

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



TESIS:

**Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de alpaca y
llama diagnosticado por PCR semianidada dúplex en los
distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de Ayacucho**

Para optar el título profesional de:

BIÓLOGA, ESPECIALIDAD: BIOTECNOLOGÍA

PRESENTADO POR:

Bach. Mirella Susan CONDE MENESES

ASESOR:

Dr. Fidel Rodolfo MUJICA LENGUA

COASESORES:

Mg. Reynán CÓNDOR ALARCÓN

Mg. MV. Mijaíl CONTRERAS HUAMANÍ

Blga. Crissthel Yverlin GUILLÉN PALOMINO

AYACUCHO - PERÚ

2026

A los dos grandes seres que me dieron la vida
y me impulsaron a seguir pese a las caídas.

A Dios y a mi abuelita Teresa, por guiarme a
mejorar y perseverar.

AGRADECIMIENTOS

A mi casa de estudios Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme brindado la oportunidad de formarme como profesional, con valores, deberes y experiencias que han marcado mi desarrollo profesional.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas, por su dedicación, paciencia y compromiso en la enseñanza, quienes con sus conocimientos y experiencias contribuyeron significativamente en mi crecimiento académico y personal.

A mi querido asesor, Dr. Fidel Rodolfo Mujica Lengua, por la confianza depositada en mi persona, por su guía constante y apoyo incondicional durante todo el proceso de elaboración de esta investigación, siendo pieza clave para su culminación.

A mis coasesores, Mg. Reynán Cóndor Alarcón, Mg. MV. Mijaíl Contreras Huamaní y Blga. Crisstel Yverlin Guillen Palomino, por sus valiosos aportes, orientación y constante disponibilidad, que enriquecieron el desarrollo de este trabajo.

Mi sincero agradecimiento a los alpaqueros de los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de la región de Ayacucho que, con su colaboración y predisposición, facilitaron las muestras sanguíneas de sus animales, haciendo posible la realización del presente estudio.

ÍNDICE GENERAL

Pág.

Índice General.....	vii
Índice de Tablas.....	ix
Índice de Figuras.....	xi
Índice de Anexos.....	xiii
RESUMEN.....	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. ANTECEDENTES.....	3
2.2. MARCO CONCEPTUAL.....	5
2.2.1. <i>Sarcocystis aucheniae</i>	5
2.2.2. Ciclo biológico de <i>Sarcocystis aucheniae</i>	6
2.2.3. Patogenia.....	8
2.2.4. Epidemiología.....	9
2.2.5. Manifestaciones clínicas de la sarcocistosis en alpacas y llamas.....	10
2.2.6. Importancia de las alpacas y llamas y repercusiones de la sarcocistosis muscular.....	11
2.2.7. Determinación de la edad mediante la erupción dentaria en alpacas y llamas.....	14
2.2.8. PCR semianidada dúplex.....	15
2.2.9. Gen ARNr 18S.....	16
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
3.1. Características de la zona de estudio.....	19
3.1.1. Chuschi.....	19
3.1.2. Sacsamarca.....	19
3.1.3. Chipao.....	20
3.1.4. Mapa de ubicación y coordenadas geográficas.....	20
3.2. Variable e indicadores.....	22
3.2.1. Variables de estudio.....	22
3.3. Definición de las muestras.....	22
3.3.1. Población.....	22
3.3.2. Muestras.....	22
3.3.3. Selección de animales.....	22

3.4.	Diseño del estudio.....	23
3.5.	Metodología.....	24
3.5.1.	Toma de muestras	24
3.5.2.	Transporte y conservación de las muestras	24
3.5.3.	Extracción de ADN genómico de sangre de alpaca y llama y macroquistes de <i>Sarcocystis aucheniae</i>	25
3.5.4.	Amplificación por PCR semianidada.....	26
3.5.5.	Electroforesis	27
3.5.6.	Análisis de los datos.....	27
IV.	RESULTADOS.....	29
V.	DISCUSIÓN	39
VI.	CONCLUSIONES.....	45
VII.	RECOMENDACIONES	47
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
IX.	ANEXOS	55

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1.	Coordenadas geográficas de los centros poblados de estudio.....	20
Tabla 2.	Condiciones de ciclaje de la PCR semianidada dúplex.	26
Tabla 3.	Primers empleados para amplificar el gen ARNr 18S de <i>Sarcocystis aucheniae</i>	27
Tabla 4.	Prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> según el distrito en alpaca.....	31
Tabla 5.	Prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> según el distrito en llama	32
Tabla6.	Porcentaje de resultados positivos a <i>Sarcocystis aucheniae</i> en alpaca (<i>Vicugna pacos</i>) y llama (<i>Lama glama</i>).....	33
Tabla 7.	Prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> según sexo en alpaca.....	34
Tabla 8.	Prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> según sexo en llama.....	35
Tabla 9.	Prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> según categoría etaria en alpaca.....	36
Tabla10.	Prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> según categoría etaria en llama.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Ciclo de vida indirecto de <i>Sarcocystis</i> sp	7
Figura2. Mapa político de ubicación de las zonas de investigación	21
Figura 3. ADN genómico aislado de muestras sanguíneas de alpaca y llama.....	29
Figura 4. Diagnóstico molecular de <i>Sarcocystis aucheniae</i> por PCR semianidada dúplex.....	30

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Obtención de las muestras sanguíneas de alpacas y llamas del distrito de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, Ayacucho - 2025.	55
Anexo 2. Procesamiento de las muestras sanguíneas en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho – 2025.....	55
Anexo 3. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) semianidada dúplex aplicada a las muestras extraídas, utilizando tubos Strips.....	56
Anexo 4. Macroquistes de <i>Sarcocystis aucheniae</i> obtenidos de una alpaca faenada en el Camal Municipal de Huancavelica – 2025.	56
Anexo 5. Prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> en alpaca (<i>Vicugna pacos</i>).	57
Anexo 6. Prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> en llama (<i>Lama glama</i>).	57
Anexo 7. Extracción de ADN genómico de sangre de alpaca y llama mediante kit comercial (WIZARD® SV A2360)	58
Anexo 8. Registro de las muestras colectadas según el distrito, especie, categoría etaria y sexo, incluyendo los resultados de la PCR semianidada dúplex	59
Anexo 9. Evaluación estadística de la prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> según el distrito y la especie utilizando la prueba de Chi – cuadrado (X^2).	67
Anexo10. Evaluación estadística de la prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> según el sexo y categoría etaria utilizando la prueba de Fisher.	68
Anexo 11. Matriz de consistencia	70

RESUMEN

La sarcocistosis es una infección parasitaria provocada por el protozoo *Sarcocystis aucheniae* que representa un problema económico y sanitario en los Camélidos Sudamericanos (CSA), principalmente alpacas y llamas, debido a las pérdidas generadas por el decomiso de carne y la limitada detección temprana de la infección. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia del parásito *Sarcocystis aucheniae* en muestras de sangre de animales criados en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de la región de Ayacucho. Correspondió a un estudio no experimental, de tipo transversal y nivel descriptivo. Para detectar la presencia del parásito se extrajo el ADN genómico mediante un sistema de purificación WIZARD® SV A2360 a partir de muestras sanguíneas de Chuschi (n= 86), Sacsamarca (n=30) y Chipao (n= 66), se tuvo como control positivo al ADN de macroquistes y como control negativo ADN de muestras de sangre de crías de alpaca de dos meses de edad, seguido de la amplificación por PCR semianidada dúplex empleando cebadores específicos para el gen 18S ARNr del parásito. Los productos amplificados fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5%. La prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en alpacas en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao fueron de 13%, 37,9% y 27,8%, respectivamente, mientras que, la prevalencia del parásito en llamas en el distrito de Chuschi y Chipao fueron 29,4% y 25% respectivamente, ante la presencia de una banda específica de 583 pb, indicando la detección de ADN del parásito. Así mismo, la prevalencia general en alpacas y llamas fue de 23% y 26,7%, respectivamente. No hubo asociación estadística entre las variables distrito, sexo y categoría etaria con el parásito *Sarcocystis aucheniae*. En conclusión, la PCR semianidada constituye una herramienta útil para la detección molecular temprana de *Sarcocystis aucheniae* en muestras sangre antes de que se produzca una infección masiva; sin embargo, presenta limitaciones inherentes asociadas a la baja carga parasitaria circulante y a la naturaleza transitoria de la parasitemia, especialmente en infecciones crónicas donde el parásito se encuentra predominantemente enquistado en el tejido muscular.

Palabras clave: Prevalencia, *Sarcocystis aucheniae*, PCR semianidada dúplex, Camélidos Sudamericanos.

I. INTRODUCCIÓN

La sarcocistosis es una enfermedad parasitaria provocada por protozoarios del género *Sarcocystis*, la cual afecta a diversos tipos de hospederos, entre ellos los Camélidos Sudamericanos, como la alpaca y la llama (Decker, 2018). Además, esta infección se caracteriza por la formación de quistes macroscópicos musculares que por su apariencia similar a granos de arroz se le conoce como “arrocillo” o “triquina”, cuyo consumo puede ocasionar trastornos digestivos (Martín et al, 2016) como también la devaluación cárnica, generando pérdidas económicas para los productores alpaqueros debido a la depreciación del producto y su posterior decomiso por parte de las autoridades sanitarias (Decker, 2018). Esta enfermedad es altamente prevalente en regiones altoandinas, donde la crianza de alpacas y llamas constituye una de las principales actividades productivas de las comunidades rurales (FAO, 2018).

Uno de los principales inconvenientes de la sarcocistosis radica en la dificultad para lograr una detección temprana en animales vivos, ya que el diagnóstico tradicional se basa principalmente en evaluaciones *post mortem* mediante la inspección del tejido muscular. Frente a esta limitación, las técnicas moleculares, como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), se presentan como alternativas prometedoras, al permitir identificar el ADN del parásito incluso en fases iniciales de la infección (Decker et al, 2018). Ante ello, la PCR semianidada dúplex de muestras sanguíneas constituye una técnica con mayor sensibilidad diagnóstica que contribuye en mayor medida en el control de la sarcocistosis en alpacas y llamas (Rojas, 2022).

La naturaleza del problema radica en la dificultad de implementar métodos diagnósticos eficientes en animales vivos, lo cual limita la vigilancia epidemiológica y el control de la enfermedad (Wieser et al, 2024). A pesar de los avances en biología molecular, aún existe una brecha en la estandarización de protocolos que

permitan una detección confiable del parásito en sangre, especialmente en condiciones de campo (Decker et al, 2018).

Por ello, en este trabajo de investigación, se determinó la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de alpaca y llama mediante PCR semianidada dúplex, en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de la región de Ayacucho, para implementar y optimizar esta técnica molecular permitiendo la detección más temprana y confiable del parásito en animales vivos antes de una infección masiva. Esto permitirá contribuir a mejorar las estrategias de control sanitario, reducir las pérdidas económicas y fortalecer la producción de alpacas y llamas en las regiones altoandinas.

Para el desarrollo del presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Determinar la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de alpaca y llama mediante PCR semianidada dúplex en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de Ayacucho.

Objetivos específicos:

- Detectar la presencia de *Sarcocystis aucheniae* en muestras de sangre de alpacas y llamas mediante PCR semianidada dúplex.
- Detectar la presencia de *Sarcocystis aucheniae* en muestras de sangre de alpacas y llamas según el sexo mediante PCR semianidada dúplex.
- Detectar la presencia de *Sarcocystis aucheniae* en muestras de sangre de alpacas y llamas según la categoría etaria mediante PCR semianidada dúplex.
- Estimar la prevalencia de la parasitosis en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de la región Ayacucho.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

Actualmente, hay muy pocos estudios con respecto a la detección molecular de *Sarcocystis aucheniae* mediante PCR semianidada dúplex en muestras de sangre de alpacas y llamas, pero hay estudios sobre la identificación filogenética del parásito en sangre de alpacas y llamas a través de la PCR.

Además, con el progreso tecnológico se ha mejorado la especificidad y sensibilidad para su uso en el diagnóstico de enfermedades, ofreciendo una alternativa prometedora para la detección precoz y el monitoreo epidemiológico de la sarcocistosis en alpacas y llamas (Wieser et al, 2024).

Existen trabajos relacionados a esta última afirmación, en el diagnóstico del parásito *Sarcocystis aucheniae* por PCR semianidada dúplex en sangre de alpacas y llamas. Entre los primeros estudios se tiene a Decker et al. (2018), que desarrolló una PCR semianidada dúplex para detectar *Sarcocystis aucheniae* en sangre, encontrando una prevalencia del 18,7% en las muestras analizadas; aunque su estudio se centró en llamas es relevante debido a la similitud con las alpacas. Asimismo, demostró la utilidad de la PCR para identificar focos activos de infección del parásito mediante la relación entre presencia/ausencia de macrocistos y detección del parásito en una muestra sanguínea (merozoitemia).

Del mismo modo, el estudio realizado por Wieser et al. (2024) señala que, animales PCR-positivos, pero sin sarcocistos macroscópicos corresponden a infecciones tempranas, mientras que animales PCR-negativos, pero con sarcocistos positivos corresponderían a infecciones más antiguas en las que el parásito está confinado en el músculo y no circula en la sangre. La afirmación anterior está respaldada por el estudio de Martín et al. (2016) que muestra que, la PCR semianidada dúplex detecta ADN en sangre en etapas tempranas y discute que la ausencia de amplificación en muestras de sangre se debe a que los

parásitos ya están alojados como cistos en los músculos denominados macroquistes.

La técnica molecular de PCR semianidada dúplex se ha optimizado con los estudios posteriores, como el estudio de Rojas (2022) que evaluó la sensibilidad y especificidad de esta técnica molecular, para detectar *Sarcocystis aucheniae* en sangre de alpacas, logrando un límite de detección de 1 pg de ADN con una especificidad del 80%. Además, encontró una prevalencia del 32% en las muestras analizadas. Esta afirmación es similar a lo obtenido por Neyra (2025) que mostró una sensibilidad de hasta 0.46 pg de ADN genómico de *Sarcocystis aucheniae* por reacción. A través de estos resultados, se reafirmó la eficacia de esta técnica molecular en el diagnóstico de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de alpaca y llama, porque se encuentra en la etapa de diseminación.

El ciclo biológico de *Sarcocystis aucheniae* implica 3 etapas principales siendo así la de mayor importancia para detección por métodos moleculares la fase de diseminación, debido a que el parásito aún circula por el tejido sanguíneo antes de infectar los tejidos musculares (Wieser et al, 2024). Ante ello, Neyra (2025), investigó la presencia de ADN de *Sarcocystis aucheniae* en muestras de sangre de alpacas mediante un estudio longitudinal, donde encontró una frecuencia de positividad de 24 y también observó que la parasitemia era transitoria. Además, concluyó que no existía una relación significativa entre la presencia del parásito y factores como la edad del hospedador o las condiciones climáticas.

Con el avance de la tecnología, se han desarrollado otras pruebas de detección más específicas de este parásito en sangre de alpaca y llama, que se demuestra en el estudio de Valdez (2021) que desarrolló una evaluación exhaustiva del perfil global de proteínas utilizando electroforesis y espectrometría de masas, bajo un enfoque proteómico orientado al estudio de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de *Vicugna pacos*, considerándolo una herramienta de diagnóstico mucho más valiosa para el diagnóstico precoz, en particular para la identificación de *Sarcocystis* spp. que forma microquistes. Asimismo, sus resultados proporcionaron información valiosa sobre los mecanismos moleculares del parásito y su interacción con el hospedero, como la función de la lectina que se une a la galactosa para que se pueda adherir en la célula hospedera e iniciar la invasión celular, lo que podría contribuir al desarrollo de nuevas estrategias de diagnóstico y control. Otro método de detección, es el uso de marcadores moleculares, como el que utilizó Wu et al. (2022) para la caracterización

morfológica y molecular de *Sarcocystis masoni* en una alpaca en China, que eran los siguientes: 18S rDNA, 28S rDNA, ITS y cox1 mitocondrial, amplificados mediante PCR, resaltando su utilidad, seguida de la secuenciación, caracterizadas como herramientas precisas para la identificación de *Sarcocystis* spp., debido a que confirmaron la identidad genética del parásito en sarcocistos y ooquistes de perros infectados experimentalmente a través de un análisis PCR-RFLP, superando así las limitaciones de los métodos morfológicos tradicionales.

2.2. MARCO CONCEPTUAL

2.2.1. *Sarcocystis aucheniae*

El término *Sarcocystis* tiene origen etimológico griego, donde *sarkos* significa músculo y *kystis* hace referencia a una vesícula. Por tanto, *Sarcocystis* es un protozooario perteneciente al filo Apicomplexa y constituye el agente causal de la sarcocistosis. Esta infección se distingue por la presencia de múltiples quistes, estructuras semejantes a sacos que contienen numerosos parásitos y cuyo tamaño puede variar desde micrómetros hasta varios centímetros. Los quistes se localizan principalmente en el tejido muscular o nervioso de una amplia diversidad de especies animales. La descripción inicial de estas estructuras se remonta a 1843 en Suiza, cuando Miescher observó formaciones blanquecinas filamentosas en el músculo esquelético de un ratón doméstico (*Mus musculus*), las cuales posteriormente fueron denominadas túbulos de Miescher (Decker, 2018).

