

Neosporosis en alpacas de la provincia de Huaytará, Huancavelica, Perú

Neosporosis in alpacas of the Huaytará province, Huancavelica, Peru

Rubens Santé¹, Enrique Serrano-Martínez^{1,2}

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 varios centros poblados de la provincia de Huaytará, departamento de Huancavelica, durante 2016 y 2017. Se colectaron muestras de sangre y se levantó información situacional y epidemiológica de los rebaños muestreados. La seroprevalencia fue de $16.3 \pm 4.3\%$ (47/288), sin diferencias significativas por efecto de procedencia, grupo etario y número de parto. Los resultados encontrados demuestran la presencia de anticuerpos específicos frente a *N. caninum* en la región.

Palabras clave: *Neospora caninum*; alpacas; Huancavelica; IFI

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the seroprevalence of *N. caninum* antibodies, using the immunofluorescence antibody technique (IFAT), using a cut-off point of 1:100 in 288 alpacas from several populations in the province of Huaytará, Huancavelica, during 2016 and 2017. Blood samples plus situational and epidemiological information were collected. The seroprevalence was $16.3 \pm 4.3\%$ (47/288), without significant differences due to origin, age group and parity. The results show the presence of specific antibodies against *N. caninum* in the region.

Key words: *Neospora caninum*; alpaca; Huancavelica; IFAT

¹ Grupo SANIVET, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú

² E-mail: enrique.serrano@upch.pe

Recibido: 26 de febrero de 2018

Aceptado para publicación: 20 de septiembre de 2018

INTRODUCCIÓN

La alpaca constituye el principal medio de subsistencia de un gran sector de la población de las zonas altoandinas del Perú, por su aporte de fibra, carne y otros subproductos (FAO, 2005). El 95% de estos animales se encuentra en manos de pequeños y medianos productores y el restante 5% en empresas u agrupaciones de productores (Aguilar *et al.*, 2014).

La producción de alpacas se ve seriamente afectada por agentes infecciosos y parasitarios (Llanos y Morales, 2012; FAO, 2005), pues además de afectar la calidad y cantidad de fibra, carne y leche producida (Guerrero *et al.*, 1994), causan bajas tasas de fertilidad, natalidad y elevadas tasas de mortalidad embrionaria y neonatal (Gallegos, 2013).

La neosporosis es una enfermedad parasitaria emergente producida por *Neospora caninum*, protozoario intracelular del Phylum Apicomplexa, Clase Sporozoea, Orden Eucoccidia y familia Sarcocystidae, que está estrechamente relacionado con *Toxoplasma gondii* (Dubey *et al.*, 2002). Tiene un ciclo biológico heteroxeno facultativo que incluye un amplio número de hospedadores tanto domésticos como silvestres (Dubey *et al.*, 2007). El perro, coyote (*Canis latrans*) y dingo (*Canis lupus*) 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 contaminado con el ooquiste de *N. caninum* (Dubey, 2003; Dubey *et al.*, 2007).

El ciclo de vida de este parásito involucra 3 fases: taquizoíta, bradizoíta y esporozoíta (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).

El diagnóstico de *N. caninum* se puede realizar a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), detectando el ADN del protozoario 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 han demostrado ser excelentes técnicas para la detección de anticuerpos frente a *N. caninum* (Baszler *et al.*, 1996; Packham *et al.*, 1998).

Uno de los primeros hallazgos de *N. caninum* en camélidos sudamericanos (CSA) fue reportado en pequeñas comunidades del centro del Perú, encontrando que 42.4% de alpacas y 18.4% de llamas seropositivas a *N. caninum* mediante la técnica de IFI con un punto de corte 1:50 (Chávez *et al.*, 2002). Posteriormente, Serrano-Martínez *et al.* (2007) confirmaron la presencia de *N. caninum* en 14 de 50 fetos (28%) de la región sur y centro altoandina mediante inmunohistoquímica. Por otro lado, Wolf *et al.* (2005) encontraron una prevalencia de 3.1% en alpacas de Quimsachata, Puno, mediante IFI y ELISA. Con base a esto, el presente estudio tuvo como objetivo cuantificar la prevalencia de anticuerpos séricos frente a *N. caninum* mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) en alpacas de comunidades ganaderas de la provincia de Huaytará, Huancavelica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Estudio y Animales

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, Perú, zona que se encuentra entre 2726 a 4787 msnm y posee una temperatura media anual de 10 °C (INEI, 2012). Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, en Lima. El trabajo de investigación fue aprobado por el Comité Institucional de Ética para Uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, con código de inscripción N.º 100514.

