Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

Análisis molecular del gen citocromo C oxidasa subunidad 1 en *Moniezia expansa* colectados en diversas localidades del Perú

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Evelyn Lady SANCHEZ ROSALES

ASESOR

Luis Antonio GÓMEZ PUERTA

Lima, Perú

2022



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Sanchez E. Análisis molecular del gen citocromo C oxidasa subunidad 1 en *Moniezia expansa* colectados en diversas localidades del Perú [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2022.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Evelyn Lady Sanchez Rosales
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	45482804
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-8391-3478
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Luis Antonio Gómez Puerta
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10810335
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-7909-979X
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	María Teresa López Urbina
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09145647
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Mariella Ramos Gonzalez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	43068125
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Luis Ramiro Luna Espinoza
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	41958220
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.4.1.5. Microbiología y Parasitología Veterinaria
Grupo de investigación	Ateneo abocado a responder amenazas y oportunidades del sector pecuario
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	País: Perú Departamento: Puno Provincia: Puno Distrito: Puno Dirección: Av. Floral 1153, Puno 21001 Latitud: -15.8243402 Longitud: -70.015479 Edificio: Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Dirección: Av. Circunvalación 2800 Latitud: -12.0814566 Longitud: -76.9877077
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Noviembre 2019 – Noviembre 2020
URL de disciplinas OCDE	Medicina Veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01 Epidemiología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.09 Parasitología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.07

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS EN MODALIDAD VIRTUAL
PARA OPTAR EL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIA
Autorizado por R.D N° 304-D-FMV-2020

1. **FECHA DE LA SUSTENTACIÓN 21/02/2022**

HORA INICIO: 10:00 horas

HORA TÉRMINO: 11:20 horas

2. **MIEMBROS DEL JURADO**

PRESIDENTE: **MV. Dra. López Urbina, María Teresa**

MIEMBRO: **MV. Dra. Ramos Gonzalez, Mariella**

MIEMBRO: **MV. Dr. Luna Espinoza, Luis Ramiro**

ASESOR: **MV. Mg. Gómez Puerta, Luis Antonio**

3. **DATOS DEL TESISTA**

APELLIDOS Y NOMBRES: **SANCHEZ ROSALES, EVELYN LADY**

CÓDIGO: *12080037*

R.R. DE GRADO DE TESISTA NÚMERO: **N° 012097-2019-R/UNMSM**

TÍTULO DE LA TESIS: **"ANÁLISIS MOLECULAR DEL GEN CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD 1 en *Moniezia expansa* COLECTADOS EN DIVERSAS LOCALIDADES DEL PERÚ"**

4. **RECOMENDACIONES**

Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación:
https: meet.google.com/nrd-yhej-ucc
ID: nrd-yhej-ucc
Grabación archivada en:
https://drive.google.com/file/d/1jJmnVAjxNwgiiFZwXSZvjkN6aTFrqZJf/view?usp=drivesdk

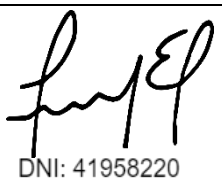
5. **NOTA OBTENIDA: …… 18, …(dieciocho)……**

6. **PÚBLICO ASISTENTE:** (Nombre, apellido y DNI)

Apellidos y Nombres	**DNI**	**Correo electrónico**
Evelyn Sanchez Rosales	45482804	esanchez2176@gmail.com
María Teresa López Urbina	09145647	mlopezu@unmsm.edu.pe
Luis Gómez Puerta	10810335	lgomezp@unmsm.edu.pe
Mariella Ramos Gonzalez	43068125	mramosgo@unmsm.edu.pe
Luis Ramiro Luna Espinoza	41958220	llunae@unmsm.edu.pe
Víctor Hugo Castillo Doloriert	40723051	vcastillod@unmsm.edu.pe
Luis Hoyos Sifuentes	41175479	luis.hoyos@unmsm.edu.pe
Faride Altamirano Zevallos	43695598	faltamiranoz@unmsm.edu.pe
Nathaly Ortíz Arias	70497532	nathy0208@gmail.com
Lizeth Hellen Sánchez Rosales	43892131	lizy.sanchez.1111@gmail.com
Leysi Karen Medina Dávila	70464089	leysi.22kmd@gmail.com
Lina Paola Ruíz Quispe	72609326	lina.ruiz.q@gmail.com
Moisés Salvatierra Luna	10868267	moisessalvatierraluna@gmail.com
Estela Rosales Herrera	06940706	estela.rohe@gmail.com
Carlos Andrés Pérez Chanduvi	41912458	patriacalida@hotmail.com
José Manuel Angulo Tisoc		jangulot@unmsm.edu.pe
Joel Jefferson Cuenca	48667693	joel.cuenca@unmsm.edu.pe
Mary Consuelo Sánchez	72217008	mary.sanchez@unmsm.edu.pe
Ada Pilar Lescano Cuya	41919229	0810245@unmsm.edu.pe
Valeria Roxanna Pérez	74582590	valeria.perez@unmsm.edu.pe
Diego Francisco Bernedo	73689981	diegobt97@gmail.com