Ante ello, según el sistema de clasificación de Levine (1986), *Sarcocystis* sp. se clasifica de la siguiente manera:

Dominio:	Eucariota
Phylum:	Apicomplexa
Clase:	Sporozoasida
Sub-clase:	Coccidiasina
Orden:	Eucoccidiorida
Sub-orden:	Eimeriorina
Familia:	Sarcocystidae
Sub-familia:	Sarcocystinae
Género:	<i>Sarcocystis</i>

Fuente: Decker (2018)

2.2.2. Ciclo biológico de *Sarcocystis aucheniae*

Wieser et al. (2024) describe que los sarcocistos son protozoos coccidios intracelulares pertenecientes al filo Apicomplexa, que incluye varios parásitos de importancia médica y veterinaria; estos protozoarios se caracterizan por presentar un ciclo de vida díxénico o heteroxeno, es decir, que requiere al menos dos hospederos: un Hospedero Definitivo (HD), que es un perro, y un Hospedero Intermediario (HI), que es la alpaca o la llama. Forman sarcocistos en los tejidos del HI y liberan formas infectantes al medio tras la ingestión por el HD. La especie de mayor importancia veterinaria es *Sarcocystis aucheniae*, agente causante de la sarcocistosis en las alpacas (*Vicugna pacos*) y las llamas (*Lama glama*).

En el HI se produce la multiplicación asexual (merogonia) y en el HD la multiplicación sexual (gametogonia) seguida de la esporulación o maduración (esporogonia); asimismo, la gametogonia tiene lugar en células del epitelio intestinal, en donde los gametos se fusionan para formar una célula rodeada de una membrana o pared, denominada ooquiste que contiene 2 sacos ovoides o esporocistos con 4 esporozoítos cada uno (Helnan et al, s.f.).

Entre los diversos HD reportados (Mamani & Choque, 2020), el perro (*Canis lupus familiaris*) es el más propenso a infectarse con este parásito al consumir carne cruda o subproductos de alpacas y llamas; de esa manera, los bradizoítos contenidos en los macrocistos se liberan en el intestino delgado del can, donde ocurre la fase sexual para posteriormente recubrirse de una membrana y ser liberados al ambiente mediante las heces.

Las alpacas y la llamas, son los HI que ingieren los esporoquistes presentes en el agua o alimento contaminado; en consecuencia, se liberarán los esporozoítos e invadirán las células endoteliales ocurriendo la esquizogonia (reproducción asexual), es decir, se dará lugar a los merozoítos que se desplazarán a través del torrente sanguíneo para finalmente invadir las células musculares formando los macrocistos o quistes macroscópicos llenos de bradizoítos (Martín et al, 2016).

A partir de ello, se realizaron estudios *in vitro* para cultivar dichos cistozoítos extraídos de los macrocistos, que progresaron a esquizontes y luego a merozoítos en líneas celulares, para confirmar el desarrollo del estadio asexual extracorpóreo (Uzuriaga et al, 2025).

2.2.3. Patogenia

La infección por *Sarcocystis aucheniae* en las alpacas y llamas está caracterizada por tener un curso generalmente subclínico; sin embargo, su desarrollo comprende varias etapas con manifestaciones fisiopatológicas diferenciadas, desde la fase inicial de invasión hasta la formación de macroquistes en el músculo esquelético del HI.

a) Fase de infección intestinal y liberación de esporozoítos

La sarcocistosis empieza cuando el HI ingiere los esporoquistes presentes en el agua o alimentos contaminados, los esporozoítos presentes se liberan e ingresan en las células epiteliales intestinales dando inicio al proceso infeccioso, suele ser asintomático o presentar alteraciones leves debido a la rápida diseminación del parásito (Wieser et al, 2024).

b) Fase de diseminación vascular (merogonia)

Después de atravesar el intestino delgado, los esporozoítos ingresan al torrente sanguíneo y linfático invadiendo las células endoteliales de los vasos sanguíneos y tejidos, así mismo, ocurre la multiplicación asexual (merogonia) donde los merozoítos continúan infectando nuevas células generando daño vascular, inflamación leve y alteraciones sistémicas discretas, aunque en la mayoría de los casos no se observan signos clínicos evidentes (Dubey et al, 2015).

c) Fase de invasión muscular

Los merozoítos presentes en el tejido vascular migran al tejido estriado invadiendo las fibras musculares, luego empieza la diferenciación a bradizoítos para después encapsularse y dar lugar a una estructura quística denominada macroquiste (Moré et al, 2019).

d) Fase de formación de macroquistes (sarcocistos)

Los macroquistes son estructuras visibles a simple vista, característicos de *Sarcocystis aucheniae* (Palomino, 2013), que contienen numerosos bradizoítos y pueden alcanzar tamaños considerables comprometiendo significativamente la calidad cárnica, constituyendo el principal impacto económico de la enfermedad (Wieser et al, 2024). Los macroquistes presentan una organización estructural

compleja con características morfológicas externas e internas observables mediante microscopía electrónica y se desarrollan lentamente hasta alcanzar su estado de madurez (Palomino, 2013).

e) Fase crónica

Dentro del macroquiste formado en el músculo, el parásito permanece en estado latente; así mismo, la parasitemia desaparece dificultando la detección del ADN del parásito en sangre mediante técnicas moleculares, pero aún continúan siendo fuente de infección para los HD (Decker et al, 2018).

2.2.4. Epidemiología

La sarcocistosis causada por *Sarcocystis aucheniae* es una enfermedad ampliamente distribuida en las regiones altoandinas de Sudamérica, donde la crianza de alpacas y llamas constituye una actividad económica predominante (Moré et al, 2019). La transmisión del parásito está estrechamente relacionada con los sistemas de producción extensivos, en los cuales existe una convivencia constante entre HI (alpacas y llamas) y HD, principalmente perros (*Canis lupus familiaris*) (Wieser et al, 2024).

En el Perú, la sarcocistosis presenta una alta prevalencia que puede oscilar entre 20% y más del 90% dependiendo de la edad de los animales, método de diagnóstico empleado y de la región, especialmente en zonas altoandinas por encima de los 3 000 m s.n.m., donde las condiciones climáticas y de manejo favorecen la persistencia del parásito en el ambiente porque prolongan la supervivencia de las formas infectantes, facilitan su dispersión en el ambiente e incrementan la exposición de los hospederos (Leguía & Casas, 2018).

La prevalencia tiende a ser mayor en animales adultos debido a la exposición acumulativa al parásito a lo largo del tiempo (Moré et al, 2019); así mismo, la contaminación de pastos y fuentes de agua con esporoquistes eliminados en las heces de los perros constituye el principal mecanismo de infección para las alpacas y llamas (SENASA, 2020) y el manejo sanitario limitado contribuye a mantener el ciclo biológico del parásito (MIDAGRI, 2019), dificultando la estimación real de la prevalencia y la implementación de medidas sanitarias eficaces (Wieser et al, 2024).

2.2.5. Manifestaciones clínicas de la sarcocistosis en alpacas y llamas

Este parásito atenta contra la salud de las alpacas y llamas, así como también la economía de los productores pecuarios por los problemas sanitarios que provoca, limitando su producción; puesto que, permite el desarrollo de quistes macroscópicos que tienen la apariencia de granos de arroz compacto de color blanco, de 0,1 cm a 1 cm de largo y que tienden a crecer lentamente en el músculo esquelético, ocasionando el rechazo de su consumo y posterior confiscación por las autoridades sanitarias (Velásquez et al, 2019).

Además, los sarcocistos producidos por especies del género *Sarcocystis* pueden variar considerablemente en tamaño y visibilidad; algunas especies forman sarcocistos macroscópicos, visibles a simple vista durante la inspección *post mortem*, como *Sarcocystis aucheniae* en alpacas y llamas, *Sarcocystis hirsuta* en bovinos y *Sarcocystis gigantea* en ovinos; sin embargo, la mayoría de las especies de *Sarcocystis* producen quistes microscópicos, los cuales no son detectables a simple vista, aun cuando están presentes en gran número en el músculo esquelético o cardíaco del HI (Dubey et al, 2015).

La sarcocistosis suele ser asintomática en el HD como el perro, dado que la replicación del parásito se limita principalmente al epitelio intestinal; no obstante, en algunos casos pueden presentarse signos gastrointestinales, incluyendo diarrea aguda o crónica, especialmente en infecciones con altas cargas parasitaria (Dubey et al, 2015). En cuanto a los factores condicionantes que favorecen el desarrollo de la enfermedad clínica en el HI (Moré, 2021) son el estado inmunitario y la dosis de esporoquistes que logró consumir, aunque las infecciones naturales se producen frecuentemente con un número reducido de esporoquistes dando lugar a infecciones asintomáticas.

Conviene destacar que, en los perros, las infecciones repetidas por especies de *Sarcocystis* inducen una respuesta de resistencia parcial, caracterizada por una menor eliminación de esporoquistes, un alargamiento del período prepotente (la producción de esporoquistes por el parásito tarda más tiempo) y un acortamiento del período patente (la eliminación de los esporoquistes por el perro se da en menos tiempo), lo que contribuye a disminuir la intensidad de la excreción parasitaria (Mandal & Shah, 1987).

Asimismo, el ser humano puede actuar como HI de algunas especies del género *Sarcocystis*, desarrollando sarcocistosis muscular tras la ingestión de esporoquistes induciendo miositis, vasculitis, dolor muscular, fiebre y eosinofilia,

donde la gravedad de los signos clínicos depende de la carga parasitaria y de la respuesta inmunitaria del hospedador (Dubey et al, 2015).

2.2.6. Importancia de las alpacas y llamas y repercusiones de la sarcocistosis muscular

Las alpacas (*Vicugna pacos*) y llamas (*Lama glama*) representan una especie clave en las economías altoandinas, no solo por su valor cultural e histórico, sino también por su significativa contribución al sustento de comunidades rurales, asimismo, su crianza está ligada a la seguridad alimentaria, la economía familiar y la identidad cultural de poblaciones que habitan zonas por encima de los 3 500 m s.n.m., donde otras formas de ganadería resultan menos viables (FAO, 2021), debido a que presentan adaptaciones fisiológicas notables que les permiten sobrevivir en condiciones extremas de hipoxia, bajas temperaturas y escasez de recursos (Wheeler, 2012).

En el ámbito sanitario, las alpacas y llamas son susceptibles a diversas enfermedades parasitarias, entre ellas la sarcocistosis muscular causada por *Sarcocystis aucheniae*, la cual genera pérdidas económicas significativas debido al decomiso de carnes contaminadas por la disminución de su calidad y afecciones a la salud, afectando directamente la comercialización y el valor del producto (Decker et al, 2018). Aunque la infección parasitaria suele ser subclínica, provoca debilidad, pérdida de peso, abortos y mortalidad neonatal (García et al, 2019).

A. Importancia económica y productiva de la alpaca y llama

Fibra. Es la principal fuente de ingresos, especialmente de la alpaca y la vicuña, reconocida internacionalmente por su suavidad, resistencia y calidad, por ejemplo, el estado peruano concentra más del 80 % de la población mundial de alpacas y es el principal exportador de fibra a nivel global (MIDAGRI, 2022).

Carne. La carne de alpaca y llama posee importancia creciente en los mercados locales y regionales por su bajo contenido graso y alto valor proteico, donde su comercialización está asociada a la manutención de los ganaderos, abastecimiento de mercados municipales y para venta en mataderos autorizados; sin embargo, enfermedades como la sarcocistosis afectan directamente su valor comercial, provocando decomisos en mataderos y pérdidas económicas significativas (Mamani & Choque, 2020).

Piel. Las pieles de las alpacas y llamas presentan características favorables para la industria manufacturera, como buena resistencia mecánica, elasticidad y capacidad de adaptación a diversos procesos de curtido, permitiendo la elaboración de prendas de vestir, calzado, artículos de marroquinería y artesanías (FAO, 2018).

Asimismo, el uso del cuero de alpaca y llama posee relevancia cultural y artesanal en las poblaciones andinas, donde tradicionalmente se ha empleado en la elaboración de utensilios, vestimenta u objetos de uso cotidiano, promoviendo el desarrollo económico local (Quispe et al, 2019).

Otros subproductos y servicios. Entre ellos encontramos el estiércol usado como abono y combustible, por otra parte, brindan servicios de carga y movilidad siendo la más utilizada las llamas, en comunidades rurales donde el transporte mecanizado es limitado (FAO, 2018).

Además, constituyen un eje de identidad cultural en festividades, rituales y prácticas ancestrales, siendo parte esencial de la cosmovisión andina (Risi, 2020).

B. Importancia socioeconómica y cultural de la crianza de alpacas y llamas

Las alpacas (*Vicugna pacos*) y la llamas (*Lama glama*), constituyen una de las actividades pecuarias más importantes de las zonas altoandinas de Perú, Bolivia, Chile y Argentina, en ecosistemas por encima de los 3 500 m s.n.m., donde las condiciones climáticas limitan la producción de otras especies pecuarias (FAO, 2023).

En el Perú, la crianza de alpacas y llamas constituye una actividad económica estratégica para miles de familias campesinas (MIDAGRI, 2024). De acuerdo con el último Censo Nacional Agropecuario, más de 120 000 unidades agropecuarias se dedican a la crianza de alpacas, mientras que decenas de miles de productores mantienen rebaños de llamas, concentrándose principalmente en las regiones de Puno, Cusco, Arequipa, Ayacucho, Huancavelica y Apurímac (INEI, 2012).

Se estima que entre el 70 % y el 80 % de los ingresos familiares anuales de las comunidades dedicadas a la producción de alpacas y llamas provienen de esta actividad productiva (MIDAGRI, 2020). Asimismo, el país cuenta con aproximadamente 92 700 productores alpaqueros, de los cuales el 76 % corresponde a pequeños productores familiares, evidenciando la importancia

socioeconómica de estos animales para la subsistencia de miles de familias rurales (MIDAGRI, 2022).

El Perú alberga aproximadamente el 87 % de la población mundial de alpacas, lo que lo convierte en el principal productor de esta especie a nivel global. Según estadísticas recientes del Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI), el país cuenta con más de 3,5 millones de alpacas y alrededor de 1,5 millones de llamas, concentradas principalmente en la sierra sur, que sustentan una cadena productiva orientada a la obtención de fibra, carne, cuero y otros subproductos de alto valor económico (MIDAGRI, 2024).

C. Impacto económico, social y cultural de la sarcocistosis muscular

1. Impacto económico. Desde el punto de vista económico, la principal consecuencia de la infección es el decomiso parcial o total de carnes infectadas en los mataderos, debido a que, los sarcocistos visibles a simple vista reducen el valor comercial de la carne, afectando directamente a los productores rurales, que dependen de esta actividad como fuente primaria de ingresos; bajo los estudios realizados en Bolivia evidencian que la sarcocistosis genera pérdidas económicas significativas por kilo de carne decomisada, especialmente en mercados locales donde no existen protocolos para el aprovechamiento alternativo de canales afectadas (Mamani & Choque, 2020).

En algunos casos, más del 60 % de los animales faenados presentan sarcocistos musculares, lo que implica una pérdida considerable para el pequeño productor (Martín et al, 2016). Además, la alta prevalencia afecta la reputación del producto, limitando su comercialización en mercados más exigentes o de exportación (Decker et al, 2020).

2. Impacto social. Al ser las alpacas y llamas un pilar de sustento en comunidades altoandinas, las pérdidas económicas derivadas de esta parasitosis afectan la seguridad alimentaria, el acceso a bienes básicos y la estabilidad económica de familias rurales; cabe reconocer, que muchas comunidades tienen un acceso limitado a servicios veterinarios, laboratorios de diagnóstico o políticas públicas orientadas al control parasitario, lo que perpetúa un ciclo de vulnerabilidad socioeconómica (FAO, 2021).

3. Impacto cultural. Las alpacas y llamas tienen una profunda relación con las cosmovisiones andinas, debido a que son utilizados en rituales, festividades y

prácticas religiosas, siendo considerados animales sagrados y símbolos de identidad ancestral; no obstante, la sarcocistosis provoca un cambio en la percepción de la carne de llama o alpaca, considerándola como "impura" o inadecuada para el consumo ceremonial o festivo cuando se observan los macroquistes, lo que erosiona las prácticas tradicionales (Risi, 2020).

Asimismo, en ciertas comunidades se asocia la presencia de "granos" (sarcocistos) en la carne a mal manejo o "mal augurio", reforzando el rechazo del producto en contextos rituales y limitando su aceptación social, incluso si es inocua tras cocción (García et al, 2019).

2.2.7. Determinación de la edad mediante la erupción dentaria en alpacas y llamas

La determinación de la edad en alpacas y llamas constituye una práctica fundamental en el manejo zootécnico, la selección de reproductores, la evaluación productiva y los estudios epidemiológicos (Franco et al, 2009) frente a la sarcocistosis.

En alpacas y llamas, la estimación de la edad se realiza principalmente mediante la evaluación del grado de erupción y desgaste de los incisivos permanentes, debido a que este método es práctico, económico y aplicable en condiciones de campo (Sumar & Bravo, 1996). La cronología de la erupción dentaria permite clasificar a los animales en diferentes categorías etarias, facilitando el análisis de variables asociadas al crecimiento, la reproducción y la susceptibilidad a enfermedades, y es similar para alpacas y llamas (Franco et al, 2009).

Las alpacas y llamas nacen con incisivos deciduos o dientes de leche, los cuales son reemplazados progresivamente por incisivos permanentes a medida que el animal madura, dando lugar a las categorías dentarias ampliamente utilizadas en campo, tales como dientes de leche, dos dientes (2D), cuatro dientes (4D), seis dientes (6D) y boca llena (BLL) (Franco et al, 2009). La evaluación de estas categorías constituye una herramienta útil para estimar la edad cuando no se dispone de registros de nacimiento (Fernández, 1991).

