

# **UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA**

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**“Seroprevalencia de anticuerpos frente a *Neospora caninum* en alpacas de la provincia de Huaytará – Huancavelica”**

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

**Rubens Santé Rivera**

**Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**LIMA – PERÚ**

**2018**

*Dedicado a mis padres, por su apoyo constante e incondicional.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A mi familia y en especial a mi padre por sacrificar muchas cosas, por acompañarme y brindarme su ayuda en el proyecto.*

*Al Dr Enrique Serrano y mi jurado por su confianza y asesoría constante.*

*A mi novia Gabriela por su tiempo, soporte y amor incondicional.*

*A mi gran amigo Joan por tantas amanecidas, largas caminatas y fríos extremos durante la toma de muestras.*

*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 técnico de la Agencia Agraria Pilpichaca Esteban Breña Boza y al promotor y gestor de desarrollo de Agro Rural Huaytará Abel Paucar Poma por ayudarme a dar los primeros pasos en la realización del proyecto.*

*A mis amigos de FAVEZ que me apoyaron de distintas maneras, compartiendo sus conocimientos y compañerismo.*

## ABSTRACT

The objective of this study was to determine the seroprevalence of *N. caninum* antibodies, employing the Indirect Immunofluorescence antibody technique (IFI), using a cut-off point of 1:100 in 288 alpacas from different population centers of the province of Huaytará, department of Huancavelica, during the periods 2016 and 2017. The blood samples were taken by direct puncture of the jugular vein of the alpacas. The samples were sent and processed in the Parasitology laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of the Universidad Peruana Cayetano Heredia. At the same time, situational and epidemiological information was collected from the herds sampled (name and type of exploitation, origin, age, presence of dogs, number of births, handling of organic waste, presence of other animals). With the positive sera, a seroprevalence of 16.32% (47/288) could be determined. According to the age group, it was found that seropositive alpacas over 4 years old were 26 (20.9%), while animals between 1 and 2 years old were 5 (9.8%). In relation to the number of births, the multiparous alpacas presented higher seroprevalence with 19.5% (36), the primiparous with 13.5% (7) and the unpaired with 7.8% (4). On the other hand, the districts with the highest number of positive animals were Pilpichaca with 20.2% (23) and San Antonio de Cusicancha with 18.2% (10). The results demonstrate the presence of specific antibodies against *N. caninum* in the region. It is suggested to maintain the investigations in order to determine the prevalence of this disease in the department, and to implement control and prevention measures to improve the alpaca production of Huaytará and Huancavelica as well.

**Key Words:** *Neospora caninum*, alpaca, Huancavelica, Indirect immunofluorescence

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la seroprevalencia de anticuerpos de *N. caninum*, mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), empleando un punto de corte de 1:100, en 288 alpacas de distintos centros poblados de la provincia de Huaytará, departamento de Huancavelica, durante los periodos 2016 y 2017. Las muestras de sangre se tomaron por punción directa de la vena yugular de las alpacas. Las muestras fueron enviadas y procesadas en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Paralelamente se levantó información situacional y epidemiológica de los rebaños muestreados (nombre y tipo de explotación, procedencia, edad, presencia de perros, número de pariciones, manejo de residuos orgánicos, presencia de otros animales). Con los sueros positivos se pudo determinar una seroprevalencia de 16.32% (47/288). Según grupo etario, se encontró que las alpacas seropositivas mayores de 4 años fueron 26 (20.9%), mientras que los animales entre 1 a 2 años fueron 5 (9.8%). En relación al número de partos, las alpacas multíparas presentaron mayor seroprevalencia con 19,5% (36), las primíparas con 13,5% (7) y las nulíparas un 7,8% (4). Por otro lado, los distritos con mayor número de animales positivos fueron Pilpichaca con 20,2% (23) y San Antonio de Cusicancha con 18.2% (10). Los resultados encontrados demuestran la presencia de anticuerpos específicos frente a *N. caninum* en la región. Se sugiere mantener las investigaciones a fin de determinar la prevalencia de esta enfermedad en el departamento, asimismo implementar medidas sanitarias de control y prevención para la mejora de la producción alpaquera en Huaytará y Huancavelica.