7. **FIRMAS DE LOS MIEMBROS DEL JURADO**

Firma 
MV. Dra. López Urbina, María Teresa **Apellidos y Nombres**
PRESIDENTE

GOMEZ PUERTA Luis Antonio FAU 20148092282 soft Firmado digitalmente por GOMEZ PUERTA Luis Antonio FAU 20148092282 soft Nombre de reconocimiento (DN): c=PE, st=Lima, l=Lima, o=UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, 2.5.4.97=NTRPE-20148092282, ou=ENEP_PJ_RENIEC_SOLICITUD-00000367449, ou=20148092282, sn=GOMEZ PUERTA, givenName=Luis Antonio, serialNumber=PNOPE-10810335, cn=GOMEZ PUERTA Luis Antonio FAU 20148092282 soft Fecha: 2022.03.04 15:51:43 -05'00' **Firma**	 **Firma**	 DNI: 41958220 **Firma**
MV. Mg. Gómez Puerta, Luis Antonio **Apellidos y Nombres**	**MV. Dra. Ramos Gonzalez, Mariella** **Apellidos y Nombres**	**MV. Dr. Luna Espinoza, Luis Ramiro** **Apellidos y Nombres**
ASESOR DE LA TESIS	**MIEMBRO JURADO**	**MIEMBRO JURADO**

DEDICATORIA

A mi madre Estela Rosales por ser una mujer tan valiente, por haberme enseñado tanto y ser un ejemplo para mí. A mi padre José Sánchez por aquellos momentos de conversaciones, por comprender y guiarme más allá de la carrera universitaria. Así como a mi hermana Lizeth. Gracias por todo su cariño, trabajo y sacrificio estos años.

A mis abuelitos Gerardo, Clorinda, Ladislao y Eusebia por todo su cariño. Ustedes contribuyeron para que me acercara a esta profesión.

A Carlos por compartir mis alegrías y tristezas, por estar siempre a mi lado brindándome su cariño y apoyo incondicional todo este tiempo.

A mis pequeños (Candy, Ducy, Bebé, Ramón, Benoni) que ya no están a mi lado, pero que me dieron tanto cariño. A Maddie, Molly por su compañía y cariño.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Luis Gómez por su apoyo en el trabajo de tesis, gracias por su paciencia y comprensión. Gracias por todo lo aprendido en las diversas áreas del laboratorio.

A los miembros del Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su apoyo y gran aporte: A la Dra. López, Dr. Gonzales, Anita Vargas. Gracias por la oportunidad de realizar la tesis con ustedes en el laboratorio.

A mis grandes amigos: Nathy, por nuestra amistad desde pregrado y aun ahora. Linis y Pame, por la amistad formada desde la CAMe y a Andrecito por todas las risas durante las guardias.