De manera general, el primer par de incisivos permanentes centrales aparece entre los 2 y 2,5 años de edad, dando origen a la categoría denominada "dos dientes"; el segundo par de incisivos permanentes erupciona aproximadamente entre los 3 y 3,5 años, correspondiendo a la categoría "cuatro dientes" y el tercer par de incisivos permanentes emerge entre los 4 y 4,5 años, formando la categoría

“seis dientes” (Fowler, 2010). Finalmente, la erupción del cuarto par de incisivos permanentes ocurre alrededor de los 5 años de edad, momento en el cual el animal es clasificado como “boca llena” (Bravo et al, 2018).

Esta categorización no es exacta debido a que no existe un medio concreto de fácil acceso para calcular la edad de los animales, aunque existen otras alternativas menos aplicadas como los microchips (Franco et al, 2009).

La clasificación por categoría dentaria es ampliamente utilizada en investigaciones epidemiológicas debido a que permite evaluar la asociación entre la edad y la presentación de enfermedades infecciosas y parasitarias, como la sarcocistosis (Wieser et al, 2024)

2.2.8. PCR semianidada dúplex

La PCR es una técnica de biología molecular ampliamente utilizada para la amplificación específica de fragmentos de ADN, permitiendo su detección y análisis con alta sensibilidad (Martín et al, 2016).

La PCR anidada se basa en la realización de dos rondas de amplificación consecutivas: la primera utiliza un par de cebadores externos que amplifican una región génica amplia, mientras que la segunda emplea uno de los cebadores originales y un cebador interno que se encuentra dentro del fragmento previamente amplificado, generando un producto más corto y específico (Sambrook & Russell, 2001), dentro de sus variantes, la variante semianidada conserva esta lógica, pero mantiene uno de los cebadores externos en ambas rondas, lo que facilita el diseño experimental y disminuye el riesgo de contaminación cruzada, además de aumentar la especificidad y sensibilidad del diagnóstico molecular, especialmente en infecciones parasitarias donde la carga del patógeno puede ser baja o intermitente (Martín et al, 2016).

Sin embargo, la PCR dúplex permite la amplificación simultánea de dos blancos génicos distintos en una sola reacción, utilizando dos pares de cebadores independientes, permitiendo realizar controles internos en una misma reacción o para detectar coinfecciones o múltiples variantes génicas (Nolan et al, 2006).

Con respecto al protozoo *Sarcocystis aucheniae*, agente etiológico de la sarcocistosis macroscópica en alpacas y llamas, la PCR semianidada dúplex ha sido validada como un método eficaz para su detección en sangre periférica, durante la etapa sistémica del parásito (merozoitemia) (Decker et al, 2018). Asimismo, ha demostrado ser útil en el ámbito del diagnóstico precoz, antes de la

formación de los macrocistos musculares, lo que representa un avance significativo para los programas de control sanitario, ya que evita pérdidas económicas asociadas al decomiso de carne contaminada en los mataderos (Martín et al, 2016).

2.2.9. Gen ARNr 18S

El gen del ARN ribosomal 18S (ARNr 18S) que forma parte de la subunidad pequeña (40S) de los ribosomas eucariotas, constituye uno de los marcadores moleculares más utilizados en estudios taxonómicos, filogenéticos, diagnóstico molecular y análisis evolutivos de organismos eucariotas, debido a su amplia distribución permiten el diseño de cebadores universales (Hadziavdic et al, 2016) que van dirigidos a regiones conservadas compartidas entre especies relacionadas y regiones más variables que aumentan la especificidad en la identificación del parásito (Tan et al, 2017). Además, el gen ARNr 18S ha sido considerado uno de los mejores marcadores universales para eucariotas debido a su presencia en todos los grupos eucariotas y a la disponibilidad de extensas bases de datos de secuencias de referencia (Decelle et al, 2014).

Este gen forma parte de la unidad repetitiva del ADN ribosomal nuclear (ADNr), la cual incluye al gen 5,8S, gen 18S y gen 28S separados por regiones espaciadoras, además, se encuentra organizada en múltiples copias en Tándem dentro del genoma de los eucariotas, incrementando la sensibilidad de detección en muestras con baja carga parasitaria como en muestras sanguíneas (Decker et al, 2018). Esta elevada representación genética explica por qué el gen ARNr 18S es uno de los blancos más utilizados en protocolos de PCR para el diagnóstico de protozoarios parásitos; sin embargo, debido a la conservación de algunas regiones entre especies relacionadas, la especificidad de la detección depende en gran medida del diseño adecuado de los cebadores y de las condiciones de amplificación empleadas (Hadziavdic et al, 2016).

Durante la síntesis proteica, el ARNr 18S desempeña un papel fundamental en el reconocimiento y alineamiento del ARN mensajero (ARNm) y del ARN de transferencia (ARNt), contribuyendo a la correcta decodificación de la información genética durante el proceso de traducción (Hadziavdic et al, 2016).

La estructura del gen ARNr 18S comprende nueve regiones hipervariables (V1-V9) distribuidas entre segmentos conservados que permiten el diseño de cebadores universales capaces de amplificar secuencias de una amplia diversidad

de organismos eucariotas, mientras que las regiones variables proporcionan información suficiente para diferenciar especies, géneros e incluso poblaciones relacionadas filogenéticamente, ambas características favorecen su uso como marcador de referencia para la detección molecular de protozoarios pertenecientes al filo Apicomplexa, incluyendo especies del género *Sarcocystis* (Hadziavdic et al, 2016).

En los parásitos del género *Sarcocystis*, el gen ARNr 18S ha sido ampliamente utilizado para la identificación específica debido a que presenta secuencias conservadas que facilitan la amplificación por PCR y regiones variables que permiten discriminar entre especies estrechamente relacionadas, no obstante, debido a la naturaleza conservada del gen, puede ocurrir amplificación inespecífica si las condiciones de la PCR no están adecuadamente optimizadas (Decker et al, 2018). Esta característica resulta especialmente importante porque muchas especies de *Sarcocystis* presentan similitudes morfológicas en diferentes estadios de desarrollo, dificultando su identificación mediante métodos microscópicos convencionales. Por ello, las técnicas moleculares basadas en el ARNr 18S han incrementado significativamente la sensibilidad y especificidad diagnóstica (Wang et al, 2014).

La PCR convencional, anidada y semianidada dirigida al gen ARNr 18S ha demostrado ser una herramienta eficaz para la detección de ADN parasitario en diferentes matrices biológicas, incluyendo tejidos musculares, sangre y muestras ambientales (Aivelo et al, 2020). En el caso de *Sarcocystis aucheniae*, la amplificación de fragmentos específicos del gen ARNr 18S permite identificar la presencia del parásito incluso cuando la carga parasitaria es baja, constituyendo una alternativa diagnóstica más sensible que la inspección macroscópica o microscópica de los quistes musculares, y es particularmente relevante en infecciones tempranas o en animales vivos donde los macroquistes aún no son evidentes (Hadziavdic et al, 2016).

En la presente investigación se emplearon cebadores dirigidos al gen ARNr 18S de *Sarcocystis aucheniae* para la detección molecular del parásito mediante PCR semianidada. La selección de este marcador se fundamentó en su amplia utilización en estudios de diagnóstico molecular, su elevada sensibilidad y la disponibilidad de secuencias específicas que permiten diferenciar a *Sarcocystis aucheniae* de otros organismos presentes en muestras sanguíneas de alpacas y llamas. Ha sido empleado por algunos estudios (Martín et al, 2016; Decker et al,

2018) porque la región del gen ARNr 18S es polimórfica que da lugar al desarrollo de técnicas de identificación o diagnóstico de especies de interés parasitológico (Carletti et al, 2013).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Características de la zona de estudio

Las tres zonas de estudio presentan condiciones ecológicas propias de los ecosistemas altoandinos, caracterizadas por altitudes elevadas, clima frío y disponibilidad de pastos naturales, lo que favorece la crianza extensiva de alpacas y llamas y, por ende, la transmisión de *Sarcocystis aucheniae* (Wieser et al, 2024).

3.1.1. Chuschi

El distrito de Chuschi se ubica en la provincia de Cangallo, en la región Ayacucho, a una altitud de 3 600 a 3 800 m s.n.m., formando parte de la región natural de la sierra sur del Perú. Presenta un clima frío y seco, con temperaturas que oscilan entre 5 y 15 °C y precipitaciones concentradas entre noviembre y marzo.

El relieve es accidentado, con predominio de zonas altoandinas, pastizales naturales (puna) y suelos aptos para la crianza de alpacas y llamas, como principal actividad económica (INEI, 2017).

3.1.2. Sacsamarca

El distrito de Sacsamarca se localiza en la provincia de Huanca Sancos, también en la región de Ayacucho, a una altitud de 3 500 a 3 900 m s.n.m. y presenta un clima frío altoandino, con temperaturas promedio entre 4 y 14°C, con lluvias estacionales.

Su geografía está compuesta por montañas, quebradas y extensas áreas de pastos naturales, que sustentan la ganadería extensiva, especialmente de alpacas y llamas (MINAGRI, 2019).

3.1.3. Chipao

El distrito de Chipao pertenece a la provincia de Lucanas, en la región Ayacucho. Se encuentra a una altitud de 3 200 a 3 500 m s.n.m., con un clima templado frío y seco, caracterizado por temperaturas entre 8 y 18 °C. Presenta una topografía variada con valles interandinos y áreas altoandinas, lo que permite la actividad productiva agrícola y pecuaria, destacando la crianza de alpacas y llamas (INEI, 2017).

3.1.4. Mapa de ubicación y coordenadas geográficas

Tabla 1. Coordenadas geográficas de los centros poblados de los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, Ayacucho.

Centro Poblado	Distrito	Provincia	Este (m)	Norte (m)	Zona UTM	Datum
Lerccona	Chuschi	Cangallo	547496.65	8511907.79	18S	WGS 84
Yupana	Chuschi	Cangallo	546319.69	8513990.34	18S	WGS 84
Chicllarazo	Chuschi	Cangallo	554363.31	8511918.11	18S	WGS 84
Pallca	Chuschi	Cangallo	567999.36	8502398.77	18S	WGS 84
Huacraccocha	Chuschi	Cangallo	549149.26	8513599.64	18S	WGS 84
Pucruhuasi	Chuschi	Cangallo	553757.31	8511673.49	18S	WGS 84
Tuco	Chuschi	Cangallo	557297.05	8507467.03	18S	WGS 84
Choccoro	Chuschi	Cangallo	561129.02	8512669.21	18S	WGS 84
Rumichaca	Chuschi	Cangallo	544764.26	8520786.71	18S	WGS 84
Cerce	Chuschi	Cangallo	560490.50	8502508.68	18S	WGS 84
Puncupata	Chuschi	Cangallo	564928.04	8511197.59	18S	WGS 84
Putaccasa	Sacsamarca	Huanca sancos	586490.05	8439190.04	18S	WGS 84
Chipao	Chipao	Lucanas	621187.60	8411528.23	18S	WGS 84
Yanama	Chipao	Lucanas	641316.27	8404395.47	18S	WGS 84
Pallcca	Chipao	Lucanas	630707.33	8388523.75	18S	WGS 84
Huataccocha	Chipao	Lucanas	649964.47	8397630.71	18S	WGS 84
Asabamba	Chipao	Lucanas	629523.43	8397255.42	18S	WGS 84



Figura 2. Mapa político de ubicación de las zonas de investigación: distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de la región de Ayacucho, incluyendo las zonas de muestreo (centros poblados).

3.2. Variable e indicadores

3.2.1. Variables de estudio

1. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae*
 - Frecuencia de animales positivos (amplicones de 583 pb)
 - Frecuencia de animales negativos (ausencia de amplicones)
2. Especies hospedadoras (CSA): *Vicugna pacos* y *Lama glama*
3. Ubicación geográfica: Chuschi, Sacsamarca y Chipao.
4. Sexo: hembra y macho.
5. Categoría etaria (Franco et al, 2009): 2D, 4D y BLL

3.3. Definición de las muestras

3.3.1. Población

La población de estudio estuvo conformada por sangre de alpacas (*Vicugna pacos*) y llamas (*Lama glama*) de la región de Ayacucho, de los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, criadas en sistemas extensivos por comunidades campesinas.

- Población 1: Alpacas

Sangre de la especie *Vicugna pacos*, de ambos sexos y edades mayores de dos años, procedentes de los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao.

- Población 2: Llamas

Sangre de la especie *Lama glama*, de ambos sexos y edades mayores de dos años, procedentes de los mismos distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao.

3.3.2. Muestras

Ciento cincuenta y dos muestras de sangre (5 mL) de alpaca (*Vicugna pacos*), criados en los distritos de Chuschi (n = 69), Sacsamarca (n= 29) y Chipao (n = 54). Treinta muestras de sangre (5 mL) de llama (*Lama glama*), que también se criaron en los distritos de Chuschi (n = 17), Sacsamarca (n = 1) y Chipao (n = 12).

3.3.3. Selección de animales

Las alpacas y llamas pertenecían a pequeños y medianos productores de diferentes comunidades del distrito de Chuschi (2 Lerjona, 4 Yupana, 5 Chicllarazo, 5 Pallca, 3 Huacraccocha, 3 Pucruhuasi, 24 Tuco, 12 Choccoro, 20

Rumichaca, 2 Cerce, 6 Puncupata), Sacsamarca (30 Putaccasa) y Chipao (2 Chipao, 25 Yanama, 9 Pallca, 4 Huataccocha, 26 Asabamba).

Los criterios de inclusión fueron:

- Animales aparentemente sanos: buen apetito, buen pelaje y enérgicos, de la especie *Vicugna pacos* y *Lama glama*
- Edad superior de dos años
- Consentimiento del propietario para la toma de muestra

Mientras que, los criterios de exclusión fueron:

- Tubos de recolección de muestras de sangre que carecían de identificación
- Animales con información incompleta respecto a variables de estudio como categoría dentaria o comunidad de procedencia
- Muestras de sangre con volumen insuficiente para realizar la extracción de ADN y los análisis moleculares correspondientes
- Muestras que presentaron contaminación visible que pudiera afectar la obtención del paquete celular

3.4. Diseño del estudio

Diseño no experimental, de tipo transversal y nivel descriptivo.

Se evaluaron 182 unidades de sangre de alpacas y llamas de tres distritos de la región de Ayacucho (Chuschi, Sacsamarca y Chipao), de las siguientes comunidades: Lerjona, Yupana, Chicllarazo, Pallca, Huacraccocha, Chicllarazo, Pucruhuasi, Tuco, Choccoro, Rumichaca, Cerce, Puncupata, Putaccasa, Chipao, Yanama, Pallca, Huataccocha y Asabamba respectivamente; asimismo, los dos controles según Decker et al. (2018) fueron:

Control positivo: ADN de los sarcocistos presentes en la carne de alpaca contaminada, que se adquirió y conservó en dos tiempos diferentes (1 mes y 6 meses respectivamente). Primero se realizó una inspección visual en el músculo esquelético principalmente en la región cervical y en el resto de la carcasa; el tejido seleccionado con macroquistes se acondicionó en un *cooler* con gel de refrigeración a 4°C encima de un cartón para evitar la quemadura por frío y lograr conservar las células hasta su evaluación, se trasladó al laboratorio para su debido procesamiento.

Control negativo: ADN de muestras de sangre de crías de alpaca de dos meses de edad del distrito de Chuschi, de la comunidad de Puncupata. Las alpacas bebés seleccionadas aun dependían de la leche materna de modo que no estaban infectadas con el parásito porque aún no consumían pasto y agua donde están presentes las formas infectivas.

3.5. Metodología

3.5.1. Toma de muestras

Primero, se extrajo aproximadamente cinco mililitros de sangre de la vena yugular de alpacas y llamas, previa desinfección con alcohol, en tubos *vacutainer* que contenían citrato de sodio al 3,8% como anticoagulante, después se homogenizó durante 30 s para evitar la coagulación de las muestras. Finalmente, cada muestra se rotuló con un código individual y se registró en una ficha que incluía lo siguiente:

- Nombre del ganadero o productor
- Localidad o comunidad de procedencia (Chuschi, Sacsamarca o Chipao)
- Camélido muestreado (alpaca o llama)
- Raza (H: huacaya, Q: qara y S: suri)
- Sexo (macho o hembra)
- Categoría etaria o edad (DL: dientes de leche, 2D: dos dientes, 4D: cuatro dientes y BLL: boca llena)
- Número de muestra
- Fecha de muestreo

3.5.2. Transporte y conservación de las muestras

Las muestras sanguíneas de alpacas y llamas se rotularon y se acondicionaron en un *cooler* con gel de refrigeración a 4°C, dentro de las 24 h posteriores a la recolección y se trasladaron al Laboratorio de Biotecnología Reproductiva de la EEA Canaán–INIA-Ayacucho, donde las muestras obtenidas se almacenaron en una congeladora a -20 °C hasta su procesamiento y/o análisis.

Se utilizaron gradillas de metal plastificadas como soporte de los tubos con muestras sanguíneas manteniendo los tubos en posición vertical, aquello permitió que durante el descongelamiento haya sedimentación para favorecer una separación de la mayor cantidad del paquete celular y por ende mayor cantidad de material genético.