**Palabras clave:** *Neospora caninum*, alpacas, Huancavelica, Inmunofluorescencia indirecta

# INTRODUCCIÓN

La alpaca constituye el principal medio de subsistencia de un gran sector de la población de las zonas alto andinas del Perú, a través del aporte de fibra, carne, energía de trabajo y otros subproductos (Fernández, 2005). El 95% de animales se encuentra en manos de pequeños y medianos productores y 5% en diversas formas organizativas o empresas, en las zonas alto andinas entre los 3800 y 4800 msnm (Aguilar *et al.*, 2014).

Los productores se ven seriamente afectados por la presencia de agentes infecciosos y parasitarios quienes juegan un rol importante (Ameghino, 1991; Sumar, 1991; Fernández, 2005), porque además de causar la disminución de la calidad y producción de fibra, carne y leche (Guerrero y Leguía, 1987; Guerrero *et al.*, 1994), también causan bajas tasas de fertilidad, natalidad y elevadas tasas de mortalidad embrionaria y neonatal.

La Neosporosis es una enfermedad parasitaria emergente producida por *Neospora caninum*, un protozooario intracelular del Phylum Apicomplexa, Clase Sporozoea, Orden Eucoccidia y familia Sarcocystidae que está estrechamente relacionado con *Toxoplasma gondii* (Dubey *et al.*, 1988, 2002). En el ganado bovino produce abortos, muerte fetal, momificación, mortinatos y nacimiento de animales débiles (Dubey *et al.*, 1999), así como el nacimiento de crías clínicamente sanas, pero persistentemente infectadas (Aleaddine *et al.*, 2005).

*N. caninum* tiene un ciclo biológico heteroxeno facultativo que incluye un amplio número de hospedadores tanto domésticos como silvestres (Serrano-Martínez *et al.*, 2008). El perro, coyote y dingo son los hospederos definitivos, adquieren la infección al ingerir tejidos de los hospedadores intermediarios que contienen los quistes tisulares del parásito, llegando a eliminar los ooquistes del

parásito con las heces (McAllister *et al.*, 1998; Gondim *et al.*, 2004). Los hospederos intermediarios (vacas, alpacas, ovejas, búfalos y ciervos) se infectan por vía transplacentaria y transmisión horizontal, al ingerir los alimentos y el agua contaminados con el ooquiste de *N. caninum* (Dubey, 2003; Dubey *et al.*, 2007). Sin embargo, en el ganado bovino la vía transplacentaria es la ruta más frecuente para la infección (Antony y Williamson, 2001; Dubey, 2003). No obstante, en el hombre no se ha reportado su patogenicidad, pero experimentalmente se ha infectado a los primates no humanos por lo que podría considerarse una zoonosis (Lindsay *et al.*, 1996; McAllister, 1998).

El ciclo de vida de este parásito involucra 3 fases: taquizoíto, bradizoíto y esporozoíto (Atkinson *et al.*, 2000). Las dos primeras están presentes en tejidos de los hospederos infectados (intermediarios y definitivos), mientras que los ooquistes están presentes en las heces del hospedero definitivo (Bjorkman y Uggla, 1999). Los taquizoítos son la fase de multiplicación rápida del parásito que sucede durante la fase aguda de la infección (Dubey y Lindsay, 1996), se multiplican rápidamente en las neuronas, macrófagos, células endoteliales, hepatocitos y las células renales; asimismo, por vía transplacentaria pueden llegar a invadir al feto (Dubey y Lindsay, 1989). Debido a la respuesta inmune del huésped, los taquizoítos se transforman en bradizoítos, los que se dividen lentamente formando quistes tisulares en el sistema nervioso central. En estados de inmunodepresión los quistes se rompen y la infección se reagudiza (Lindsay *et al.*, 1996).

El diagnóstico de *Neospora caninum* se puede realizar a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), el cual es un método suficientemente sólido para detectar el ADN de este protozooario a partir de muestras de suero, leche, fluidos vaginales y saliva (Sager *et al.*, 2001). La inmunohistoquímica (IHC) es la técnica más usada para demostrar la presencia de *Neospora* en los tejidos (Dubey y Lindsay, 1989). Por otro lado, las técnicas serológicas de Inmunofluorescencia y ELISA demostraron ser excelentes técnicas para la detección de anticuerpos frente a *Neospora caninum*. En 1996 Baszler *et al.* mediante la técnica de ELISA reportó una sensibilidad de 97,6 % y

una especificidad del 98,6 %; mientras que en 1998 Packham *et al.* a través de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) reportó una sensibilidad del 98 % y una especificidad del 99 %. El diagnóstico definitivo del protozoario es mediante el análisis del feto, a partir del cerebro, corazón y el hígado, además del análisis serológico (Conrad *et al.*, 1993; Venturini, 2005). Aunque la infección de *Neospora caninum*, puede causar lesiones en varios órganos, el cerebro fetal es el tejido más afectado produciendo encefalitis focal con necrosis e inflamación no supurativa (Koiwai *et al.*, 2005).