ÍNDICE

RESUMEN v

ABSTRACT vi

LISTA DE ABREVIATURAS vii

LISTA DE CUADROS viii

LISTA DE FIGURAS ix

LISTA DE ANEXOS x

I. INTRODUCCION 1

II. REVISION BIBLIOGRAFICA 2

1 ETIOLOGIA 2

2 TAXONOMIA 2

3 CARACTERISTICAS Y ETAPAS DE DESARROLLO DEL PARASITO 6

3.1 Adulto 6

3.2 Huevo 8

3.3 Cisticercoide 8

3.4 Ácaro oribátido 9

4 CICLO BIOLOGICO 10

5 EPIDEMIOLOGÍA 11

6 SIGNOS CLÍNICOS 12

7 DIAGNÓSTICO 13

7.1 Diagnóstico macroscópico 13

7.2 Diagnóstico microscópico 13

7.3 Diagnóstico molecular 13

8 TRATAMIENTO 14

9 CONTROL Y PREVENCION 16

10 IMPACTO ECONÓMICO 17

III. MATERIALES Y METODOS 18

1 LUGAR DE EJECUCION Y PERIODO DE DURACION 18

2 TAMAÑO MUESTRAL 18

3 EXTRACCION DE ADN DE LOS PARÁSITOS 19

4 AMPLIFICACION PARCIAL DEL GEN CITOCROMO C OXIDASA SUB 1 (COX1) DE *Moniezia expansa* 20

5 ANÁLISIS DE SECUENCIAS 20

6 ANÁLISIS FILOGENÉTICO 21

IV. RESULTADOS 22

V. DISCUSIÓN 29

VI. CONCLUSIONES 33
VII. RECOMENDACIONES 34
VIII. LITERATURA CITADA 35

RESUMEN

La presencia de céstodos de *Moniezia* en artiodáctilos ha sido descrita desde 1810, encontrándose a lo largo del tiempo diversas especies de este género. Así, desde épocas antiguas hasta la actualidad, las especies de este céstodo continúan siendo motivo de investigación en diversos países. *Moniezia expansa* es una especie muy común en rumiantes domésticos de todo el mundo. Sin embargo, sus datos morfológicos y moleculares han demostrado que *M. expansa* es una especie compleja y las muestras analizadas están conformadas posiblemente por varias especies. En el presente estudio, se analizó las secuencias de nucleótidos del gen citocromo c oxidasa subunidad 1 (cox1) de diversos especímenes de *M. expansa* colectadas en Perú. Se trabajó con 31 especímenes de *M. expansa* colectados de ovinos, alpacas y cerdos, proveniente de diversas localidades del Perú. Se extrajo el ADN de los parásitos y se amplificó parcialmente el gen cox1 mediante la técnica de PCR, finalmente los productos PCR-positivos fueron secuenciados y analizados. El análisis molecular mostró una divergencia genética por pares de hasta 20.5% en los especímenes de *M. expansa* estudiados. Asimismo, se confirmó un total de siete haplotipos, los cuales formaron un total de tres grupos o clados en el árbol filogenético. El estudio demuestra que al menos existe tres especies de *Moniezia* no reconocidas previamente en el Perú, concluyendo que *M. expansa* corresponden a una especie "sensu lato".

Palabras claves: *Moniezia expansa*, secuenciación, Cox 1, artiodáctilos.

ABSTRACT

The presence of *Moniezia* cestodes in artiodactyls has been described since 1810, with various species of this genus being found over time. Thus, from ancient times to the present, the species of this tapeworm continue to be the subject of research in various countries. *Moniezia expansa* is a very common species in domestic ruminants around the world. However, their morphological and molecular data have shown that M. expansa is a complex species and the samples analyzed are possibly made up of several species. In the present study, the nucleotide sequences of the cytochrome c oxidase subunit 1 (cox1) gene of various specimens of *M. expansa* collected in Peru were analyzed. We worked with 31 specimens of *M. expansa* collected from sheep, alpacas and pigs, from various localities in Peru. The DNA of the parasites was extracted and the cox1 gene was partially amplified by the PCR technique, finally the PCR-positive products were sequenced and analyzed. Molecular analysis showed pairwise genetic divergence of up to 20.5% in the M. expansa specimens studied. Likewise, a total of seven haplotypes were confirmed, which formed a total of three groups or clades in the phylogenetic tree. The study shows that there are at least three species of *Moniezia* not previously recognized in Peru, concluding that *M. expansa* corresponds to a "sensu lato" species.

Keywords: *Moniezia expansa*, sequencing, Cox 1, artiodactyls.

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

ARN: Ácido Ribonucleico

BlastN: Basic Local Alignment Search Tool

Cox 1: Citocromo oxidasa subunidad 1

SERFOR: Servicio Nacional Forestal

IPG: Glándulas Interproglótidas

MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

Pb: Pares de bases

Tampón ATL: Tissue Lysis Buffer

Tampón AL: Lysis Buffer

Tampón AW1: Wash Buffer 1

Tampón AW2: Wash Buffer 2

LISTA DE CUADROS

Pág.