3.5.3. Extracción de ADN genómico de sangre de alpaca y llama y macroquistes de *Sarcocystis aucheniae*

El ADN genómico de las muestras de sangre de alpacas y llamas de los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao se extrajo a partir de 200 µL de cada muestra, recuperados del fondo del tubo *vacutainer*, mediante el sistema de purificación de ADN genómico WIZARD® SV A2360 que emplea minicolumnas; el proceso de extracción se basó en tres fases: fase de digestión, fase de lavado y fase de elución (ver Anexo 5) (Promega, 2012). El procedimiento del lavado del paquete celular se adaptó del estudio de Carletti et al. (2013), quién empleó PBS para lavar y diluir los bradizoítos obtenidos de los macroquistes. Los pasos de la extracción se muestran a continuación:

- Se preparó la solución de digestión con solución de lisis nuclear, EDTA, proteinasa K y RNasa
- Se tomaron 200 µL de sangre y se centrifugaron para obtener el paquete celular a 21 138 x g
- El pellet celular se lavó con PBS 1X y se centrifugó nuevamente para eliminar impurezas a 21 138 x g
- El pellet obtenido se resuspendió en la solución de digestión y se incubó a 55 °C para favorecer la lisis celular
- Se añadió el buffer de lisis Wizard® SV y el lisado se homogeneizó mediante el uso del vortex
- El lisado se transfirió a la minicolumna Wizard® SV y se centrifugó a 21 138 x g para permitir la unión del ADN a la membrana de sílice
- La columna se lavó repetidamente con la solución de lavado CWA para eliminar proteínas, sales y otras impurezas
- Se realizó un centrifugado adicional para secar completamente la membrana de la columna a 21 138 x g
- El ADN genómico se eluyó con 50 µL de agua libre de nucleasas y se recuperó mediante centrifugación a 21 138 x g
- El ADN purificado se almacenó a -20 °C hasta su utilización en la PCR semianidada dúplex

Para la extracción de ADN de macroquistes de *Sarcocystis aucheniae*, estos fueron aislados del músculo cervical de una alpaca faenada en el Camal Municipal de Huancavelica, utilizando una pinza estéril. Posteriormente, los macroquistes se

colocaron en tubos Falcon y se lavaron con PBS 1X por tres veces. Seguidamente, se procedió a su trituración en un mortero estéril empleando nitrógeno líquido, con el fin de facilitar la liberación del material genético (Rojas, 2022). Finalmente, se realizó la extracción del ADN genómico siguiendo el protocolo de extracción Fenol Cloroformo (Ambion, 2009). Las muestras de ADN fueron eluidas en 50 µL de agua MilliQ y posteriormente se almacenaron a 4 °C.

3.5.4. Amplificación por PCR semianidada dúplex

Se procedió de la siguiente manera: 7,5 µL de Go Taq® G2 Green Master Mix (Promega, USA), 1 µL (10 µM) de cada cebador para el gen de *Sarcocystis aucheniae* y 4,5 µL de agua MilliQ. Se utilizó 1 µL de ADN genómico en la primera ronda y el amplicón de la misma para la amplificación secundaria, teniendo un volumen final de reacción de 15 µL.

La PCR semianidada se llevó a cabo en dos rondas: en la primera se emplearon los *primers Forward 1* (cocc18S-F1) y *Reverse* (Sauch-R-18S), junto con los demás reactivos, para amplificar un fragmento de 730 pb del gen ARNr 18S; posteriormente, en la segunda ronda, se utilizaron los *primers Forward 2* (scocc18S-F2) y el mismo *Reverse* (Sauch-R-18S), con el fin de obtener un fragmento de 583 pb del mismo gen a partir del producto previamente amplificado. Las condiciones de ciclaje se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de ciclaje de la PCR semianidada dúplex. Modificado de Decker et al. (2018)

Ítem	Etapas de PCR	Temperatura	Tiempo	Número de ciclos
1	Desnaturalización inicial	95°C	2 min	
	Desnaturalización	95°C	30 s	
2	Alineamiento	62.2°C (primera ronda) 64.1°C (segunda ronda)	30 s	32 ciclos 30 ciclos
	Extensión	72°C	30 s	
3	Extensión final	72°C	5 min	
	Refrigeración	4°C	∞	

Tabla 3. Primers empleados para amplificar el gen ARNr 18S de *Sarcocystis aucheniae*. Obtenido de Decker et al. (2018).

Cebadores	Secuencia	Tamaño del gen amplificado
<i>Forward 1:</i> cocc18S-F1	5´-GAAAGTTAGGGGCTCGAAGA-3´	730 pb
<i>Reverse</i> Sauch-R-18S	5´-CCAATCCATACTTGGAAAAACGG-3´	
<i>Forward 2:</i> scocc18S-F2	5´-GACGGAAGGGCACCACCAGG-3´	583 pb
<i>Reverse</i> Sauch-R-18S	5´-CCAATCCATACTTGGAAAAACGG-3´	

3.5.5. Electroforesis

Los productos de la PCR fueron visualizados por electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % a 60V por 60 min al cual se le añadió bromuro de etidio al 1% (5 µL por 100 mL de gel de agarosa), además, se empleó el buffer TBE (Tris – Borato – EDTA, pH 8). En uno de los pocillos se colocó un marcador de tamaño molecular de 1 Kb (Promega, USA). Los amplicones se observaron en un transiluminador UV (*LabNet Dynalight UV Transilluminator*).

3.5.6. Análisis de los datos

Los resultados de cada animal (positivo o negativo por PCR y electroforesis) se registraron en una base de datos en el programa Excel, junto con sus variables identificativas (especie y localidad). Luego se calculó el porcentaje de positivos y negativos para *Sarcocystis aucheniae* ante la presencia o ausencia de la banda de 583 pb, con ello se determinó la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de alpaca y llama en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, y su asociación con las variables sexo y categoría etaria. Para evaluar la asociación entre la presencia de *Sarcocystis aucheniae* y la variable distrito, se empleó la prueba de Chi-cuadrado (χ^2). Para las variables sexo y categoría etaria se utilizó la prueba exacta de Fisher, debido a la presencia de frecuencias esperadas menores a 5 y se consideró un nivel de significancia estadística de 95% ($p < 0,05$).

IV. RESULTADOS

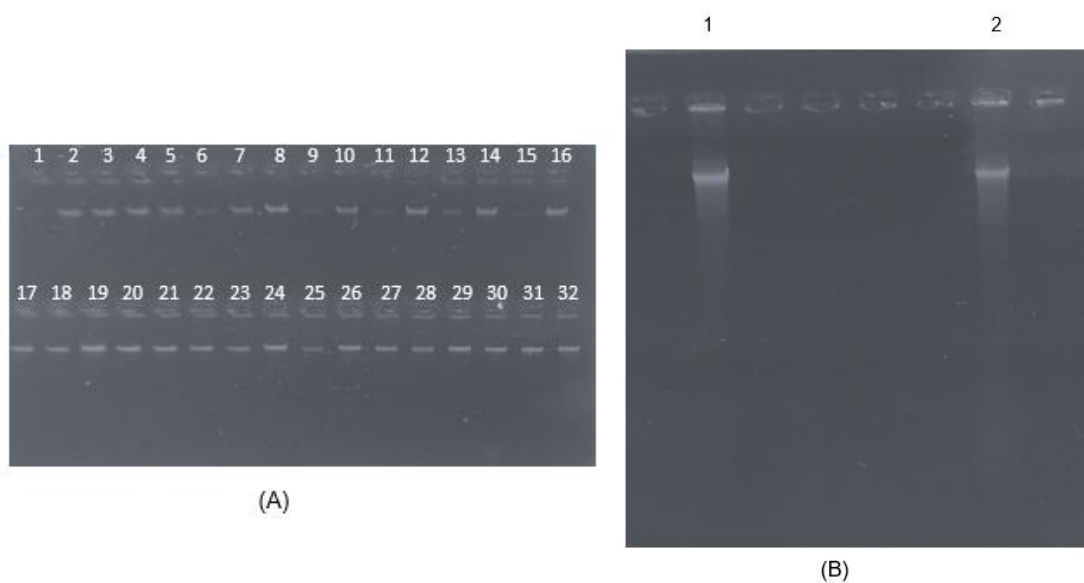


Figura 3. ADN genómico aislado de muestras sanguíneas de alpaca y llama, carriles del 1 al 16 (alpaca) y carriles del 17 al 32 (llama) por 2 métodos de extracción en gel de agarosa al 1%. (A) Método de extracción por Kit comercial WIZARD® SV A2360; carriles 1 al 32 muestran la calidad de la extracción y corresponden a muestras de los distritos de Chuschi (carriles 8, 9, 10, 11, 12, 13, 26, 27, 28, 29, 30, 31 y 32), Sacsamarca (carriles 14, 15, 16 y 17) y Chipao (carriles 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 y 25). (B) Método de Fenol Cloroformo para los macroquistes obtenidos de una alpaca faenada en el Camal Municipal de Huancavelica, que constituye el control positivo en las reacciones de PCR semianidada dúplex; carril 1: ADN de macroquistes obtenidos de una alpaca faenada recientemente; carril 2: ADN de macroquistes almacenados durante 6 meses a -20°C . Todos los geles se colorearon con bromuro de etidio al 1%. Laboratorio de Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH. 2025

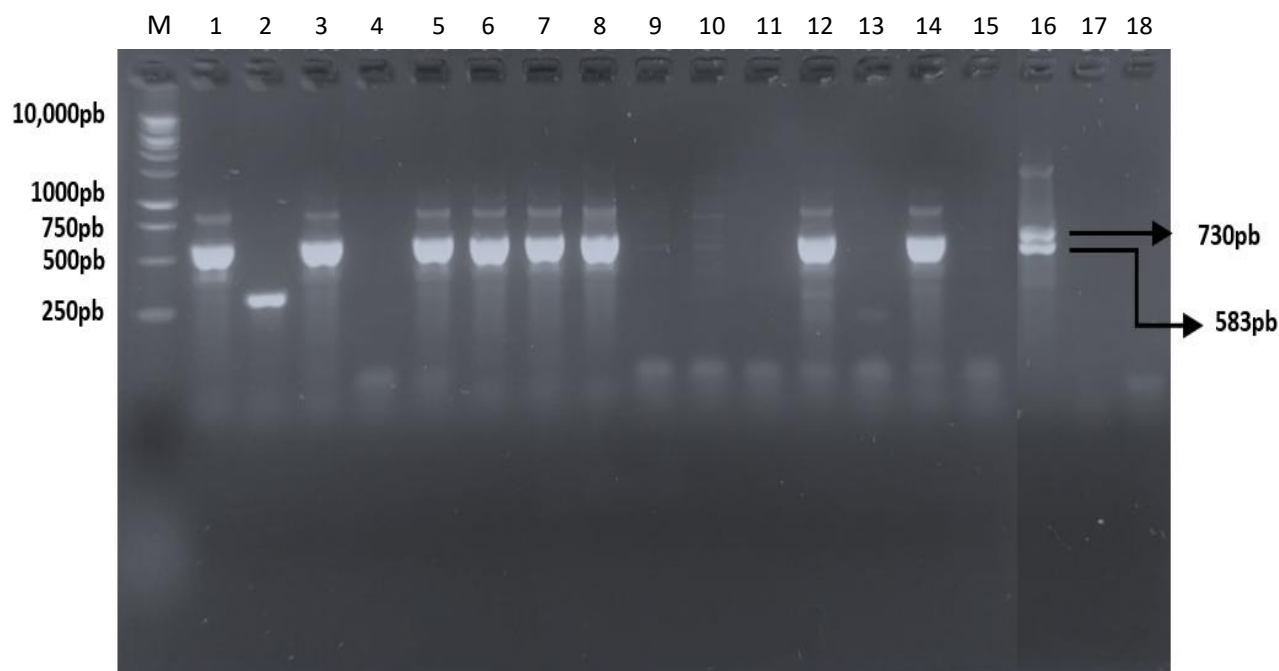


Figura 4. Diagnóstico molecular de *Sarcocystis aucheniae* por PCR semianidada dúplex en muestras de sangre de alpaca (carriles 1, 2, 3, 6, 7, 9, 10, 13, 14 y 15) y llama (carriles 4, 5, 8, 11 y 12) de los distritos de Chuschi (carriles 1, 2, 3, 4 y 5), Sacsamarca (carriles 6, 7, 8, 9 y 10) y Chipao (carriles 11, 12, 13, 14 y 15). La figura muestra un gel de agarosa coloreado con bromuro de etidio al 1% y visualizado en un transiluminador. La amplificación de los fragmentos del gen 18S ARNr del parásito *Sarcocystis aucheniae* se realizó mediante la modificación de las condiciones del protocolo establecido por Decker et al. (2018). M: Marcador de tamaño molecular de 1 Kb (Promega, USA); carriles 1, 3, 5, 6, 7, 8, 12 y 14 muestran un resultado positivo ante la presencia de la banda de 583 pb; carriles 2, 4, 9, 10, 11, 13 y 15 dan un resultado negativo por la ausencia del amplicón; carril 16: control positivo (a partir de los macroquistes) donde se visualiza las 2 bandas que representan al gen ARNr 18S del parásito (amplicón de 730 pb y 583 pb relacionado a la primera y segunda ronda respectivamente); carril 17: control negativo (ADN de cría de alpaca); carril 18: blanco (componentes de la PCR pero sin adición de ADN genómico); en el carril 2 se observa un amplicón de tamaño menor a lo esperado; carril 10: amplicones inespecíficos por las condiciones de la PCR. Laboratorio de Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH. 2025

Tabla 4. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en alpaca (*Vicugna pacos*) por PCR semianidada dúplex en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, Ayacucho – 2025.

Variable			Prevalencia		Total
			Negativos	Positivos	
Distritos	Chipao	Recuento	39	15	54
		% dentro de distrito	72,2%	27,8%	100,0%
	Chuschi	Recuento	60	9	69
		% dentro de distrito	87,0%	13,0%	100,0%
	Sacsamarca	Recuento	18	11	29
		% dentro de distrito	62,1%	37,9%	100,0%
Total	Recuento		117	35	152
	% dentro de distrito		77,0%	23,0%	100,0%

IC 95%: Intervalo de confianza del 95%

La Tabla 4 mostró la prevalencia del parásito *Sarcocystis aucheniae* en alpacas presentes en los distritos evaluados. El distrito de Chuschi registró el mayor número de muestras analizadas (69) pero presentó la menor prevalencia con solo el 13% (nueve casos positivos). Por el contrario, el distrito de Sacsamarca evidenció la mayor tasa de prevalencia observada con el 37,9% (11 casos positivos). Mientras que, en el distrito de Chipao se obtuvo una prevalencia intermedia de 27,8% (15 casos positivos). Finalmente, el análisis estadístico determinó que no existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *Sarcocystis aucheniae* y el distrito de procedencia ($p > 0,05$), a pesar de las variaciones porcentuales observadas entre las localidades (ver Anexos 5 y 9.1).

Tabla 5. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en llama (*Lama glama*) por PCR semianidada dúplex en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, Ayacucho – 2025.

Variable			Prevalencia		Total
			Negativos	Positivos	
Distritos	Chipao	Recuento	9	3	12
		% dentro de distrito	75,0%	25,0%	100,0%
	Chuschi	Recuento	12	5	17
		% dentro de distrito	70,6%	29,4%	100,0%
	Sacsamarca	Recuento	1	0	1
		% dentro de distrito	100,0%	0,0%	100,0%
Total	Recuento		22	8	30
	% dentro de distrito		73,3%	26,7%	100,0%

IC 95%: Intervalo de confianza del 95%

La Tabla 5 mostró la prevalencia del parásito *Sarcocystis aucheniae* en llamas presentes en los distritos evaluados. El distrito de Chuschi registró la mayor prevalencia observada con el 29,4% (cinco casos positivos de 17 muestras analizadas). Por su parte, en el distrito de Chipao se obtuvo una prevalencia de 25% (tres casos positivos de 12 muestras). En contraste, el distrito de Sacsamarca no presentó casos positivos, registrándose una prevalencia de 0%. Finalmente, el análisis estadístico determinó que no existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *Sarcocystis aucheniae* y el distrito de procedencia ($p > 0,05$), a pesar de las diferencias porcentuales observadas entre las localidades (ver Anexos 6 y 9.2).

Tabla 6. Porcentaje de resultados positivos a *Sarcocystis aucheniae* en alpaca (*Vicugna pacos*) y llama (*Lama glama*) por PCR semianidada dúplex en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, Ayacucho – 2025.

Variable	Prevalencia				
	Total	Positivos (+)	%	Desv. Est.	IC 95%
Alpaca	152	35	23,0	0,034	16,3 – 29,7
Llama	30	8	26,7	0,080	11,0 – 42,4

Desv. Est.: Desviación estándar, IC 95%: Intervalo de confianza del 95%

La Tabla 6 evidenció el porcentaje de resultados positivos a *Sarcocystis aucheniae* de acuerdo a la especie animal evaluada, las llamas registraron una prevalencia de 26,7% (ocho casos positivos de 30 muestras analizadas), mientras que en las alpacas se obtuvo una prevalencia de 23% (35 casos positivos de 152 muestras analizadas). Asimismo, la desviación estándar fue de 0,080 y 0,034 en las llamas y alpacas respectivamente ($p > 0,05$) (ver Anexo 9.3).

Tabla 7. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según sexo en alpaca (*Vicugna pacos*) que provenían de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, Ayacucho – 2025.