El primer reporte de *Neospora caninum* en camélidos sudamericanos (CSA) se realizó en pequeñas comunidades del centro del Perú, encontrando que el 42,4% (39/92) de alpacas y 18,4% (39/212) de llamas eran positivos a *Neospora caninum* mediante la técnica de IFAT con un punto de corte 1:50 (Chávez.*et al.*, 2002). En 2007, Serrano-Martínez *et al.* confirmó la presencia de *N. caninum* en 14 de 50 fetos (28%) de la región sur y centro altoandina mediante la técnica de IHC. Por otro lado, Wolf *et al.* (2005) encontraron una prevalencia de 3,1% (10/319) en alpacas de Quimsachata, Puno, mediante IFAT y ELISA.

Por lo manifestado y considerando que la provincia de Huaytará es principalmente agrícola-ganadera y las alpacas constituyen la fuente principal de ingresos de muchos pobladores. El presente estudio tuvo como objetivo cuantificar la prevalencia de anticuerpos séricos frente a *Neospora caninum* mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en alpacas de comunidades ganaderas de la provincia de Huaytará – Huancavelica.



# MATERIALES Y MÉTODOS

## 1. Lugar de Estudio

El lugar de estudio se llevó a cabo en la provincia de Huaytará (distritos de Pilpichaca, San Antonio de Cusicancha, Tambo y Huayacundo Arma) del departamento de Huancavelica. Esta provincia está entre los 2726 a 4787 msnm y posee una temperatura media anual de 10°C (INEI, 2012). Las muestras fueron enviadas y procesadas en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

## 2. Tamaño de muestra

El tamaño de muestra se determinó usando la fórmula de comprobación de una proporción en proporciones finitas, obteniéndose un tamaño mínimo muestral de 194 alpacas. Se consideró un tamaño de la población de 71386, nivel de confianza al 95%, una proporción anterior de 14.8% (Chávez-Velásquez *et al.*, 2014) y una precisión de 0.05.

Se llegó a muestrear 288 animales y se realizó la toma de muestra en 4 distritos por conveniencia, los cuales presentan similares características geográficas.

## 3. Colección de muestras

Las muestras de sangre se tomaron por punción directa de la vena yugular de las alpacas. Los animales fueron capturados con la ayuda del ganadero a través de sogas. Se obtuvo entre 5 a 7 ml de sangre por animal utilizando agujas hipodérmicas de 21g y tubos estériles, sin aditivos. Las muestras fueron transportadas en cajas de tecnopor con gel refrigerante, hasta el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la

Universidad Peruana Cayetano Heredia. En el laboratorio se centrifugó las muestras de sangre y los sueros se conservaron en viales en congelación hasta que fueron procesados.

Paralelamente se levantó información situacional y epidemiológica de los rebaños muestreados (nombre y tipo de explotación, procedencia, edad, presencia de perros, número de pariciones, manejo de residuos orgánicos, presencia de otros animales). No se pudieron tomar más variables debido a que los animales no contaban con identificación ni registro alguno que permita diferenciarlos.

La edad de cada animal muestreado se determinó mediante el conteo dentario y el número de pariciones fue determinado por la edad y por la información brindada por el pastor y/o productor.

#### **4. Procesamiento de muestras**

Los sueros sustraídos fueron procesados mediante la técnica de IFI. Se consideró animales positivos a aquellos con un título de anticuerpos anti *Neospora*, igual o mayor a 1:100 (Chávez-Velásquez *et al.*, 2004). Esto debido a que reduciría la sobreestimación de resultados positivos en diluciones menores (1:50).

##### **4.1. Técnica de IFI**

###### **4.1.1 Antigenado de láminas**

- Se emplearon láminas con fondo negro para IFI de 18 pocillos x 4 mm de diámetro.
- Se homogenizó la suspensión de taquizoítos ( $10^7$  taquizoítos de la cepa SPAIN 7, en Fosfato salino bufferado - PBS formolado), y se depositó 9/ $\mu$ l de antígeno/pocillo.
- Se dejó secar a temperatura ambiente.
- Posteriormente, se fijó en acetona a -20 °C durante 10 minutos.
- Seguidamente se enjuagó con agua destilada, utilizando un vaso Coplin durante 10 minutos en agitación, para lograr eliminar los restos de sales, y luego se dejó secar.