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 71 386, nivel de confianza al 95%, una proporción anterior (conocida) de 14.8% (Chávez-Velásquez *et al.*, 2014) y una precisión de 0.05. Se llegó a muestrear 288 alpacas hembras de los cuatro distritos por conveniencia, los cuales presentan características geográficas similares. Las alpacas pertenecían a pequeños ganaderos y el número de animales muestreados por hatu alpaquero fue entre 10 y 25 animales.

Muestras

Se tomaron muestras de sangre (5-7 ml) por punción directa de la vena yugular, utilizando agujas hipodérmicas de 21 g y tubos estériles sin aditivos. Las muestras de sangre colectadas fueron enviadas en refrigeración al laboratorio y dentro de las 24 horas de su colección fueron centrifugadas a 1200 g por 5 min. Los sueros resultantes fueron conservados en viales en congelación. Paralela-

mente 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).

Los sueros fueron procesados mediante la técnica de IFI. Se consideró animales positivos aquellos con un título de anticuerpos anti *Neospora* igual o mayor a 1:100 (Chávez-Velásquez *et al.*, 2004). En la prueba se utilizó suero de alpacas positivo y negativo a anticuerpos frente a *Neospora* control positivo, confirmado por Western Blotting, como controles positivos y negativos, respectivamente.

Los sueros positivos fueron titulados, para lo cual se usaron láminas con el antígeno, realizando diluciones de 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600 y 1/3200, siguiendo el procedimiento descrito para la técnica de IFI. Se utilizaron sueros positivos y negativos a sueros de alpacas de Huaytará, positivos y negativos, respectivamente, a anticuerpos frente a *Neospora*, confirmado por Western Blotting. Se consideró como suero positivo aquellos con fluorescencia completa del taquizoito y como sueros negativos aquellos con fluorescencia parcial o nula del taquizoito.

Análisis Estadístico

Los resultados fueron expresados en porcentaje y con los intervalos de confianzas 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.

RESULTADOS

Todos los hatos muestreados presentaron una crianza de tipo extensiva, contaban con una media de tres perros por hatu (ran-

Cuadro 1. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en alpacas de la provincia de Huaytará, de Huancavelica, mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), según el distrito de procedencia (2016-2017)

Distrito	Animales (n)	Positivos (%)
Pilpichaca	114	20.2
San Antonio de Cusicancha	55	18.2
Tambo	97	11.3
Huayacundo Arma	22	13.6
Total	288	16.3 ± 4.3

go: 2-5), tenían un mal manejo de residuos orgánicos (se alimentaba a los canes con vísceras crudas) y había presencia de animales silvestres como zorros, roedores y aves.

La seroprevalencia de anticuerpos frente a *N. caninum* fue de 16.3 ± 4.3% (47/288). La seroprevalencia por distrito se muestra en el Cuadro 1, por grupo etario en el Cuadro 2 y por número de partos en el Cuadro 3, no encontrándose diferencias significativas entre distritos, grupos etarios ni por número de parto.

De las 47 muestras positivas a *N. caninum*, 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 (Cuadro 4).

DISCUSIÓN

El 16.3 ± 4.3% de seroprevalencia de anticuerpos contra *N. caninum* en alpacas fue bastante más alto que el 3.1% (10/319) reportado por Wolf *et al.* (2005) a través de

Cuadro 2. Seroprevalencia de *N. caninum* en alpacas de la provincia de Huaytará, de Huancavelica, mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), según el grupo etario (2016-2017)

Grupo etario (años)	Animales (n)	Positivos (%)
1-2	51	9.8
>2-3	45	15.6
>3-4	68	13.2
>4	124	20.9
Total	288	16.3 ± 4.3

Cuadro 3. Seroprevalencia de *N. caninum* en alpacas de la provincia de Huaytará, de Huancavelica, mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), según número de partos (2016-2017)