Sexo	Distrito	Total	Positivos (+)	Prevalencia (%)	IC 95% *
Macho	Chuschi	3	0	0,0	NE*
Macho	Sacsamarca	1	1	100,0	NE*
Macho	Chipao	6	1	16,7	0,0 – 46,5
Hembra	Chuschi	66	9	13,6	5,3 – 21,9
Hembra	Sacsamarca	28	10	35,7	18,0 – 53,4
Hembra	Chipao	48	14	29,2	16,3 – 42,1

$p > 0,05$

NE: No estimable debido al reducido tamaño muestral

*Los intervalos de confianza (IC 95%) no fueron considerados en grupos con tamaño muestral extremadamente reducido

La Tabla 7 mostró la prevalencia del parásito *Sarcocystis aucheniae* según sexo en alpacas en los distritos evaluados. En las hembras, el distrito de Sacsamarca registró la mayor prevalencia observada con el 35,7% (10 casos positivos), seguido de Chipao con el 29,2% (14 casos positivos) y Chuschi con el 13,6% (nueve casos positivos). Mientras que, en los machos se observó una menor prevalencia de casos positivos en los tres distritos evaluados, resultado que estuvo limitado por el reducido tamaño muestral de este grupo. Finalmente, el análisis estadístico determinó que no existe una asociación estadísticamente significativa la presencia de *Sarcocystis aucheniae* y el sexo de alpacas ($p > 0,05$) (ver Anexo 10.1).

Tabla 8. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según sexo en llama (*Lama glama*) procedentes de los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, Ayacucho – 2025.

Sexo	Distrito	Total	Positivos (+)	Prevalencia (%)	IC 95% *
Macho	Chuschi	6	1	16,7	0,0 – 46,5
Macho	Sacsamarca	0	0	0,0	NE*
Macho	Chipao	8	1	12,5	0,0 – 35,4
Hembra	Chuschi	11	4	36,4	8,0 – 64,8
Hembra	Sacsamarca	1	0	0,0	NE*
Hembra	Chipao	4	2	50,0	1,0 – 99,0

p = 0,226

NE: No estimable debido al reducido tamaño muestral

*Los intervalos de confianza (IC 95%) para grupos con tamaño muestral reducido presentan estimaciones de menor precisión

La Tabla 8 presentó la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según sexo en llamas procedentes de los distritos evaluados. En las hembras, el distrito de Chipao registró la mayor prevalencia observada con el 50% (dos casos positivos de cuatro muestras analizadas), seguido de Chuschi con el 36,4% (cuatro casos positivos de 11 muestras analizadas), mientras que en Sacsamarca no se evidenciaron casos positivos. En los machos, la prevalencia fue de 16,7% (un caso positivo) en Chuschi y de 12,5% (un caso positivo) en Chipao, sin registrarse muestras positivas en Sacsamarca. Finalmente, el análisis estadístico determinó que no existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *Sarcocystis aucheniae* y el sexo de las llamas ($p > 0,05$). Asimismo, los amplios intervalos de confianza observados en algunos grupos reflejan la incertidumbre asociada al reducido tamaño muestral, por lo que los resultados deben interpretarse con cautela (ver Anexo 10.2).

Tabla 9. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según categoría etaria en alpaca (*Vicugna pacos*) procedente de los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, Ayacucho – 2025.

Categoría etaria	Distrito	Total	Positivos (+)	Prevalencia (%)	IC 95%
DL	Chuschi	2	0	0,0	NE
2D	Chipao	1	0	0,0	NE
4D	Sacsamarca	4	1	25,0	0,0 – 67,4
4D	Chipao	6	3	50,0	10,0 – 90,0
BLL	Chuschi	69	9	13,0	5,1 – 20,9
BLL	Sacsamarca	25	11	44,0	24,5 – 63,5
BLL	Chipao	47	12	25,5	13,1 – 37,9

p = 0,214 (BLL)

DL: dientes de leche (menor de 1 año), 2D: 2 dientes (1-2 años), 4D: 4 dientes (2-3 años) y BLL: boca llena con 6 dientes incisivos permanentes (más de 4-5 años) (Franco et al, 2009)

NE: No estimable debido al reducido tamaño muestral, IC 95%: Intervalo de confianza del 95%

La Tabla 9 evidenció la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según la categoría etaria de las alpacas en los distritos evaluados. En el distrito de Chuschi, únicamente se registraron casos positivos en la categoría BLL, con una prevalencia de 13% (nueve casos positivos de 69 muestras evaluadas), mientras que en la categoría DL no se evidenciaron animales positivos. En Sacsamarca, la mayor prevalencia observada correspondió a la categoría BLL con 44% (11 casos positivos de 25 muestras evaluadas), seguida de la categoría 4D con 25% (un caso positivo de cuatro muestras evaluadas). Por su parte, en Chipao, la categoría 4D registró la mayor prevalencia con 50% (tres casos positivos de seis muestras evaluadas), mientras que la categoría BLL presentó una prevalencia de 25,5% (12 casos positivos de 47 muestras evaluadas). Finalmente, el análisis estadístico determinó que no existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *Sarcocystis aucheniae* y la categoría etaria de las alpacas ($p > 0,05$) (ver Anexo 10.3).

Tabla 10. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según categoría etaria en llama (*Lama glama*) procedente de los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, Ayacucho – 2025.

Categoría etaria	Distrito	Total	Positivos (+)	Prevalencia (%)	IC 95%
2D	Chipao	1	0	0,0	NE
4D	Chipao	1	1	100,0	NE
BLL	Chuschi	17	5	29,4	7,8 – 51,0
BLL	Sacsamarca	1	0	0,0	NE
BLL	Chipao	10	2	20,0	0,0 – 44,8

p = 0,438

2D: 2 dientes (1-2 años), 4D: 4 dientes (2-3 años) y BLL: boca llena con 06 dientes incisivos permanentes (más de 4-5 años)

NE: No estimable debido al reducido tamaño muestral, IC 95%: Intervalo de confianza del 95%

La Tabla 10 presentó la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según la categoría etaria en llamas procedentes de los distritos evaluados. En la categoría BLL, el distrito de Chuschi registró una prevalencia de 29,4% (cinco casos positivos de 17 muestras evaluadas), mientras que en Chipao fue de 20% (dos casos positivos de 10 muestras evaluadas). En la categoría 4D, únicamente se registró un animal positivo en el distrito de Chipao, representando una prevalencia de 100%; sin embargo, este resultado debe interpretarse con cautela debido al reducido tamaño muestral. En el distrito de Sacsamarca no se evidenciaron casos positivos en ninguna de las categorías evaluadas. Finalmente, el análisis estadístico determinó que no existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *Sarcocystis aucheniae* y la categoría etaria de las llamas ($p > 0,05$) (ver Anexo 10.4).

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se logró obtener ADN genómico a partir de un buen paquete celular de las muestras sanguíneas de alpacas y llamas mediante el uso del kit comercial WIZARD® SV y el método de extracción Fenol Cloroformo empleado para los macroquistes utilizados como control positivo (Figura 3). La visualización de bandas definidas en el gel de agarosa evidenció una adecuada integridad del ADN extraído, condición indispensable para el éxito de las reacciones de PCR. Diversos estudios han señalado que la calidad y pureza del ADN representan factores críticos en la sensibilidad y especificidad de las técnicas moleculares utilizadas para la detección de protozoarios del género *Sarcocystis* (Lorenz, 2012; Nolan et al, 2006; Decker et al, 2018). Martin et al. (2016) reportaron que la obtención de ADN íntegro permitió mejorar significativamente la amplificación del gen ARNr 18S en muestras de sangre de llamas infectadas con *Sarcocystis aucheniae*. Asimismo, Decker et al. (2018) demostraron que la extracción eficiente de ADN sanguíneo favorece la detección temprana del parásito mediante la técnica molecular mencionada, incluso en animales clínicamente sanos.

Ante ello, en la Figura 4 se muestra la detección molecular de *Sarcocystis aucheniae* mediante PCR semianidada dúplex, observándose la presencia de bandas específicas de aproximadamente 583 pb en varias de las muestras analizadas. La obtención de este amplicón evidencia la amplificación de la región blanco correspondiente al gen ARNr 18S del parásito y confirma la utilidad de esta técnica para el diagnóstico de la infección en animales vivos. Resultados similares fueron descritos por Decker et al. (2018), quienes utilizaron PCR semianidada dúplex para detectar este parásito en sangre de llamas procedentes de Argentina y Bolivia, obteniendo fragmentos cercanos a 550 pb. Aunque existe una ligera diferencia en el tamaño del amplicón, ambos estudios coinciden en demostrar la

sensibilidad y aplicabilidad de esta metodología molecular para la detección temprana del parásito en alpacas y llamas.

Además, nuestros resultados concuerdan con los descritos por Martin et al. (2016), quienes desarrollaron una de las primeras PCR semianidada dúplex basada en el gen ARNr 18S para la identificación de este parásito en llamas, reportando un amplicón aproximado de 450 pb; sin embargo, dichos autores observaron múltiples bandas inespecíficas debido a la limitada especificidad de los cebadores empleados, situación que se visualizó en algunos de nuestros resultados (Figura 4, carril 10). En contraste, se mejoraron las condiciones de la amplificación al igual que la cantidad de ADN genómico por cada ronda de PCR, para una mejor afinidad de los *primers* empleados hacia la región diana del gen ARNr 18S.

El control positivo obtenido a partir de macroquistes (Figura 4) mostró dos bandas correspondientes a los productos esperados de la primera y segunda ronda de PCR (730 pb y 583 pb, respectivamente), confirmando el correcto funcionamiento de la técnica molecular empleada. La ausencia de bandas en el control negativo y en el blanco de reacción demuestra que no existió contaminación cruzada durante el procesamiento de las muestras, garantizando la confiabilidad de los resultados obtenidos. Estudios previos han resaltado la importancia de incluir controles positivos y negativos en ensayos de PCR dirigidos al diagnóstico de *Sarcocystis*, ya que permiten validar la especificidad de la reacción y reducir la posibilidad de falsos positivos (Dubey et al, 2015).

Por otro lado, en la Figura 3 se observan algunas bandas inespecíficas y posibles dímeros de *primers*, particularmente en los carriles 9, 10 y 11. Este fenómeno puede atribuirse a variaciones en las condiciones de amplificación, concentración de cebadores o alineamiento inespecífico durante la PCR. Hallazgos semejantes fueron reportados por Martin et al. (2016), quienes observaron múltiples bandas secundarias asociadas a la baja especificidad de los *primers* inicialmente diseñados para la detección de *Sarcocystis aucheniae*. Ante ello, Lorenz (2012) menciona que, la formación de productos inespecíficos y dímeros de *primers* constituye una limitación frecuente en técnicas de PCR semianidada dúplex, especialmente cuando se emplean temperaturas de alineamiento subóptimas o concentraciones elevadas de cebadores, especialmente cuando se trabaja con genes altamente conservados como el ARNr 18S (Hadziavdic et al, 2016). No obstante, pese a la presencia ocasional de estas bandas secundarias, en el

presente estudio se logró identificar claramente el amplicón esperado de 583 pb, permitiendo confirmar la presencia del parásito en las muestras positivas analizadas.

Actualmente, diversos estudios han señalado que las técnicas moleculares basadas en PCR presentan una mayor sensibilidad y especificidad (Rojas, 2022) en comparación con métodos serológicos o diagnósticos *post mortem*, especialmente en infecciones subclínicas o en estadíos tempranos del parásito. En ese sentido, la detección de *Sarcocystis aucheniae* en sangre mediante PCR semianidada dúplex representa una alternativa diagnóstica importante para estudios epidemiológicos y programas de vigilancia sanitaria en alpacas y llamas, debido a que permite identificar animales infectados antes de la formación visible de quistes musculares.

No se evidenció asociación estadísticamente significativa entre la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en alpacas y llamas con las variables: distrito, sexo y categoría etaria. Sin embargo, los resultados de la Tabla 4 evidenciaron una mayor prevalencia de infección en Sacsamarca (37,9%) respecto a Chipao (27,8%) y Chuschi (13,0%) en alpacas, mientras que en llamas (Tabla 5) la prevalencia fue mayor en Chuschi (29,4%) seguida de Chipao (25,0%). Estas diferencias podrían estar asociadas a factores ambientales, manejo sanitario, presencia de HD (caninos), condiciones de pastoreo y la densidad de animales (Wieser et al, 2024). Asimismo, la diferencia del tamaño muestral influyó en la variabilidad de las estimaciones; Sin embargo, la ubicación de las zonas de estudio influye en gran medida en su desarrollo y prevalencia (Carhuapoma et al, 2024), a pesar de la baja asociación estadística evidente.

Por otra parte, en la Tabla 6 se mostró la prevalencia según la especie, las llamas presentaron una prevalencia de 26,7% y las alpacas de 23%, no se realizaron comparaciones debido a que constituyen 2 poblaciones diferentes. Estudios realizados en la provincia de Lucanas, Ayacucho (Velásquez et al, 2019) reportaron prevalencias de 16,7% en alpacas y 34,3% en llamas, valores similares a los encontrados en el presente estudio, siendo como factor causante de la prevalencia la carga parasitaria, condiciones de crianza y la respuesta inmune del hospedador (Soulsby, 1982; Kreier & Baker, 1993; Medrano et al, 2008), y en las investigaciones realizadas en Huancavelica y Espinar donde se evidenciaron mayores niveles de infección en llamas respecto a alpacas. En los resultados obtenidos por Carhuapoma et al. (2024) se observa una prevalencia de 76% en

llamas y 68% en alpacas, mientras que Vizarréta y Huaylla (2023) reportaron 86,9% y 63,5%, respectivamente. Estas diferencias entre resultados se deben posiblemente al tipo de diagnóstico empleado, ya que los últimos trabajos utilizaron inspección *post mortem* de macroquistes musculares, mientras que en el presente estudio se empleó PCR semianidada dúplex, técnica que detecta infección a nivel molecular incluso antes de la formación de quistes visibles. Esta perspectiva se evidenció en los estudios de Decker et al. (2018) y Rojas (2022), quienes confirmaron que las muestras que dieron positivo a *Sarcocystis aucheniae* no suelen dar lugar a la visualización de macroquistes en los tejidos de los camélidos, debido a que la detección molecular se da en la fase aguda de la infección.

En adición al párrafo anterior, en las Tablas 7 y 8 se presentan los resultados de prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en alpacas y llamas de los tres distritos evaluados en relación con el sexo, evidenciando que las hembras tanto de la especie *Vicugna pacos* y *Lama glama* presentaron mayores porcentajes de positividad en comparación con los machos en la mayoría de los distritos evaluados. Sin embargo, las alpacas hembras de los distritos de Sacsamarca y Chipao alcanzaron prevalencias de 35,7% y 29,2% respectivamente a comparación del distrito de Chuschi que obtuvo 13,6%, los datos difieren estadísticamente en el distrito de Sacsamarca y en los machos de los 3 distritos generando una baja asociación estadística con la variable del parásito, pero tienen variación estadística asociada nuevamente a la zona altoandina siendo mayor en el distrito de Chipao. Dichos resultados difieren del estudio de Velásquez et al. (2019) que no encontró diferencias significativas entre alpacas y llamas de ambos sexos.

Mientras que en la Tabla 8 se muestra que las hembras en la especie *Lama glama* presentaron mayores porcentajes de positividad en comparación con los machos en la mayoría de los distritos evaluados. Asimismo, en Chuschi y Chipao las hembras alcanzaron prevalencias de 36,4% y 50%, respectivamente. Sin embargo, el porcentaje de positividad de ambos distritos presenta baja variabilidad estadística por el tamaño muestral, reflejado en los amplios intervalos de confianza. Resultados similares fueron descritos por Vizarréta y Huaylla (2023), quienes reportaron mayor prevalencia en hembras de alpacas (22,3%) respecto a machos (17,8%). En contraste, Carhuapoma et al. (2024) menciona una mayor susceptibilidad en machos. Estas discrepancias podrían relacionarse con

diferencias en manejo reproductivo, permanencia en los rebaños y exposición ambiental.

En relación con la edad o categoría etaria presente en las Tablas 9 y 10, la categoría BLL (boca llena) presentó mayores porcentajes de positividad en comparación con animales jóvenes (2D y 4D). Además, en las alpacas de Sacsamarca, los animales BLL alcanzaron una prevalencia de 44%, mientras que en Chipao y Chuschi se registraron 25,5% y 13%, respectivamente. De igual forma, en las llamas de Chuschi se tuvo como prevalencia 29,4% a comparación de Chipao con 20%. Estos resultados concuerdan con Velásquez et al. (2019), quienes reportaron que la edad adulta constituye un factor de riesgo para la infección por *Sarcocystis aucheniae* en alpacas y llamas. Asimismo, Vizarrata y Huaylla (2023) encontraron mayores prevalencias en animales adultos (29,4%) respecto a jóvenes (10,7%). Esto podría explicarse por la exposición acumulativa al parásito a lo largo de la vida del animal, debido al consumo continuo de pastos y agua contaminados con ooquistes o esporoquistes eliminados por caninos infectados.