#### 4.1.2 Procedimiento de IFI:

- Se homogenizó el suero problema, por suave agitación con el Vórtex.
- El suero problema se preparó bajo una dilución de 1:100, y se colocó 5µl de suero problema más 995 µl de PBS 1X.
- Se añadió 9 µl de la dilución anterior (PBS más suero), a cada pocillo previamente antigenado.
- Se incubó dentro de cámara húmeda a 37°C por 30 minutos.
- Seguidamente se procedió a lavar las láminas portaobjetos en un vaso Coplin con PBS 1X, 2 veces, con el shaker durante 10 minutos.
- Luego se adicionó 9µl de conjugado Anti llama IgG FITC (Lab VMRD) por pocillo, incubándose en la cámara húmeda a 37°C por 30 minutos (a partir de este punto se mantiene en ambiente oscuro).
- Se continuó con el lavado de la lámina con PBS 1x, dos veces y 10 minutos cada una en el shaker.
- Se procedió al secado de la lámina.
- Finalmente, se adicionó 2 a 3 gotas de fluido de montaje (glicerina tamponada), cubriéndola luego con una laminilla cubreobjetos.

#### 4.1.3 Lectura de las muestras procesadas:

- Para realizar la lectura de las muestras procesadas se consideró realizar una secuencia en forma de “S”, teniendo en cuenta que los dos primeros pocillos son los controles positivos y negativos.
- Las láminas procesadas fueron observadas en el microscopio de fluorescencia (Van Guard), con el objetivo de inmersión (100X).

- A la lectura, las muestras positivas presentan taquizoítos con fluorescencia verde en todo su borde o periferia; mientras que las muestras negativas presentan taquizoítos con ausencia de fluorescencia o fluorescencia apical o parcial.

## **5. Análisis estadístico**

Los resultados se presentaron porcentualmente con el respectivo intervalo de confianza de 95%. Se evaluó la asociación entre las variables edad, lugar de procedencia y número de partos con la presencia de anticuerpos específicos frente a *N. caninum* utilizando la prueba de Chi cuadrado en Microsoft Excel 2016.

## **6. Comité de ética**

El presente estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia mediante la **CONSTANCIA 079-08-17**.

## RESULTADOS

La seroprevalencia de anticuerpos frente a *N. caninum* en alpacas de la provincia de Huaytará, Departamento de Huancavelica, mediante la prueba de IFI, fue de 16,32% (47/288) ± 4.3%.

Todos los hatos encontrados presentaron una crianza de tipo extensiva, contaban con más de 2 perros, un mal manejo de residuos orgánicos y presencia de otros animales silvestres.

Según la variable procedencia, Pilpichaca cuenta con 20,2% (23), San Antonio de Cusicancha con 18.2% (10), Tambo con un 11.3% (11) y Huayacundo Arma con 13,6% (3) (Tabla 1), no encontrándose diferencia significativa entre ellas.

Con respecto a grupo etario, se encontró que el porcentaje de seropositivas mayores de 4 años fue de 20,9 % (26), entre los 3 a 4 años fue de 13,2% (9), entre los 2 a 3 años fue de 15,6% (7) y entre 1 a 2 años fue de 9,8% (5), no encontrándose diferencia estadística significativa entre los porcentajes. (Tabla 2).

En relación a la variable número de partos, se observó que las alpacas multíparas presentaron mayor seroprevalencia con 19,5%(36), las primíparas con 13,5% (7) y las sin partos con menor porcentaje con 7,8% (4). Al igual que las anteriores tablas, no se encontró diferencia significativa (Tabla 3).

De los títulos de anticuerpo frente a *N. caninum* obtenidos de las 47 muestras positivas, el 61.7% (29) presentaron títulos de 1:100; el 29.8% (14) con 1:200, el 6.4% (3) con 1:400 y el 2.1% (1) con 1:800 no encontrando seropositividad en diluciones igual o superiores a 1/1600.