CUADRO 1. Taxonomía de *Moniezia* spp..……..…3

CUADRO 2. Especies de Moniezia reportado en artiodáctilos de todo el mundo……...…3

CUADRO 3. Especies de *Moniezia* registrada en el Perú, ubicación y hospederos…….5

CUADRO 4. Familia y cantidad de especies por género de ácaros oribátidos más comunes como hospederos intermediarios de *Moniezia* spp……....……9

CUADRO 5. Fármacos, dosis y vías de administración contra Moneziosis…….……..15

CUADRO 6. Muestras de *Moniezzia expansa* empleadas…..……..…… 19

CUADRO 7. Lista de especímenes de *Moniezia expansa* indicando el hospedero y procedencia, analizadas molecularmente en el presente estudio ……...…….….22

CUADRO 8. Distancias de las secuencias del gen cox1 mediante el análisis filogenético utilizando el modelo 2-parámetros de Kimura, junto a otras secuencias de *Moniezia* spp. disponibles en el GenBank para el Clado 1 …….....….26

CUADRO 9. Distancias de las secuencias del gen cox1 mediante el análisis filogenético utilizando el modelo 2-parámetros de Kimura, junto a otras secuencias de *Moniezia* spp. disponibles en el GenBank para el Clado 2 ….……...……...……..26

CUADRO 10. Distancias de las secuencias del gen cox1 mediante el análisis filogenético utilizando el modelo 2-parámetros de Kimura, junto a otras secuencias de *Moniezia* spp. disponibles en el GenBank para el Clado 3 …….....…28

LISTA DE FIGURAS

Pág.

FIGURA 1. Proglótidos maduros (superiores) y grávidos (debajo) de *Moniezia benedeni* (a) de bovinos y *Moniezia expansa* (b) de cabras; Las flechas indican glándulas interproglótidas ……..…….……..7

FIGURA 2. Proglótidos de *Moniezia* spp. obtenido de ovinos, caprinos y bovinos. Barras = 500 µm. (a) Proglotis con glándulas interproglótidas en forma de roseta (IPG: puntas de flecha). (b) Proglotis con IPG de patrón lineal (punta de flecha). (c) Proglotis sin IPG……..…….……...…….7

FIGURA 3. (a) Huevo de *Moniezia expansa* (b) Descripción interna de huevo de *Moniezia* (c) Huevo de *Moniezia benedeni*…..…….8

FIGURA 4. Cisticercoide de *Moniezia expansa*……...……..…..8

FIGURA 5. Ácaro oribátido; hospedero intermediario para la etapa cisticercoide de *Moniezia expansa*. En la parte inferior se ubica el cisticercoide...……..……10

FIGURA 6. Ciclo biológico de *Moniezia expansa*……..…..…….…….……11

FIGURA 7. Relaciones filogenéticas de *Moniezia* spp. colectadas de ovinos, cerdos y alpacas de Perú, inferidas por el método de Máxima Verosimilitud del gen cox1, con base en distancias genéticas calculadas por el modelo 2-parámetros de Kimura. ……..……...24

LISTA DE ANEXOS

Pág.

Anexo 1. Diversidad genética para M. expansa analizando parcialmente el gen cox1 del Clado 1. Los puntos (.) indican nucleótidos idénticos con las secuencias usadas como control (No de acceso del Genbank en paréntesis) ……...……40

Anexo 2. Diversidad genética para M. expansa analizando parcialmente el gen cox1 del Clado 2. Los puntos (.) indican nucleótidos idénticos con las secuencias usadas como control (No de acceso del Genbank en paréntesis) ……...…...41

Anexo 3: Diversidad genética para M. expansa analizando parcialmente el gen cox1 del Clado 3. Los puntos (.) indican nucleótidos idénticos con las secuencias usadas como control (No de acceso del Genbank en paréntesis) ……...…42

I. INTRODUCCIÓN

El género Moniezia está representado por 95 especies descritas, de las cuales 15 especies son consideradas válidas hasta la fecha. Durante mucho tiempo, los céstodos han tenido problemas con el diagnóstico taxonómico, esto debido a que muchas especies tienen estructuras anatómicas similares en posición, número y medida. Sin embargo, debido a los numerosos estudios realizados, se concluyó que las medidas del escólex, ventosas, órganos sexuales, glándulas interproglotídeas y huevos son los principales criterios para la identificación de especies de Moniezia (Spasskii, 1951).

En los últimos años, el uso de las técnicas moleculares ha proporcionado mejores herramientas para la identificación de especies de céstodos. En particular, la secuenciación del ADN mitocondrial ha sido utilizado con gran éxito para la identificación y caracterización genética de estos parásitos. Gracias a las técnicas moleculares, se ha logrado identificar la presencia de especies divergentes dentro de una misma especie de Moniezia. Estas especies divergentes son denominadas especies crípticas y se caracterizan por ser muy semejantes morfológicamente, pero distintas molecularmente. Recientemente se han identificado especies crípticas en *Moniezia expansa* y *Moniezia benedeni* (Haukisalmi *et al*., 2018).