Las prevalencias obtenidas en este estudio fueron menores a las reportadas en investigaciones realizadas en camales municipales de Huancavelica y Espinar, donde se encontraron valores superiores al 60% (Carhuapoma et al, 2024). Esta diferencia probablemente se debe a que dichos estudios evaluaron animales destinados al faenado, generalmente adultos y con infecciones crónicas avanzadas, mientras que el presente estudio incluyó animales vivos evaluados mediante diagnóstico molecular. Los factores como las condiciones geográficas, clima, densidad animal y control sanitario pueden influir en la dinámica de transmisión del parásito (Wieser et al, 2024). Además, los amplios intervalos de confianza observados en algunos grupos y la ausencia de asociación estadística demostrado en el estudio de Neyra (2025) reflejan limitaciones asociadas al tamaño muestral, especialmente en determinadas categorías etarias y en el sexo de las alpacas y llamas, ante ello es necesario que el muestreo sea uniforme para las diferentes zonas de estudio. Diversos autores señalan que muestras pequeñas disminuyen la precisión estadística y generan intervalos de confianza más amplios, por lo que se recomienda un muestreo uniforme y representativo entre las diferentes zonas de estudio para obtener estimaciones más precisas (Montesinos et al, 2011; Castañeda, 2004; Duffau, 1999).

VI. CONCLUSIONES

1. La prueba de PCR semianidada dúplex permitió detectar *Sarcocystis aucheniae* en muestras de sangre de alpaca (*Vicugna pacos*) y llama (*Lama glama*) con un amplicón específico de aproximadamente 583 pb confirmando su utilidad y especificidad.
2. La detección de *Sarcocystis aucheniae* según el sexo mostró una mayor prevalencia en hembras que en machos en los distritos evaluados, sin evidenciar asociación estadísticamente significativa entre ambas variables.
3. La detección de *Sarcocystis aucheniae* según la categoría etaria evidenció una mayor prevalencia en animales de la categoría BLL (boca llena), sin asociación estadísticamente significativa entre ambas variables.
4. La prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* mostró variaciones entre los distritos evaluados de la región Ayacucho, registrándose la mayor prevalencia en Sacsamarca, seguida de Chipao y Chuschi, sin asociación estadísticamente significativa entre el distrito de procedencia y la presencia del parásito.

VII. RECOMENDACIONES

1. Uniformizar el número de muestras por distrito, sexo y categoría etaria en futuras investigaciones, a fin de obtener resultados epidemiológicos más representativos y con mayor precisión estadística.
2. Realizar estudios complementarios en otras provincias y regiones altoandinas del Perú para determinar la distribución epidemiológica de *Sarcocystis aucheniae* en alpacas y llamas.
3. Estandarizar y optimizar el procedimiento de muestreo sanguíneo en alpacas y llamas, empezando con la homogenización de la muestra colectada con el anticoagulante respectivo, seguido de las condiciones adecuadas de conservación y transporte para evitar la hemólisis de las muestras y procesamiento de las mismas, con la finalidad de preservar la integridad, pureza del ADN genómico garantizando resultados confiables en las técnicas de PCR semianidada dúplex.
4. Para obtener una buena concentración de ADN genómico empezar con una buena concentración de paquete celular.
5. Continuar con el proyecto desarrollando nuevas investigaciones orientadas a la variabilidad genética en alpacas y llamas frente a la sarcocistosis.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aivelo, T., Medlar, A., & Löytynoja, A. (2020). Alternative *primers* to identify a range of apicomplexan parasites. *Journal of Microbiological Methods*, 175, 105985. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105985>
- Ambion, Inc. (2009). Acid Phenol:Chloroform (Catalog No. AM9722) [Manual técnico]. Life Technologies Corporation. <https://www.ambion.com>
- Bravo, W., Sumar, J. & colaboradores. (2018). Manejo productivo y reproductivo de alpacas y llamas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Carhuapoma, V., Jurado, M., Valencia, N., Castrejón, M., Sánchez, V., Capcha, A., Sánchez, B. & Esparza, M. (2024). Infección por *Sarcocystis aucheniae* (Apicomplexa: Sarcocystidae) en tejido muscular de alpacas y llamas en Huancavelica, Perú. *Revista Científica FCV-LUZ*, 34(3), e34504.
- Carletti, T., Martin, M., Romero, S., Morrison, D., Marcoppido, G., Florin, M., & Schnittger, L. (2013). Molecular identification of *Sarcocystis aucheniae* as the macrocyst-forming parasite of llamas. *Veterinary Parasitology*, 198(3–4), 396–400. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.09.007>
- Castañeda, J. (2004). Una mirada a los intervalos de confianza en investigación. *Revista Colombiana de Psiquiatría*, 33(2), 193–201.
- Decelle, J., Romac, S., Stern, R., Bendif, E., Zingone, A., Audic, S., Guiry, M., Guillou, L., Tessier, D., Le Gall, F., Gourvil, P., de Vargas, C., & Christen, R. (2014). Intracellular diversity of the V4 and V9 regions of the 18S rRNA in marine protists (Radiolarians) assessed by high-throughput sequencing. *PLoS ONE*, 9(8), e104297. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104297>
- Decker, C. (2018). Avances en el conocimiento de la sarcocistiosis, camélidos sudamericanos y desarrollo de herramientas para su control (Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires).
- Decker, C., Romero, S., Ferrari, A., Schnittger, L., & Florin, M. (2018). Detection of *Sarcocystis aucheniae* in blood of llama using a duplex semi-nested PCR assay and its association with cyst infestation. *Heliyon*, 4, e00415.
- Decker, M., Sarria, R., & Ramírez, A. (2020). In silico analysis of GPI-anchored proteins of *Sarcocystis aucheniae* as vaccine candidates. *Parasitology Research*, 119, 2671–2679. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06738-3>
- Dubey, J., Calero, R., Rosenthal, B., Speer, C., & Fayer, R. (2015). *Sarcocystosis of animals and humans* (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b19184>
- Duffau, G. (1999). Tamaño muestral en estudios biomédicos. *Revista Chilena de Pediatría*, 70(4), 314–324.
- Fernández, S. (1991). Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Santiago de Chile: FAO.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2018). Camélidos sudamericanos en el desarrollo rural sostenible. FAO.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). Camélidos sudamericanos: recursos genéticos y sostenibilidad. FAO. <https://www.fao.org/3/cb4790es/cb4790es.pdf>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). Camélidos sudamericanos y desarrollo sostenible en los Andes. Roma: FAO.
- Fowler, M. E. (2010). Medicine and surgery of camelids (3rd ed.). Wiley-Blackwell.
- Franco, E., Pezo, D., García, W., & Franco, F. (2009). Manual de juzgamiento de alpacas y llamas. Soluciones Prácticas.
- García, H., Moro, P., & Gilman, R. (2019). Zoonosis parasitaria en camélidos sudamericanos: situación actual y desafíos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 36(4), 658–666. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.364.4490>
- Hadziavdic, K., Lekang, K., Lanzen, A., Jonassen, I., Thompson, E., & Troedsson, C. (2016). Characterization of the 18S rRNA gene for designing universal eukaryote specific primers. *PLoS ONE*, 11(2), e0149851. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149851>
- Helnan, E., Dellarupe, A., & Moré, G. (s. f.). *Sarcocystis* spp. Universidad Nacional de La Plata.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2012). IV Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO 2012). Lima, Perú.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2017). Perú: Perfil sociodemográfico. INEI.
- Kreier, J., & Baker, J. (1993). Parasitic protozoa (2nd ed.). Academic Press.
- Leguía, G., & Casas, E. (2018). Enfermedades parasitarias de los animales domésticos en el Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Levine, N. (1986). The taxonomy of *Sarcocystis* (Protozoa, Apicomplexa) species. *The Journal of Parasitology*, 72(3), 372–382. <https://doi.org/10.2307/3281676>
- Lorenz, T. (2012). Polymerase chain reaction: Basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *Journal of Visualized Experiments*, (63), e3998. <https://doi.org/10.3791/3998>
- Mamani, R., & Choque, S. (2020). Evaluación de las pérdidas económicas en la comercialización de la carne de llama (*Lama glama*) con la presencia de *Sarcocystis aucheniae*, en la ciudad de El Alto. *Revista Estudiantil AGRO-VET*, 3(2), 453–458.

- Mandal, S., & Shah, H. (1987). Host resistance and faecal sporocyst excretion in dogs exposed to repeated infection with *Sarcocystis levinei*. *Veterinary Parasitology*, 24(1–2), 59–65.
- Martín, M., Decker, C., Romero, S., Carletti, T., Schnittger, L., & Florin, M. (2016). Molecular detection of *Sarcocystis aucheniae* in the blood of llamas from Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 48(3), 200–205.
- Medrano, G., Hung, A., & Espinoza, J. (2008). Análisis molecular y filogenético de las especies de *Sarcocystis* que afectan a las alpacas del Perú. *Revista de Investigaciones*, 4(2).
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2019). Situación de la ganadería en el Perú. Gobierno del Perú. MINAGRI
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI). (2020). Día Nacional de la alpaca: Perú primer productor de alpaca en el mundo.
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI). (2022). El 87% de la población mundial de alpacas se encuentra en el Perú.
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. (2022). Informe técnico sobre el mercado de fibra de alpaca en el Perú. MIDAGRI.
- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI). (2024). Estadísticas de producción pecuaria y población de camélidos sudamericanos.
- Montesinos, O., Montesinos, A., Santos, E., Valladares, P., & Magaña, M. (2011). Tamaños de muestra para estimar prevalencia animal que aseguran cortos intervalos de confianza. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2(2), 137–151.
- Moré, G. (2021). Sarcocistosis en animales. En MSD Veterinary Manual. <https://www.msdsvetmanual.com/es/sistema-musculoesquel%C3%A9tico/sarcocistosis/sarcocistosis-en-animales>
- Moré, G., Abrahamovich, P., Jurado, S., Bacigalupe, D., Marin, J. C., Rambeaud, M. & Venturini, M. (2019). Prevalence of *Sarcocystis* spp. in South American camelids and advances in molecular diagnosis. *Veterinary Parasitology*, 273, 1–6.
- Neyra, L. (2025). Estudios moleculares del curso de la infección en sangre de alpacas (*Vicugna pacos*) por el protozoo *Sarcocystis aucheniae* (Tesis de postgrado, Universidad Católica de Santa María).
- Nolan, T., Hands, R., & Bustin, S. (2006). Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nature Protocols*, 1(3), 1559–1582. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.236>
- Palomino, R. (2013). Prevalencia de sarcocistiosis en alpacas (*Vicugna pacos*) beneficiadas en el camal de Pilpichaca, Huancavelica años 2010 al 2012 (Tesis de grado, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga).

- Promega Corporation. (2012). Wizard® SV genomic DNA purification system: Technical bulletin TB302 (Rev. 2/12). Promega Corporation. <https://www.promega.com>
- Quispe, E., Rodríguez, T., Iñiguez, L., & Mueller, J. (2019). Producción y aprovechamiento integral de los camélidos sudamericanos domésticos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(2), 635–648.
- Risi, J. (2020). El rol de los camélidos sudamericanos en la sostenibilidad de las comunidades altoandinas. *Revista Andina de Desarrollo Rural*, 42(1), 55–64.
- Rojas, D. (2022). Diagnóstico de *Sarcocystis aucheniae* por PCR semi-anidada en sangre de alpacas de la provincia de Huancavelica (Tesis de postgrado, Universidad Nacional de Cajamarca).
- Sambrook, J., & Russell, D. (2001). *Molecular cloning: A laboratory manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Servicio Nacional de Sanidad Agraria. (2020). Programa sanitario en camélidos sudamericanos. SENASA.
- Soulsby, E. (1982). *Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals* (7th ed.). Baillière Tindall.
- Sumar, J., & Bravo, W. (1996). Dentición en alpacas. En *Resúmenes de investigaciones IVITA en camélidos sudamericanos*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Tan, Y., Wu, Y., Wang, X., Liu, X., & Zhang, L. (2017). Molecular detection of protozoan parasites using 18S rRNA gene as target marker. *Parasites & Vectors*, 10, 322. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2250-4>
- Uzuriaga, J., Castillo, E., Mamani, R., & León, M. (2025). Desarrollo *in vitro* de estadios asexuales de *Sarcocystis aucheniae* en líneas celulares de camélidos sudamericanos. *Revista de Parasitología Veterinaria Andina*, 8(1), 25–34. (En prensa).
- Valdez, V. (2021). Análisis de expresión global de proteínas por electroforesis y espectrometría de masas de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de *Vicugna pacos* (alpaca): Una aproximación proteómica Arequipa–2018 (Tesis doctoral, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa).
- Velásquez, L., Soncco, J., & Valderrama, A. (2019). *Sarcocystis aucheniae* en camélidos sudamericanos y factores de riesgo en la provincia de Lucanas. *Salud y Tecnología Veterinaria*, 7(1), 8–13. <https://doi.org/10.20453/stv.v7i1.3562>
- Vizarreta, M., & Huaylla, R. (2023). Prevalencia de sarcocystiosis macroscópica y microscópica en carcasa de alpacas y llamas beneficiados en el camal municipal de Espinar (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco).

- Wang, Y., Tian, R., Gao, Z., Bougouffa, S., & Qian, P. (2014). Optimal eukaryotic 18S and universal 16S/18S ribosomal RNA *primers* and their application in a study of symbiosis. PLoS ONE, 9(3), e90053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090053>
- Wheeler, J. (2012). South American camelids: Past, present and future. Journal of Camelid Science, 5, 1–24.
- Wieser, S., Giuliano, S., Reategui, J., Barriga, X., Olivera, L., Chavez, M., Schnittger, L. & Florin, M. (2024). *Sarcocystis* spp. of New and Old World camelids: Ancient origin, present challenges. Pathogens, 13(3), 196.
- Wu, Z., Sun, J., Hu, J., Song, J., Deng, S., Zhu, N., Yang, Y., & Tao, J. (2022). Morphological and molecular characterization, and demonstration of a definitive host, for *Sarcocystis masoni* from an alpaca (*Vicugna pacos*) in China. Biology, 11(7), 1016.

IX. ANEXO

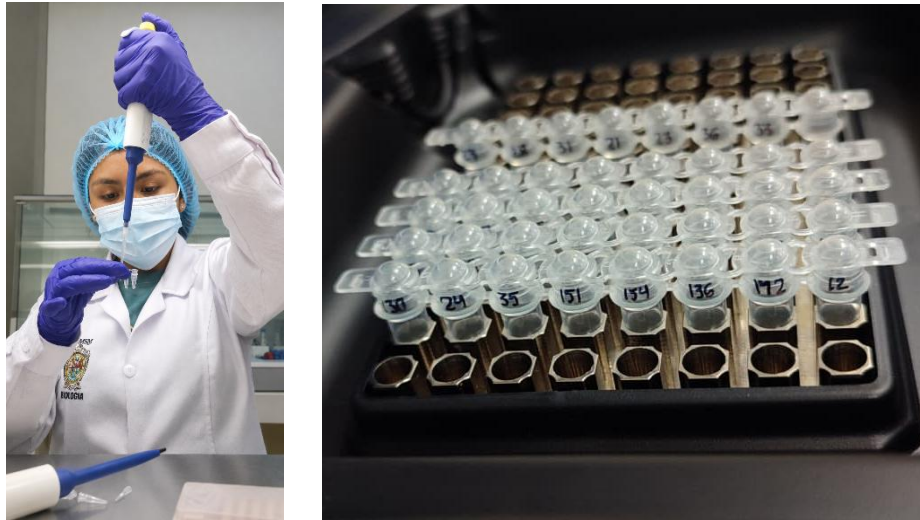
Anexo 1. Obtención de las muestras sanguíneas de alpacas y llamas del distrito de Chuschi, Sacsamarca y Chipao, Ayacucho - 2025.



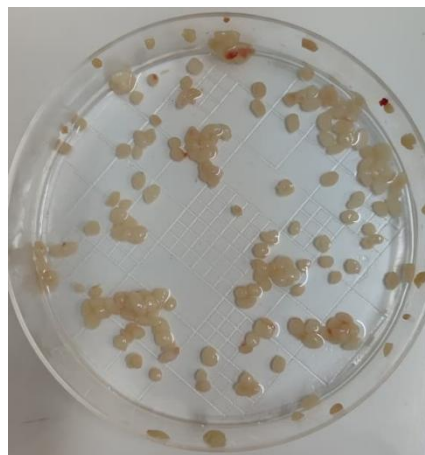
Anexo 2. Procesamiento de las muestras sanguíneas en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho – 2025.



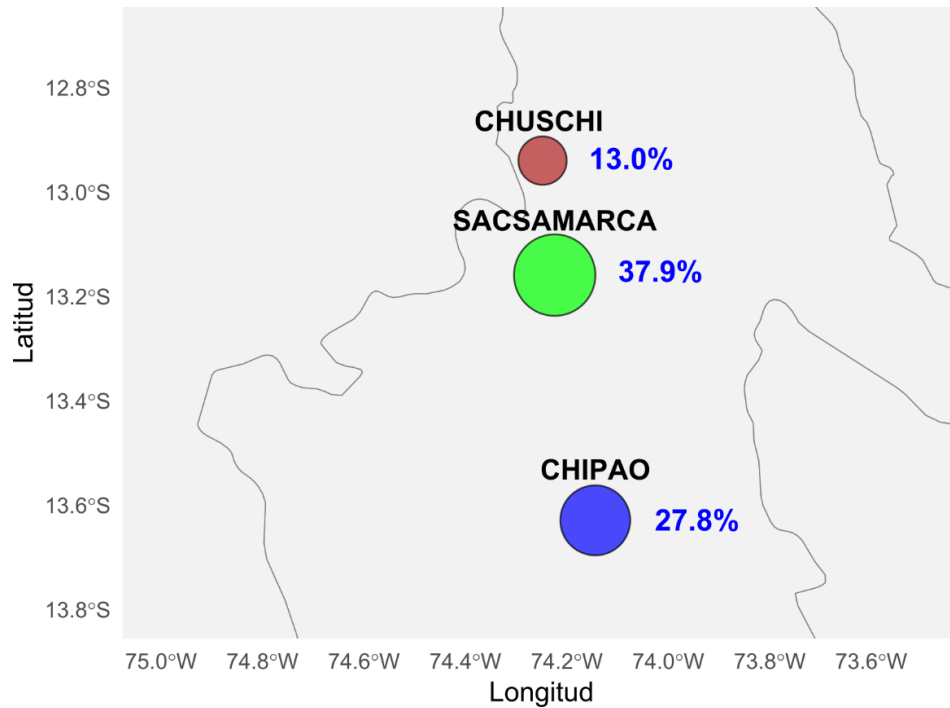
Anexo 3. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) semianidada dúplex aplicada a las muestras extraídas, utilizando tubos Strips.