Tabla 1.- Seroprevalencia de *N. caninum* en alpacas según procedencia, de la provincia de Huaytará, departamento de Huancavelica (2016 – 2017)

Distrito	Animales Muestreados	IFAT Positivos	
	(n)	(+)	%
Pilpichaca	114	23	20.2
San Antonio de Cusicancha	55	10	18.2
Tambo	97	11	11.3
Huayacundo Arma	22	3	13.6
<b>Total</b>	<b>288</b>	<b>47</b>	<b>16.32 ± 4.3</b>

Tabla 2.- Seroprevalencia de *N. caninum* en alpacas según grupo etario, de la provincia de Huaytará, departamento de Huancavelica (2016 – 2017)

Grupo etario	Animales Muestreados	IFAT Positivos	
	(n)	(+)	%
0 - 2 años	51	5	9.8
> 2 - 3 años	45	7	15.6
> 3 - 4 años	68	9	13.2
> 4 años	124	26	20.9
<b>Total</b>	<b>288</b>	<b>47</b>	<b>16.32 ± 4.3</b>

Tabla 3.- Seroprevalencia de *N. caninum* en alpacas según número de pariciones, de la provincia de Huaytará, departamento Huancavelica (2016-2017)

Número de partos	Animales muestreados	IFAT Positivos	
	(n)	(+)	%
Nulíparas	51	4	7.8
Primíparas	52	7	13.5
Multíparas	185	36	19.5
<b>Total</b>	<b>288</b>	<b>47</b>	<b>16.32 ± 4.3</b>

## DISCUSIÓN

La investigación realizada en alpacas del distrito de Huaytará, departamento de Huancavelica, se encontró una prevalencia de  $16,32 \pm 4.3$  % evaluado mediante la técnica de IFI.

En contraste, Wolf *et al.* (2005), a través de ELISA e IFAT con un punto de corte de 1/50 encontró una prevalencia de 3.1% (10/319) en alpacas de Quimsachata, Puno. Este dato es menor al encontrado por Chávez *et al.* (2002), primer reporte de CSA en el Perú, que fue de 42,4% (39/92) usando IFI y el mismo corte de 1/50 en alpacas de centros comuneros del centro del país. En estudios más actuales, Chávez-Velásquez (2014) encontró una prevalencia de 14,8% (425/2874) a través de IFAT. Por otra parte, Moya *et al.* (2003) publicaron la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en 16,7% (46/275) de las muestras recolectadas de llamas en la localidad de Melgar, Puno. Las diferencias porcentuales entre resultados, puede deberse a distintos factores como las diferentes zonas o regiones de muestreo, tipo de explotación, el punto de corte usado en cada estudio, presencia de hospederos intermediarios y definitivos, cercanía a la ciudad, clima, altura o cualquier factor que influya directamente en el bienestar animal (Dubey, 2010). Referente a las localidades o regiones, en los trabajos anteriores y en el presente, se observó que en todas las zonas evaluadas se encontró alpacas seropositivas a *N. caninum*, pero la mayoría de estos trabajos utilizó el punto de corte de 1:50 viendo resultados relativamente altos frente al punto de corte 1:100.

En cuanto al tipo de explotación, en todos los hatos se observó una crianza extensiva. Estos animales recorren grandes extensiones de pastoreo y se relacionan con otras especies como ovinos, llamas, caballos, otras alpacas y perros; favoreciendo al desarrollo de la parasitosis. Asimismo, se observó que todas las comunidades y hatos alpaqueros tenían entre 2 a 5 canes; estos se alimentaban de suero de leche, restos de comida casera y de residuos orgánicos. Del mismo modo, se reportó la

presencia de roedores, aves y caninos silvestres, como el zorro andino, el cual no se ha demostrado que pueda actuar como hospedero definitivo de *N. caninum* (Cañón *et al.*, 2004).

Según grupo etario, no se encontró diferencia significativa. Sin embargo, se vio una tendencia de incrementarse la infección a medida que avanza la edad, como lo reportado en 1997 por Barberan y Marco, ya que animales de mayor edad presentan más tiempo de exposición a la infección en comparación con individuos más jóvenes

Por otro lado, referente al número de partos se pudo evidenciar que no hubo diferencia significativa entre nulíparas, primíparas y multíparas. Como era de esperarse también se vio un incremento progresivo de la infección ya que, al tener mayor número de gestaciones, han estado más expuestas al estrés por los periodos de pre y post parición, sumado a los periodos de lactación. Estudios realizados en bovinos por Quevedo *et al.* 2003 encontraron que el número de partos y la edad de los animales son directamente proporcionales a la infección.