Número de partos	Animales (n)	Positivos (%)
Nulípara	51	7.8
Primípara	52	13.5
Múltipara	185	19.5
Total	288	16.3 ± 4.3

ELISA e IFI con un punto de corte de 1/50 en alpacas de Quimsachata, Puno, aunque menor al 42.4% (39/92) encontrado por Chávez *et al.* (2002) usando IFI con un punto de corte de 1/50 en alpacas de centros comuneros del centro del país. En estudios más actuales, Chávez-Velásquez (2014) reportan una prevalencia de 14.8% (425/2874) mediante IFI. Por otra parte, Moya *et al.* (2003) indicaron una seroprevalencia de 16.7% (46/275) en llamas de Melgar, Puno. Las diferencias entre estudios podrían deberse a factores como zonas o regiones de muestreo, tipo de explotación, punto de corte, presencia de hospederos intermediarios y definitivos, cercanía a la ciudad, clima y altitud (Dubey, 2010).

Cuadro 4. Títulos de anticuerpos frente a *Neospora caninum* en alpacas de la provincia de Huaytará, Huancavelica, mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (2016-2017)

Alpacas	Positivos	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600
n	47	29	14	3	1	0
%	100	61.7	29.8	6.4	2.1	0

El tipo de explotación extensiva, donde los animales recorren grandes extensiones de pastoreo y se relacionan con otras especies como ovinos, llamas, caballos y perros favorece el desarrollo de la parasitosis. Se pudo observar que todas las comunidades y hatos alpaqueros tenían entre 2 a 5 canes. Así mismo, se encontró la presencia de roedores, aves y caninos silvestres como el zorro andino (*Pseudalopes culpaeus*), el cual no se ha demostrado que pueda actuar como hospedero definitivo de *N. caninum* (Cañón *et al.*, 2004).

Si bien no se encontró diferencia significativa a la infección por *N. caninum*, debido al grupo etario, se vio una tendencia de incrementarse a medida que avanza la edad, ya que animales de mayor edad presentan más tiempo de exposición a la infección (Barberan y Marco, 1997). En forma similar, se observó una tendencia a incrementarse la frecuencia de infección con el número de partos, considerando que a mayor número de gestaciones se tiene más edad, aunado al estrés de pre- y posparto (Quevedo *et al.*, 2003).

Las pequeñas diferencias entre distritos podrían deberse a la cercanía de los hatos a la ciudad. Casas *et al.* (2006) observaron que la prevalencia a la parasitosis aumentaba cuando los animales eran trasladados 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.

CONCLUSIONES

- La seroprevalencia de 16.3% de *Neospora caninum* en alpacas de la provincia de Huaytará, Huancavelica, es considerada moderada.
- Las variables edad, procedencia y número de partos no estuvieron asociadas a la presencia de infecciones por *N. caninum*.
- Los títulos de anticuerpos contra *N. caninum* fueron bajos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Cienciaactiva del CONCYTEC 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 fines inmunodiagnóstico y vacunal» (Convenio de Gestión N.º 220-2015 FONDECYT-De), que permitió los análisis y la capacitación técnica de los investigadores para la ejecución del estudio.