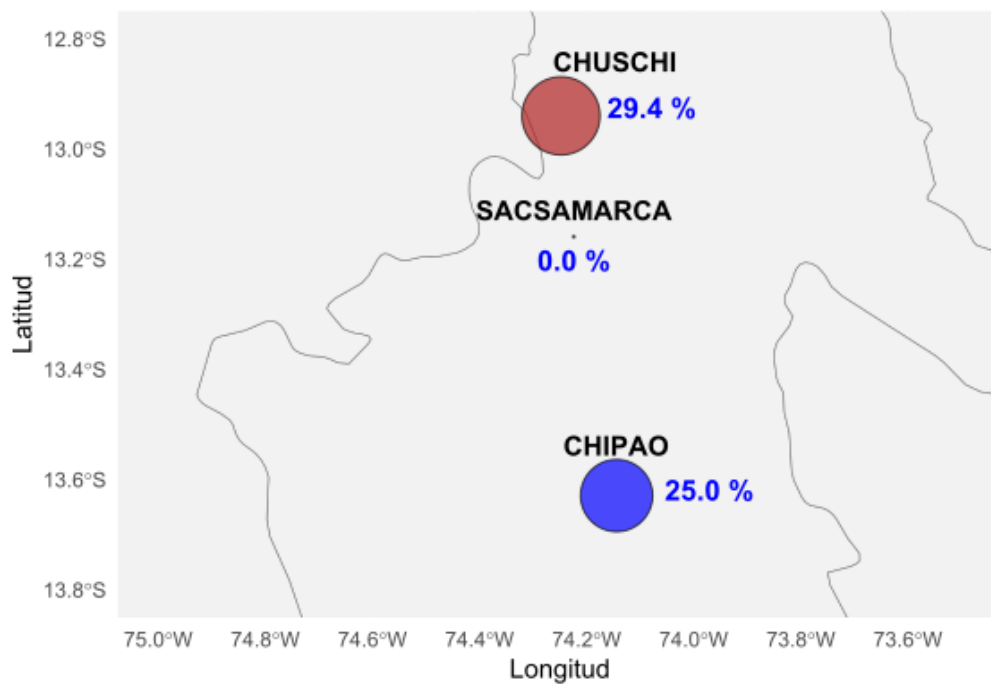
Anexo 4. Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* obtenidos de una alpaca faenada en el Camal Municipal de Huancavelica – 2025.



Anexo 5. Mapa de prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en alpaca (*Vicugna pacos*).



Anexo 6. Mapa de prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en llama (*Lama glama*).



Anexo 7. Extracción de ADN genómico de sangre de alpaca y llama mediante kit comercial (WIZARD® SV A2360).



a) Preparar los materiales y descongelar las muestras sanguíneas.



b) Colocar 220 μL de sangre en un tubo Eppendorf, centrifugar a 14,000 rpm por 5 min, descartar el sobrenadante y lavar el pellet con PBS IX.

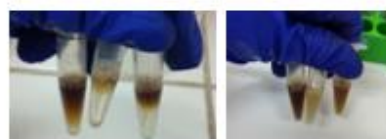
FASE DE DIGESTIÓN



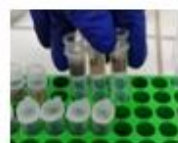
c) Añadir 275 μL de la solución de Digestión al pellet y homogenizar mediante pipeteos.



d) Incubar los tubos en baño María a 55°C por 1h y 20 min.



e) Añadir a la muestra digerida 250 μL de la solución de Lisis y mezclar el lisado con vortex.



f) Transferir la muestra lisada a la minicolumna Wizard® y centrifugar a 14,000 rpm por 3 min.

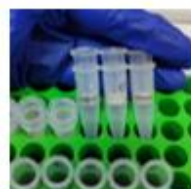
FASE DE LAVADO



g) Descartar el sobrenadante y agregar 650 μL de la Solución de Lavado de Columna (CWA) y centrifugar a 14,000 rpm por 1 min, 4 veces.



h) Centrifugar a 14,000 rpm por 2 min, para el secado de matriz.



i) Transferir la minicolumna a un tubo Eppendorf.



FASE DE ELUCIÓN

j) Añadir 50 μL de agua MilliQ a 65°C y dejar reposar a temperatura ambiente por 2 min.



k) Centrifugar a 14,000 rpm por 1 min, descartar la minicolumna, tapar el tubo con el eluido y conservar a -20°C.



Anexo 8. Registro de las muestras colectadas según el distrito, especie, categoría etaria y sexo, incluyendo los resultados de la PCR semianidada dúplex.

N°	Productor	Cód.	Distrito	Comunidad	Especie	Raza	Color	Sexo	Edad	Rep.	Fecha	Color del eluido	Positivo/Negativo
1	Onorato Pacotaype Minas	84	Chuschi	Lerjona	Alpaca	H	LF	H	BLL	A	20/03/2025	TT	P
2	Onorato Pacotaype Minas	63	Chuschi	Lerjona	Alpaca	H	Café Claro	H	BLL	B	20/03/2025	TT	N
3	Onorata Tomaylla Chuchon	102	Chuschi	Yupana	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	20/03/2025	TT	N
4	Onorata Tomaylla Chuchon	72	Chuschi	Yupana	Alpaca	H	Blanco Mancha	H	BLL	B	20/03/2025	TT	P
5	Teofila Tucno De Machala	86	Chuschi	Yupana	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	20/03/2025	TT	N
6	Teofila Tucno De Machala	83	Chuschi	Yupana	Alpaca	H	Blanco Mancha	H	BLL	B	20/03/2025	TT	P
7	Vicente Chipana Retamoso	89	Chuschi	Chikllarazo	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	20/03/2025	TT	N
8	Vicente Chipana Retamoso	90	Chuschi	Chikllarazo	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	20/03/2025	TT	P
9	Pablo Nuñez Cahuana	95	Chuschi	Pallcca	Alpaca	H	Café	H	BLL	A	20/03/2025	TT	P
10	Pablo Nuñez Cahuana	85	Chuschi	Pallcca	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	20/03/2025	TT	N
11	Pablo Nuñez Cahuana	88	Chuschi	Pallcca	Alpaca	H	Blanco	M	BLL	C	20/03/2025	TT	N
12	Teresa Allcca De Quispe	55	Chuschi	Pallcca	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	20/03/2025	TT	N
13	Teresa Allcca De Quispe	75	Chuschi	Pallcca	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	20/03/2025	TT	N
14	Lucia Chuchon Cusihuaman	64	Chuschi	Wagracocha	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	21/03/2025	TT	N
15	Lucia Chuchon Cusihuaman	69	Chuschi	Wagracocha	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	21/03/2025	TT	N
16	Lucia Chuchon Cusihuaman	56	Chuschi	Wagracocha	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	C	21/03/2025	TT	N
17	Valentin Dueñas Chuchon	54	Chuschi	Chikllarazo	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	21/03/2025	TT	N
18	Valentin Dueñas Chuchon	74	Chuschi	Chikllarazo	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	21/03/2025	TT	N

19	Valentin Dueñas Chuchon	65	Chuschi	Chikllarazo	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	C	21/03/2025	TT	N
20	Misael Huaycha Cusihuaman	76	Chuschi	Pucruwasi	Alpaca	H	Blanco	M	BLL	A	21/03/2025	TT	N
21	Misael Huaycha Cusihuaman	94	Chuschi	Pucruwasi	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	21/03/2025	TT	N
22	Misael Huaycha Cusihuaman	93	Chuschi	Pucruwasi	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	C	21/03/2025	TT	N
23	Gisela Nuñez Ccallucunto	79	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	27/03/2025	TT	N
24	Gisela Nuñez Ccallucunto	73	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	27/03/2025	TT	N
25	Marcelino Huamani Mendoza	91	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	27/03/2025	TT	N
26	Marcelino Huamani Mendoza	92	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	27/03/2025	TT	N
27	Marcelino Huamani Mendoza	2	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	C	27/03/2025	TT	N
28	Oscar Callahua Labio	7	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	28/03/2025	TT	N
29	Oscar Callahua Labio	3	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	28/03/2025	TT	N
30	Benigno Huaman Conde	60	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	28/03/2025	TT	N
31	Benigno Huaman Conde	100	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	28/03/2025	TT	N
32	Eliseo Roca Barrios	80	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	28/03/2025	TT	N
33	Eliseo Roca Barrios	81	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	28/03/2025	TT	N
34	Eliseo Roca Barrios	70	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Blanco	M	BLL	C	28/03/2025	TT	N
35	Justidiano Conde Quispe	5	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Café	H	BLL	A	28/03/2025	TT	N
36	Justidiano Conde Quispe	71	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	28/03/2025	TT	N
37	Marcelina Quispe Ochoa	101	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Café	H	BLL	A	28/03/2025	TT	N
38	Marcelina Quispe Ochoa	82	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	C	28/03/2025	TT	N
39	Marcelina Quispe Ochoa	1	Chuschi	Choqoro	Alpaca	H	Manchada	H	BLL	B	28/03/2025	TT	N
40	Alejandro Pacotaype Nuñez	51	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	2/04/2025	TT	N

41	Alejandro Pacotaype Nuñez	39	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco Mancha	H	BLL	B	2/04/2025	TT	N
42	Jose Casavilla Nuñez	47	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	2/04/2025	TT	P
43	Jose Casavilla Nuñez	78	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Café Manchado	H	BLL	B	2/04/2025	TT	N
44	Gregoria Condori Cuba	48	Chuschi	Rumichaca	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	3/04/2025	TT	N
45	Gregoria Condori Cuba	67	Chuschi	Rumichaca	Alpaca	H	Café	H	BLL	B	3/04/2025	TT	N
46	Gregoria Condori Cuba	66	Chuschi	Rumichaca	Alpaca	H	Café Manchado	H	BLL	C	3/04/2025	TT	N
47	Gregoria Condori Cuba	45	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Moro	H	BLL	D	3/04/2025	TT	P
48	Jorge Cisneros Galindo	58	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Café	H	BLL	A	4/04/2025	TT	N
49	Jorge Cisneros Galindo	49	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	4/04/2025	TT	N
50	Marino Collacondo	42	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Café	H	BLL	A	4/04/2025	TT	N
51	Marino Collacondo	62	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Café Oscuro	H	BLL	B	4/04/2025	TT	N
52	Pedro Rojas Galindo	44	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Café Oscuro	H	BLL	A	4/04/2025	TT	N
53	Pedro Rojas Galindo	43	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	4/04/2025	TT	N
54	Wilber Huamani Casavilca	6	Chuschi	Cerce	Alpaca	H	Café	H	BLL	A	4/04/2025	TT	N
55	Wilber Huamani Casavilca	52	Chuschi	Cerce	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	4/04/2025	TT	N
56	Pedro Cusivilca Galindo	68	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	4/04/2025	TT	N
57	Pedro Cusivilca Galindo	46	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	4/04/2025	TT	N
58	Pedro Cusivilca Galindo	57	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	C	4/04/2025	TT	N
59	Marcelo Cusivilca Galindo	53	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	4/04/2025	TT	N
60	Marcelo Cusivilca Galindo	41	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	LF	H	BLL	B	4/04/2025	TT	N
61	Marcelo Cusivilca Galindo	50	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	C	4/04/2025	TT	N
62	Luciano Nuñez Galindo	40	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	4/04/2025	TT	N

63	Luciano Nuñez Galindo	61	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Café	H	BLL	B	4/04/2025	TT	N
64	Luciano Nuñez Galindo	59	Chuschi	Tuco	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	C	4/04/2025	TT	N
65	Sebastina Condori Parco	108	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Negra	H	BLL	A	9/04/2025	TT	N
66	Sebastina Condori Parco	116	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Café	H	BLL	B	9/04/2025	TT	N
67	Florencia Quichca De Ccayo	99	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Moro	H	BLL	A	9/04/2025	TT	P
68	Florencia Quichca De Ccayo	110	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Blanco	H	BLL	B	9/04/2025	TT	N
69	Triguna Sanchez Ccaico	107	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Negro	H	BLL	A	9/04/2025	TT	N
70	Triguna Sanchez Ccaico	113	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Blanco	H	BLL	B	9/04/2025	TT	N
71	Maximiliano Quichca Tacuri	97	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Negra	H	BLL	A	9/04/2025	TT	N
72	Maximiliano Quichca Tacuri	104	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Moro	H	BLL	B	9/04/2025	TT	N
73	Maximiliano Quichca Tacuri	115	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Moro	M	BLL	C	9/04/2025	TT	P
74	Mortidiano (Esposa)	105	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Café	H	BLL	A	9/04/2025	TT	P
75	Mortidiano (Esposa)	112	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Café	H	BLL	B	9/04/2025	TT	P
76	Luisa Nuñez Conde	114	Chuschi	Puncupata	Alpaca	H	Café	H	BLL	A	10/04/2025	TT	P
77	Paula Vilca De Ccayocondo	98	Chuschi	Puncupata	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	10/04/2025	TT	N
78	Abel Nuñez Vilca	106	Chuschi	Puncupata	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	10/04/2025	TT	N
79	Oscar Mendoza Mejia	4	Chuschi	Puncupata	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	10/04/2025	TT	N
80	Edmundo Conde Mejia	117	Chuschi	Puncupata	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	A	10/04/2025	TT	P
81	Edmundo Conde Mejia	111	Chuschi	Puncupata	Alpaca	H	Blanco	H	BLL	B	10/04/2025	TT	P
82	Gloria Misarayme Villanueva	96	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Moro	M	BLL	1	22/05/2025	TT	N
83	Juana Tacuri Villanueva	109	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Café	M	BLL	1	22/05/2025	TT	N
84	Juana Tacuri Villanueva	103	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Blanco	M	BLL	2	22/05/2025	TT	N
85	Dionicia Quichca Tacuri	77	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Café	M	BLL	1	22/05/2025	TT	N
86	Dionicia Quichca Tacuri	87	Chuschi	Rumichaca	Llama	Q	Café	M	BLL	2	22/05/2025	TT	N
87	Armando Asto Mitaq	178	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	A	7/05/2025	TT	N

88	Armando Asto Mitaq	175	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	B	7/05/2025	TT	N
89	Armando Asto Mitaq	177	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	M	BLL	C	7/05/2025	TT	P
90	Erasmus Pillaca Garcia	164	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	A	7/05/2025	TT	N
91	Erasmus Pillaca Garcia	165	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	B	7/05/2025	TT	N
92	Erasmus Pillaca Garcia	163	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	C	7/05/2025	TT	N
93	Gitler Quispe Julian	184	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	B	H	BLL	A	8/05/2025	TT	P
94	Gitler Quispe Julian	183	Sacsamarca	Putccasa	Llama	Q	CF	H	BLL	B	8/05/2025	TT	N
95	Gitler Quispe Julian	181	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	C	8/05/2025	TT	P
96	Reyna Cayampi Yanqui	173	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	S	BL	H	BLL	A	8/05/2025	TT	N
97	Reyna Cayampi Yanqui	174	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	S	BL	H	BLL	B	8/05/2025	TT	P
98	Reyna Cayampi Yanqui	172	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	4D	C	8/05/2025	TT	N
99	Marcelino Huaccachi Cayampi	182	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	CF	H	BLL	A	8/05/2025	TT	N
100	Marcelino Huaccachi Cayampi	186	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	Manchado	H	BLL	B	8/05/2025	TT	N
101	Marcelino Huaccachi Cayampi	185	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	4D	C	8/05/2025	TT	N
102	Armando Taquiri Gonzales	179	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	A	8/05/2025	TT	N
103	Armando Taquiri Gonzales	180	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	B	8/05/2025	TT	N
104	Armando Taquiri Gonzales	176	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	Manchado	H	BLL	C	8/05/2025	TT	N
105	Sonia Taquiri Gonzales	162	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	A	8/05/2025	TT	P
106	Sonia Taquiri Gonzales	161	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	B	8/05/2025	TT	P
107	Sonia Taquiri Gonzales	160	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	C	8/05/2025	TT	P
108	Antonia Huamani Huaccachi	170	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	4D	A	8/05/2025	TT	P
109	Antonia Huamani Huaccachi	169	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	B	8/05/2025	TT	N
110	Antonia Huamani Huaccachi	171	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	C	8/05/2025	TT	N