En cuanto a la seroprevalencia según los distritos, se encontró una mayor prevalencia en Pilpichaca (20,2%), San Antonio de Cusicancha (18,2%) y menor seropositividad en el Tambo (11,3%). Esto posiblemente debido a la cercanía de los hatos muestreados a la ciudad. Al igual que menciona Casas *et al.* (2006), quienes observaban que la prevalencia a la parasitosis aumentaba al trasladarlos periódicamente a zonas bajas, cercanas a los poblados, para realizar faenas de campo. Esto implicaría una mayor concentración de alpacas en áreas pequeñas y un mayor contacto con hospederos definitivos. En cuanto a la provincia de Tambo (11,3%) se obtuvo un porcentaje bajo debido, posiblemente, a la distancia sobre la ciudad y los largos kilómetros de distancia entre hatos alpaqueros.



Los resultados obtenidos aportan el primer reporte oficial de la enfermedad en la región sobre la prevalencia de *N. caninum* en la provincia alpaquera más importante de Huancavelica. Esto permite replantear nuevas políticas, planes y proyectos estratégicos para impulsar el aprovechamiento de la producción alpaquera, mediante la implementación de medidas de control y prevención de la enfermedad.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De las 288 muestras serológicas de alpacas de la provincia de Huaytará – Huancavelica, mediante la técnica IFI y usando un punto de corte de 1:100, se obtuvo los siguientes resultados:

- La seroprevalencia de *N. caninum* en alpacas de la provincia de Huaytará, departamento de Huancavelica, fue moderadamente de  $16,32 \pm 4.3\%$ .
- Las variables edad, procedencia y número de partos, no se encontraron asociadas en forma estadística a la presencia de infecciones por *N. caninum*.
- Los títulos encontrados en este estudio resultaron ser bajos 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 alpacas, a través del aislamiento del parásito proveniente de tejidos de fetos abortados analizando el protocolo de modelo en ratón.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Aguilar M, Torres D, Murillo R, Zeballos J. 2014. Buenas prácticas de manejo en la producción de alpacas. *DESCO*. Arequipa. 1: 5.
- Alaeddine, F., Keller, N., Leepin, A., Hemphill, A. 2005. Reduced infection and protection from clinical signs of cerebral neosporosis in C57BL/6 mice vaccinated with recombinant microneme antigen NcMIC1. *Journal of Parasitology*. 91(3): 657-665.
- Ameghino E, Martini JD. 1991. Mortalidad en crías de alpacas (No. L73 A5). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. *Centro de Investigación Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura*. p. 128.
- Angulo J, Casas G, Watanabe R, Pezo D, Serrano-Martínez E. 2014. Seroprevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en alpacas de un centro de crianza de Cusco, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 25(1): 65-69.
- Antony A, Williamson N.B. 2001. Recent advances in understanding the epidemiology of *Neospora caninum* in cattle. *New Zealand Veterinary Journal*. 49(2): 42-47.
- Atkinson, R. A., Cook, R. W., Reddacliff, L. A., Rothwell, J., Broady, K. W., Harper, P. A. W., Ellis, J. T. 2000. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in a dairy cattle herd. *Australian Veterinary Journal*. 78(4): 262-266.
- Barberan, M., Marco, J. C. 1997. Patogenia, cuadro clínico y lesional en toxoplasmosis-neosporosis. *Rev Aula Veterinaria OVIS*. 52: 35-48.
- Baszler, T. V., Knowles, D. P., Dubey, J. P., Gay, J. M., Mathison, B. A., McElwain, T. F. 1996. Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*. 34(6): 1423-1428.