LITERATURA CITADA

1. **Aguilar M, Torres D, Murillo R, Zeballos J. 2014.** Buenas prácticas de manejo en la producción de alpacas. Arequipa: DESCO. 122 p.
2. **Atkinson RA, Cook RW, Reddacliff LA, Rothwell J, Broady KW, Harper P, Ellis JT. 2000.** Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in dairy cattle herd. *Aust Vet J* 78: 262-266. doi: 10.1111/j.1751-0813.2000.tb11752.x
3. **Barberan M, Marco JC. 1997.** Patogenia, cuadro clínico y lesional en toxoplasmosis-neosporosis. *Rev Aula Vet OVIS* 52: 35-48.
4. **Baszler TV, Knowles DP, Dubey JP, Gay JM, Mathison BA, McElwain TF. 1996.** Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 34: 1423-1428.
5. **Björkman C, Ugglá A. 1999.** Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int J Parasitol* 29: 1497-1507. doi: 10.1016/S0020-7519-(99)00115-0
6. **Cañón-Franco WA, Yai LE, Souza SL, Santos LC, Farias NA, Ruas J, Rossi FW, 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. doi: 10.1016/j.vetpar.2004.06.004
7. **Casas G, Chávez A, Casas E, Leyva V, Alvarado A, Serrano E, Ticona D, et al. 2006.** Presencia de *Neospora caninum* en llamas de una empresa ganadera de la sierra central. *Rev Inv Vet Perú* 17: 8-13. doi: 10.15381/rivep.v17i1.1450
8. **Chávez A, Serrano E, Casas E, Ortega LM. 2002.** *Neospora caninum* en camélidos sudamericanos peruanos. *Rev Inv Vet Perú* 13: 92-93. doi: 10.15381/rivep.v13i2.7338
9. **Chávez A, Álvarez G, Collantes E, Casas E, Rosadio R, Serrano E, Ortega L. 2004.** First report of *Neospora caninum* infection in adult alpacas (*Vicugna pacos*) and llamas (*Lama glama*). *J Parasitol* 90: 864-866. doi: 10.1645/GE-260R
10. **Chávez-Velásquez A, Aguado-Martínez A, Ortega-Mora L, Casas-Astos E, Serrano-Martínez E, Casas-Velásquez G, et al. 2014.** *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* seroprevalences in domestic South American camelids of the Peruvian Andes. *Trop Anim Health Pro* 46: 1141-1148. doi: 10.1007/s11250-014-0618-1
11. **Dubey J. 2003.** Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Kor J Parasitol* 41: 1-16. doi: 10.3347/kjp.2003.41.1.1
12. **Dubey J. 2010.** Toxoplasmosis of animals and humans. 2° ed. USA: CRC Press. 313 p.
13. **Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. 2007.** Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev* 20: 323-367. doi: 10.1128/CMR.00031-06
14. **[FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2005.** Situación actual de los camélidos sudamericanos. Chile: FAO. 62 p. [Internet]. Disponible en: https://tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/zootecnia_archivos/situacion%20alpcas%20peru.pdf
15. **Gallegos RF. 2013.** Índices productivos de alpacas del centro de investigación producción «La Raya». *Rev Invest Altoandina* 15: 255-262
16. **Gondim LF, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE. 2004.** Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 34: 159-161. doi: 10.1016/j.ijpara.2004.-01.001
17. **[INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2012.** [Internet]. Disponible en: <https://www.inei.gob.pe/estadisticas/censos/>

18. **Llanos R, Morales M. 2012.** Sanidad y salud animal en camélidos. Preparación y reducción de riesgos en respuesta a los eventos climáticos extremos y los problemas de disponibilidad de agua en comunidades vulnerables del altiplano de Bolivia y Perú. FAO. [Internet]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/as961s.pdf>
19. **McAllister M, Dubey J, Lindsay D, Jolley WR, Wills R, McGuire A. 1998.** Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 28: 1473-1478. doi: 10.1016/S0020-7519(98)00138-6
20. **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. *Rev Inv Vet Perú* 14: 155-160. doi: 10.15381/rivep.v14i2.1621
21. **Quevedo J, Chávez A, Rivera H, Casas E, Serrano E. 2003.** Neosporosis en bovinos lecheros en dos distritos de la provincia de Chachapoyas. *Rev Inv Vet Perú* 14: 33-37. doi: 10.15381/rivep.v14i1.1594
22. **Sager H, Fischer I, Furrer K, Strasser M, Waldvogel A, Boerlin P, Audigé L, et al. 2001.** A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. *Vet Parasitol* 200: 1-15. doi: 10.1016/S0304-4017(01)00524-6
23. **Serrano-Martínez E, Collantes-Fernández E, Chávez-Velásquez A, Rodríguez-Bertos A, Casas-Astos E, Risco-Castillo V, et al. 2007.** Evaluation of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in alpaca (*Vicugna pacos*) and llama (*Lama glama*) aborted foetuses from Peru. *Vet Parasitol* 150: 39-45. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.08.048
24. **Wolf D, Schares G, Cárdenas O, Huanca W, Cordero A, Barwald A, Conraths F, et al. 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 Parasitol* 130: 81-87. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.03.024