111	Eudocia Barzolo Cayampi	158	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	A	9/05/2025	TT	P
112	Eudocia Barzolo Cayampi	159	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	B	9/05/2025	TT	N
113	Eudocia Barzolo Cayampi	157	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	C	9/05/2025	TT	P
114	Violeta Palomino Cayampi	166	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	4D	A	9/05/2025	TT	N
115	Violeta Palomino Cayampi	168	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	H	BL	H	BLL	B	9/05/2025	TT	N
116	Violeta Palomino Cayampi	167	Sacsamarca	Putccasa	Alpaca	S	BL	H	BLL	C	9/05/2025	TT	P
117	Fernanda Mesa Olarte	153	Chipao	Chipao	Alpaca	H	B	M	4D	A	30/05/2025	TT	P
118	Estanislao Santaria Jorge	145	Chipao	Chipao	Alpaca	H	B	M	BLL	A	30/05/2025	TT	N
119	Angel Basilio Huarcaya	144	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	A	1/06/2025	TT	N
120	Angel Basilio Huarcaya	140	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	B	1/06/2025	TT	N
121	Vilma Jorge Olarte	129	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	A	1/06/2025	TT	P
122	Vilma Jorge Olarte	118	Chipao	Yanama	Llama	Q	Café	M	BLL	B	1/06/2025	TT	N
123	Zulida Olarte Chipana	135	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	A	1/06/2025	TT	N
124	Zulida Olarte Chipana	125	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	B	1/06/2025	TT	N
125	Heraclea Huamani De Olarte	119	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	A	1/06/2025	TT	N
126	Heraclea Huamani De Olarte	132	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	B	1/06/2025	TT	N
127	Manuel Huarcaya Basilio	123	Chipao	Yanama	Alpaca	H	LF	H	BLL	A	1/06/2025	TT	P
128	Manuel Huarcaya Basilio	126	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	B	1/06/2025	TT	N
129	Lidia Pusari Ccancce	124	Chipao	Yanama	Alpaca	H	LF	H	BLL	A	1/06/2025	TT	N
130	Lidia Pusari Ccancce	134	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	B	1/06/2025	TT	N
131	Dina Pariona Gutierrez	121	Chipao	Yanama	Alpaca	H	LF	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
132	Juan Pusari Huarcaya	122	Chipao	Yanama	Llama	Q	Café Claro	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
133	Vicente Puzari Huarcaya	131	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
134	Zenon Huarcaya Pusari	128	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N

135	Felix Jorge Huaracaya	139	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
136	Felix Jorge Huaracaya	143	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	B	2/06/2025	TT	P
137	Eliseo Huaracaya Pusari	120	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
138	Eliseo Huaracaya Pusari	133	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	B	2/06/2025	TT	N
139	Elizabeth Olarte Chipana	137	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	M	2D	A	2/06/2025	TT	N
140	Ruperta Chipana De Apaico	138	Chipao	Yanama	Alpaca	H	Café	M	4D	A	2/06/2025	TT	N
141	Ruperta Chipana De Apaico	141	Chipao	Yanama	Alpaca	H	B	H	BLL	B	2/06/2025	TT	P
142	Jorge Mamerto Aroni	148	Chipao	Yanama	Alpaca	H	Café	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
143	Jorge Mamerto Aroni	147	Chipao	Yanama	Llama	Q	B	H	BLL	B	2/06/2025	TT	P
144	Raul Chirinos Meza	150	Chipao	Pallcca	Alpaca	H	B	H	4D	A	2/06/2025	TT	P
145	Raul Chirinos Meza	149	Chipao	Pallcca	Alpaca	H	Café	H	BLL	B	2/06/2025	TT	P
146	Sergio Mesa Basilio	146	Chipao	Pallcca	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
147	Sergio Mesa Basilio	136	Chipao	Pallcca	Alpaca	H	B	H	BLL	B	2/06/2025	TT	N
148	Demesio Mesa Tello	142	Chipao	Pallcca	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
149	Demesio Mesa Tello	154	Chipao	Pallcca	Alpaca	H	B	M	BLL	B	2/06/2025	TT	N
150	Victor Huamani Huaman	130	Chipao	Pallcca	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
151	Maurelio Olarte Huaracaya	155	Chipao	Pallcca	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
152	Claudia Huamani Huaman	151	Chipao	Pallcca	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	P
153	Carlos Santaria Meza	127	Chipao	Huataccocha	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
154	Pascual Huamani Torres	156	Chipao	Huataccocha	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	P
155	Aparicio Huaman Basilio	18	Chipao	Huataccocha	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	N
156	Tiburcio Atiquipa Meza	152	Chipao	Huataccocha	Alpaca	H	B	H	BLL	A	2/06/2025	TT	P
157	Onerata Santaria Carrasco	33	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	4D	A	3/06/2025	TT	P
158	Onerata Santaria Carrasco	23	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	BLL	B	3/06/2025	TT	N
159	Delia Carrasco Huaracaya	19	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	BLL	A	3/06/2025	TT	N

160	Pascual Lopez Ramos	28	Chipao	Asabamba	Llama	Q	Café	M	BLL	A	3/06/2025	TT	P
161	Pascual Lopez Ramos	36	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	BLL	B	3/06/2025	TT	P
162	Anaclea Ramos Janampa	38	Chipao	Asabamba	Llama	Q	B	H	BLL	A	3/06/2025	TT	N
163	Anaclea Ramos Janampa	31	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	BLL	A	3/06/2025	TT	N
164	Anaclea Ramos Janampa	22	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	M	BLL	B	3/06/2025	TT	N
165	Braulio Lopez Carrasco	21	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	BLL	A	3/06/2025	TT	N
166	Braulio Lopez Carrasco	29	Chipao	Asabamba	Llama	Q	B	M	BLL	B	3/06/2025	TT	N
167	Saturna Santaria Llamocca	25	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	BLL	A	3/06/2025	TT	P
168	Saturna Santaria Llamocca	26	Chipao	Asabamba	Llama	Q	B	M	BLL	B	3/06/2025	TT	N
169	Daniel Janampa Taype	30	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	Café	H	BLL	A	3/06/2025	TT	N
170	Daniel Janampa Taype	27	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	Café	H	BLL	B	3/06/2025	TT	N
171	Delia Carrasco Huaracya	32	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	Café	H	BLL	B	3/06/2025	TT	P
172	Angelo Santaria Lopez	37	Chipao	Asabamba	Llama	Q	B	H	BLL	A	3/06/2025	TT	N
173	Angelo Santaria Lopez	35	Chipao	Asabamba	Llama	Q	Café	H	4D	B	3/06/2025	TT	P
174	Florentino Ramos Janampa	24	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	4D	A	3/06/2025	TT	N
175	Florentino Ramos Janampa	20	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	BLL	B	3/06/2025	TT	N
176	Florentino Ramos Janampa	34	Chipao	Asabamba	Llama	Q	Café	H	2D	C	3/06/2025	TT	N
177	Hermelinda Huilcamascco Huaracya	12	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	BLL	A	4/06/2025	TT	P
178	Hermelinda Huilcamascco Huaracya	11	Chipao	Asabamba	Llama	Q	B	H	BLL	B	4/06/2025	TT	N
179	Hermelinda Huilcamascco Huaracya	15	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	BLL	C	4/06/2025	TT	N
180	Claudio Carrasco Taype	14	Chipao	Asabamba	Llama	Q	N	H	BLL	A	4/06/2025	TT	N
181	Claudio Carrasco Taype	10	Chipao	Asabamba	Alpaca	H	B	H	4D	B	4/06/2025	TT	N
182	Claudio Carrasco Taype	9	Chipao	Asabamba	Alpaca	S	Manchado	H	BLL	C	4/06/2025	TT	N

Anexo 9. Evaluación estadística de la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según el distrito y la especie utilizando la prueba de Chi – cuadrado (χ^2).

Anexo 9.1. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en alpaca según el distrito.

Prueba de chi - cuadrado	Valor	Gl	Sig. Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,202 ^a	2	,017
Razón de verosimilitudes	8,294	2	,016
N de casos válidos	152		

0 casillas (0,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 6,68.

Anexo 9.2. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en llama según el distrito.

Prueba de chi - cuadrado	valor	Gl	Sig. Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,446 ^a	2	,800
Razón de verosimilitudes	,702	2	,704
N de casos válidos	30		

4 casillas (66,7%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,27.

Anexo 9.3. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según la especie.

Distrito	Positivos	Negativos	Total
Alpaca	35	117	152
Llama	8	22	30
Total	43	139	182

$\chi^2_c = 0.038 < \chi^2_t (0.05) = 3.84$

Anexo 10. Evaluación estadística de la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según el sexo y categoría etaria utilizando la prueba de Fisher.

Anexo 10.1. Influencia del sexo de la especie *Vicugna Pacos* en la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae*.

Sexo	Distrito	Total	Positivos (+)	Prevalencia (%)	P (Fisher)
Macho	Chuschi	3	0	0,0	NE
Macho	Sacsamarca	1	1	100,0	NE
Macho	Chipao	6	1	16,7	NE
Hembra	Chuschi	66	9	13,6	0,999
Hembra	Sacsamarca	28	10	35,7	0,379
Hembra	Chipao	48	14	29,2	0,648

Anexo 10.2. Influencia del sexo de la especie *Lama glama* en la prevalencia de *Sarcocystis aucheniae*.

Sexo	Positivos	Negativos	Total
Macho	2	12	14
Hembra	6	10	16
Total	8	22	30

$p = 0.226 > 0.05$

Anexo 10.3. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según la categoría etaria en la especie *Vicugna pacos*.

Categoría etaria	Distrito	Total	Positivos (+)	Prevalencia (%)	P (Fisher)
DL	Chuschi	2	0	0,0	0,214
2D	Chipao	1	0	0,0	
4D	Sacsamarca	4	1	25,0	
4D	Chipao	6	3	50,0	
BLL	Chuschi	69	9	13,0	
BLL	Sacsamarca	25	11	44,0	
BLL	Chipao	47	12	25,5	

p = 0.214 > 0.05

Anexo 10.4. Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* según la categoría etaria en la especie *Lama glama*.

Categoría etaria	Distrito	Total	Positivos (+)	Prevalencia (%)	P (Fisher)
2D	Chipao	1	0	0,0	0,438
4D	Chipao	1	1	100,0	
BLL	Chuschi	17	5	29,4	
BLL	Sacsamarca	1	0	0,0	
BLL	Chipao	10	2	20,0	

p = 0.438 > 0.05

Anexo 11. Matriz de consistencia.

Título: Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de alpaca y llama diagnosticado por PCR semianidada dúplex en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de Ayacucho.

Autora: Bach. Mirella Susan Conde Meneses

Asesor: Dr. Fidel Rodolfo Mujica Lengua

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	VARIABLE/ INDICADORES	METODOLOGÍA
Prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> en sangre de alpaca y llama diagnosticado por PCR semianidada dúplex en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de Ayacucho.	¿Cuál es la prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> en sangre de alpaca y llama diagnosticado por PCR semianidada dúplex, en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de Ayacucho?	Objetivo general: Determinar la prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> en sangre de alpaca y llama mediante PCR semianidada dúplex, en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de Ayacucho. Objetivos específicos: - Detectar la presencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> en muestras de sangre de alpacas y llamas mediante PCR semianidada dúplex. - Detectar la presencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> en muestras de sangre de alpacas y llamas según el sexo mediante PCR semianidada dúplex. - Detectar la presencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> en muestras de sangre de alpacas y llamas según la categoría etaria mediante PCR semianidada dúplex. - Estimar la prevalencia de la parasitosis en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de la región Ayacucho.	- Antecedentes <i>Sarcocystis aucheniae</i> - Ciclo biológico de <i>Sarcocystis aucheniae</i> - Patogenia - Epidemiología - Manifestaciones clínicas de la sarcocistosis en alpacas y llamas - Importancia de las alpacas y llamas y repercusiones de la sarcocistosis muscular - Determinación de la edad mediante la erupción dentaria en alpacas y llamas - PCR semianidada dúplex - Gen ARNr 18S	Prevalencia de <i>Sarcocystis aucheniae</i> - Frecuencia de animales positivos (amplicones de 583 pb) - Frecuencia de animales negativos (ausencia de amplicones) Especies hospedadoras (CSA): <i>Vicugna pacos</i> <i>Lama glama</i> Ubicación geográfica: - Chuschi - Sacsamarca - Chipao Sexo - Hembra - Macho Categoría etaria (Franco et al, 2009) 2D 4D - BLL	Tipo de Investigación No experimental, de tipo transversal y nivel descriptivo. Población Camélidos sudamericanos domésticos (alpacas y llamas) criados en las localidades de Chuschi, Sacsamarca y Chipao. Muestra 182 muestras de sangre (5 ml) y 1 tejido muscular de alpaca, criados en las localidades de Chuschi, Sacsamarca y Chipao. Técnica - Colectar muestras sanguíneas - Diagnosticar la presencia de ADN de <i>Sarcocystis aucheniae</i> en sangre de alpacas y llamas, mediante la prueba molecular de PCR semianidada dúplex - Determinar y comparar la prevalencia según el distrito, especie, sexo y categoría etaria Análisis estadístico: Se calcularán las frecuencias absolutas y frecuencias relativas (%) de animales positivos y negativos a <i>Sarcocystis aucheniae</i>, mediante las pruebas de Chi – cuadrado y Fisher.



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. Mirella Susan CONDE MENESES
RESOLUCIÓN DECANAL N° 121-2026-UNSCH-FCB-D

En la ciudad de Ayacucho, siendo las diez de la mañana del día viernes treinta y uno de julio del año dos mil veintiséis; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, actuando como presidente encargado el Dr. Yuri Oliver Ayala Sulca con memorando N° 166-2026-UNSCH-FCB con fecha veintidós de julio de dos mil veintiséis a su vez miembro - jurado, la Mg. Katherin Ruth Taco Quispe (miembro – jurado), el Dr. Fidel Rodolfo Mujica Lengua (miembro – asesor); actuando como secretaria docente encargada la Mg. Carolina Rayme Chalco con memorando N° 172-2026-UNSCH(IN)-FCB de fecha veintidós de julio de dos mil veintiséis, para presenciar la sustentación de tesis titulada: Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de alpaca y llama diagnosticado por PCR semianidada dúplex en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de Ayacucho, presentado por la Bach. Mirella Susan CONDE MENESES; el presidente luego de verificar la documentación que da fé al acto académico, indicó a la secretaria docente encargada dar lectura a la documentación, luego indicó a la sustentante que cuenta con un tiempo máximo de treinta minutos tal como se establece en el Reglamento General de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología, luego invitó a cada uno de los miembros del jurado a participar con sus preguntas y observaciones, luego invitó a abandonar el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas para que el jurado evaluador pueda realizar la deliberación correspondiente tal como se refleja a continuación:

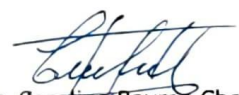
Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta/preguntas	Promedio
Dr. Yuri Oliver Ayala Sulca	18	18	18
Mg. Katherin Ruth Taco Quispe	19	18	19
Dr. Fidel Rodolfo Mujica Lengua	19	19	19
PROMEDIO			19

El sustentante alcanzó el promedio de diecinueve. El presidente invitó a ingresar a la sustentante y al público asistente al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. El presidente dio a conocer los resultados, indicando de este modo que ha concluido el presente acto académico. Firmando al pie de dicho documento en señal de conformidad, siendo las once y treinta de la mañana.


Dr. Yuri Oliver Ayala Sulca
Presidente (e)
Miembro -jurado


Mg. Katherin Ruth Taco Quispe
Miembro – Jurado


Dr. Fidel Rodolfo Mujica Lengua
Miembro – Asesor


Mg. Carolina Rayme Chalco
Secretaria Docente (e)



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA-ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

Nº 49-2026-FCB-D

Yo, SERAPIO ROMERO GAVILÁN, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de alpaca y llama diagnosticado por PCR semianidada dúplex en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de Ayacucho**, por MIRELLA SUSAN CONDE MENESES; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 5%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario Nº 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 03 de septiembre de 2026.


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela Profesional de Biología

Dr. Serapio Romero Gavilán
DIRECTOR

Prevalencia de *Sarcocystis aucheniae* en sangre de alpaca y llama diagnosticado por PCR semianidada dúplex en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de Ayacucho

por Mirella Susan Conde Meneses

Prevalencia de Sarcocystis aucheniae en sangre de alpaca y llama diagnosticado por PCR semianidada dúplex en los distritos de Chuschi, Sacsamarca y Chipao de Ayacucho

INFORME DE ORIGINALIDAD

5%	4%	3%	1%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net	1%
	Fuente de Internet	
2	Quispe Huanca, Marvin Pablo. "Correlación del peso vivo y rendimiento de carcasa con el número de macroquistes de sarcocistiosis en alpacas (Vicugna pacos) del camal de la Municipalidad Distrital de Macusani", Universidad Nacional del Altiplano de Puno (Peru), 2025	1%
	Publicación	
3	www.elsevier.es	1%
	Fuente de Internet	
4	Ramos De la Riva, Víctor Alberto. "Características fenotípicas de la fibra de alpaca huacaya en la región Apurímac.", Universidad Nacional del Altiplano de Puno (Peru)	1%
	Publicación	
5	repositorio.unsch.edu.pe	<1%
	Fuente de Internet	
6	sedici.unlp.edu.ar	<1%
	Fuente de Internet	
7	Submitted to Universidad Católica de Santa María	<1%
	Trabajo del estudiante	
8	repositorio.unica.edu.pe	<1%
	Fuente de Internet	
9	www.msc.es	<1%
	Fuente de Internet	
10	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	<1%
	Trabajo del estudiante	