En el Perú, todas las especies de Moniezia han sido identificadas morfológicamente, sin hacer uso de técnicas moleculares. Por lo tanto, es necesario realizar una caracterización molecular de las especies de Moniezia del Perú. Esto ayudará a validar el estado taxonómico de las especies, así como evaluar la existencia de especies crípticas en algunas de ellas. La presente tesis tuvo como objetivo analizar molecularmente el gen citocromo c oxidasa subunidad 1 de especies de Moniezia colectadas de diversas localidades del Perú.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1 ETIOLOGÍA

La monieziosis es una parasitosis gastrointestinal de los animales domésticos y salvajes con distribución mundial, donde encontramos diversas especies de Moniezia. Las más comúnmente descritas son *Monieza benedeni* y *Moniezia expansa* (Diop *et al*., 2015). Este último parasita predominantemente artiodáctilos como los bóvidos (vacuno, caprino, ovino, antílope, porcino), équidos y roedores (Spasskii, 1951; Beveridge, 1994).

2 TAXONOMÍA

El género Moniezia pertenece a la clase Cestoda, orden Cyclophillidea, familia Anoplocephalidae, subfamilia Anoplocephalinae, citado por Rudolphi en 1810 y redescrito por Spasskii en 1951. La primera revisión taxonómica del género enumeró siete especies como parásitos de rumiantes domésticos, pero Taylor más adelante planteó que *M. expansa* y *M. benedeni* eran las únicas que podrían ser aceptadas en estos hospederos (Theiler, 1924; Baer, 1927; Taylor, 1928). Esta opinión fue aceptada en la monografía de Spasskii (1961), y adoptada ampliamente en estudios posteriores. (Cuadro 1).

Cuadro 1. Taxonomía de *Moniezia* spp.
(Rudolphi, 1810; Spasskii, 1961)

Phylum	Platyhelminthes
Clase	Cestoda
Orden	Cyclophyllidea
Familia	Anoplocephalidae
Género	*Moniezia*
Especies	*Moniezia expansa* *Moniezia benedeni*

En el Global Cestode Database (2021) están registradas 41 especies de Moniezia que parasitan artiodáctilos, de las cuales 20 especies han sido validadas hasta la fecha (Cuadro 2). Sin embargo, continúan siendo motivo de estudio y se piensa que hay más especies que aún no han podido ser reportadas.

Cuadro 2. Especies de Moniezia reportado en artiodáctilos de todo el mundo. Adaptado del Global Cestode Database: http://tapewormdb.uconn.edu/index.php/parasites/species_results/1
(V = especie validada, NV = especie no validada)

	Género	**Especie**	**Hospedero**	**Nombre validado**	**País**
1	*Moniezia*	*aishraryae*	*Bos indicus*	V	India
2		*aurangabadensis*	*Ovis bharal*	V	India
3		*babai*	*Capra hircus*	NV	India
4		*benedeni*	*Ovis aries*	V	Francia
5		*bharalae*	*Ovis bharal*	V	India
6		*caprae*	*Capra hircus*	NV	Europa
7		*caprai*	*Capra hircus*	V	India
8		*chappuisi*	*Hippotragus beckeri*	V	Sudán
9		*denticulata*	*Bos taurus*	V	-
10		*devraoi*	*Capra hircus*	NV	India

