI] Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. 2016. Pronósticos climáticos. Disponible en: [http://www.senamhi.gob.pe/include\\_mapas/dat\\_esta\\_tipo.php?estaciones=000649](http://www.senamhi.gob.pe/include_mapas/dat_esta_tipo.php?estaciones=000649)
- Thrusfield, M. 1990. Epidemiología veterinaria. Ed. Acribia. España. p 228-230.
- Torre D, Lencinas M, Cáceres Y. 2011. Gestión sostenible de los camélidos: tecnología y valor agregado en la crianza campesina. Lima. DESCO (Centro de Estudios y Promoción del Desarrollo). 120 p.
- Valencia N, Chávez A, García M, Suárez F, Casas E. 2009. Toxoplasmosis como agente causal de abortos en alpacas. *Rev Inv Vet Perú.* 20(2): 312-319.
- Wolf D, Schares G, Cardenas O, Cordero A, Barwald A, Conraths F, Gaulty M, Zahner H, Bauer C. 2005. Detection of specific antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in naturally infected alpacas (*Lama pacos*) llamas (*Lama glama*) and vicuñas (*Lama vicugna*) from Peru and Germany. *Vet parasit.* 130:81-87

## ANEXO

### Anexo 1: Ficha epidemiológica

<b>Título del proyecto</b>	<b>Seroprevalencia de <i>Neospora caninum</i> en llamas de la Provincia de Huancavelica, Lachocc - Huancavelica</b>
<b>Entidad Financiadora</b>	<b>FONDECYT</b>
<b>Entidad Ejecutora</b>	<b>Universidad Peruana Cayetano Heredia</b>
<b>1. Nombre de la comunidad:</b>	
<b>2. Localización geográfica:</b>	
<b>3. Código/Nombre:</b>	
<b>4. Especie/Raza:</b>	
<b>5. Sexo:</b>	
<b>6. Edad:</b>	
<b>7. Fecha de muestreo:</b>	
<b>8. Tamaño del hato:</b>	
<b>9. Condiciones higiénicas sanitarias</b> Buena ( )                      Regular ( )                      carente ( )	
<b>10. Presencia de perros:</b>	
<b>11. Los perros se alimentan de ¿vísceras crudas?:</b> Sí ( ) No ( )	
<b>12. Antecedentes de abortos:</b> Si ( ) No ( )	
<b>13. Número de partos:</b> Sin parto ( ) Primíparas ( ) Multíparas ( )	
<b>14. Promedio de abortos del hato:</b>	
<b>15. Número de mortinato en las pariciones anteriores:</b>	
<b>16. Frecuencia de desparasitación en el hato:</b>	
<b>17. ¿Qué medicamentos usa para desparasitar a las llamas?</b>	
<b>18. Otras observaciones</b>	