- Björkman, C., & Uggla, A. 1999. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *International Journal for Parasitology*, 29(10): 1497-1507.
- Cañón W, Yai L, Souza S, Santos L, Farias N, Ruas J, Rossi F, et al. 2004. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in two species of wild canids, *Lycalopex gymnocercus* and *Cerdocyon thous* from Brazil. *Vet Parasitol.* 123: 275-277.
- Casas, G., Chávez, V., Casas, A., Leyva, V., Alvarado, S., Serrano, M., ... & Puray Ch, N. (2006). Presencia de *Neospora caninum* en llamas de una empresa ganadera de la Sierra Central. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 17(1), 08-13.
- Chávez-Velásquez A, Aguado-Martínez A, Ortega-Mora LM, Casas-Astos E, Serrano-Martínez E, Casas-Velásquez G, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Alvarez-García G. 2014. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalences in domestic South American camelids of the Peruvian Andes. *Tropical Animal Health and Production.* 46(7): 1141–1147.
- Chávez A., Serrano E., Casas E. y Ortega L. 2002. *Neospora caninum* en camélidos sudamericanos peruanos. *Rev Inv Vet Perú.* 13 (2): 92- 93.
- Conrad PA, Barr BC, Sverlow KW, Anderson M, Daft B, Kinde H, Ardans A. 1993. In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine foetuses. *Parasitology*, 106(3): 239-249.
- Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla AN. 1988. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association.* 192(9): 1269-1285.
- Dubey JP, Lindsay DS. 1989. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. *J. Am. Vet. Res.* 50: 1578-1579.
- Dubey JP. Lindsay DS. 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary parasitology.* 67(1-2): 1-59.

- Dubey JP, Venturini MC, Venturini L, McKinney J, Pecoraro M. 1999. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Veterinary Parasitology*, 86(1): 59-62.
- Dubey JP. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*, 41(1): 1.
- 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. Toxoplasmosis of animals and humans. 2da edition U.S.A: CRC Press Taylor & Francis Group. p 33 – 46.
- Fernández Baca, S. (2005). Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. *Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo de la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO)*. p. 5-8.
- Guerrero C., Leguía G. 1987. Enfermedades infecciosas y parasitarias de alpacas. *Rev Camélidos Sudamericanos*. 4: 32-82.
- Guerrero O, Chinchilla M, Catarinella G, Castro A, Abrahams E. 1994. Patrón de tránsito intestinal de los ooquistes de *Toxoplasma gondii* en rata, ratón y hamster. *Parasitol al Día*. 18: 71-76.
- Gondim, L F, McAllister, M M, Pitt, W C, & Zemlicka, D E. (2004). Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International journal for parasitology*, 34(2): 159-161.
- (INEI) Instituto nacional de estadística e informática. 2012. Disponible en: <https://www.inei.gob.pe/estadisticas/censos/>

- Koiwai M, Hamaoka T, Haritani M, Shimizu S, Tsutsui T, Yamane I. 2005. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle with reproductive disorders in Japan. *Veterinary Parasitology*. 130(1–2): 15-18.
- Lindsay DS, Kelly EJ, McKown RD, Stein FJ, Plozer J, Herman J. 1996. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. *J. Parasitol.* 82: 657–659.
- McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. 1998. Rapid communication: Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International journal for parasitology*. 28(9): 1473-1479.
- Moya R, Chávez A, Casas E, Serrano E, Falcón N, Pezo D. 2003. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en llamas de la provincia de Melgar, Puno. *Revista de investigaciones veterinarias del Perú v.14* (2): 155-160.
- Packham AE, Sverlow KW, Conrad PA, Loomis EF, Rowe JD, Anderson ML, Barr BC. 1998. A modified agglutination test for *Neospora caninum*: development, optimization, and comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 5(4): 467-473.
- 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.
- Sager H, Fischer I, Furrer K, *et al.* 2001. A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. *Vet Parasitol.* 200(102):1–15.
- Serrano-Martínez ME, Ortega Mora LM, Ferre Pérez. (2008). *Neospora caninum*. *Rev de Cien. Vet.* 24(2): 9-14.
- Serrano-Martinez E., Collantes-Fernandez E., Chavez-Velasquez A., Rodriguez-Bertos A., Casas-Astos E, Risco-Castillo V, Ortega-Mora LM. 2007. Evaluation of *Neospora caninum* and

*Toxoplasma gondii* infections in alpaca (*Vicugna pacos*) and llama (*Lama glama*) aborted foetuses from Peru. *Veterinary Parasitology*. 150(1): 39-45.

- Sumar J. 1991. Características de las Poblaciones de Llamas y Alpacas en la Sierra Sur del Perú. FAO: Chile. Informe de la Mesa Redonda Sobre Camélidos Sudamericanos. p 71-78
- Venturini M.C. 2005. Neosporosis: epidemiología y Diagnóstico. Disponible en: [www.Veterinariosursf.com.ar/nuestra\\_publicación.php=274](http://www.Veterinariosursf.com.ar/nuestra_publicación.php=274)
- Wolf D, Schares G, Cardenas O, Huanca W, Cordero A, Bärwald A, 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. *Veterinary parasitology*. 130(1): 81-87.