11	*elongata*	*Capra hircus*	NV	India
12	*expansa*	*Ovis aries*	V	Italia
13	*fimbriata*	*Cervus mazama*	V	Brasil
14	*govindae*	*Capra hircus*	NV	India
15	*hircusae*	*Capra hircus*	NV	India
16	*interproglottina*	*Ovis bharal*	NV	India
17	*jadharii*	*Capra hircus*	NV	India
18	*jalnaensis*	*Ovis bharal*	V	India
19	*kalavati*	*Capra hircus*	NV	India
20	*madhukarae*	*Capra hircus*	NV	India
21	*maharashtrae*	*Capra hircus*	NV	India
22	*mansurae*	*Capra hircus*	NV	India
23	*marathwadensis*	*Capra hircus*	NV	India
24	*shegaonensis*	*Ovis bharal*	NV	India
25	*murhari*	*Capra hircus*	V	India
26	*neumanni*	*Ovis aries*	V	-
27	*nullicollis*	*Ovis aries*	V	-
28	*orientalis*	*Ovis bharal*	NV	India
29	*osmanabadensis*	*Capra hircus*	NV	India
30	*ovilla*	*Ovis aries*	V	-
31	*ovilla var. macilenta*	*Ovis aries*	NV	-
32	*ovisae*	*Ovis bharal*	NV	India
33	*pellucida*	*Ovis aries*	V	-
34	*rajalaensis*	*Capra hircus*	NV	India
35	*roshanensis*	*Ovis bharal*	NV	India
36	*rupicaprae*	*Capella rupicapra*	V	Switzerland
37	*shindei*	*Ovis bharal*	V	India
38	*sureshi*	*Capra hircus*	NV	India
39	*translucida*	*Ovis aries*	V	EE.UU
40	*trigonophora*	*Ovis aries*	V	-
41	*warananagarensis*	*Capra hircus*	V	India

En Perú, se encontraron dos especies de Moniezia: *Moniezia benedeni* y *Moniezia expansa*, registradas en diversos departamentos del Perú. Estas especies han sido reportadas en varios hospederos, los cuales incluyen a ovinos, bovinos, caprinos y camélidos sudamericanos (Cuadro 3) (Centro de Estudios para el Desarrollo Regional, 2008; Zaldivar, 1991; Lupaca, 2017).

Cuadro 3. Especies de *Moniezia* registrada en el Perú, ubicación y hospederos (Zaldivar, 1991).

Especies	**Departamento**	**Provincia**	**Hospedero**
Moniezia benedeni	Amazonas	Toribio Rodríguez de Mendoza	Bovino
	Apurímac	Abancay	Bovino Ovino
	Arequipa	Castilla	Bovino
	Huánuco	Inca	Bovino Ovino
	Loreto	Alto Amazonas Maynas	Bovino
	Cusco	Anta Canas	Bovino CSA (alpaca) Ovino
	Ayacucho	Lucanas Huamanga	CSA (vicuña)
	Puno	Chucuito, Melgar San Román	Bovino CSA (llama) Ovino
	Tacna	---	CSA (alpaca)
	Moquegua	---	CSA (alpaca)
	Lambayeque	---	Bovino Ovino
	Cajamarca	Celendín Hualgayoc San Marcos San Pablo	Ovino
	Madre de Dios	Tambopata	Bovino
	Ayacucho	Lucanas Huamanga	CSA (vicuña)
	Ancash	Huari Recuay	Ovino
	Junín	Jauja Tarma, Yauli	Ovino
	San Martín	Mariscal Cáceres	Ovino
	Pasco	---	Ovino

	Callao	---	Bovino
Moniezia expansa	Puno	Chucuito, Melgar San Román	Bovino CSA (llama) Ovino
	Ayacucho	Lucanas	CSA (vicuña)
	Ancash	Huari Recuay	Ovino
	Apurímac	Abancay	Ovino
	Ica	Chincha	Caprino
	Junín	Yauli Jauja	Ovino
	San Martín	Mariscal Cáceres	Ovino
	Cusco	Canas Espinar	CSA (alpaca, llama) Ovino
	Huánuco	Inca	CSA (alpaca) Ovino
	Cajamarca	Chota	Ovino
	Pasco	---	Ovino

3 CARACTERÍSTICAS Y ETAPAS DE DESARROLLO DEL PARÁSITO

Moniezia expansa es un parásito inerme, posee ventosas, diferenciación morfológica caracterizada por el escólex, cuello y estróbilo. El escólex que mide menos de 1 mm, posee a las ventosas. La pequeña región del cuello es la zona de diferenciación continua que produce proglótidos inmaduros, pero el estróbilo representa la mayor parte del cuerpo, de cadena larga dentro de la cual ubicamos órganos sexuales con diferentes estadios de maduración; de anterior a posterior encontramos los proglotis inmaduros, maduros y grávidos, con dos juegos de órganos reproductores en cada uno de ellos (Diop *et al*., 2015). Cuando un proglotis grávido llega a la última porción del estróbilo se libera y puede salir intacta con las heces o desintegrarse parcialmente antes de desembocar en el ano (Zhao, 2009).

3.1. Adulto

Moniezia expansa mide aproximadamente 6 metros de largo por 1.6 cm de ancho, con un escólex de 0.3 a 0.8 mm de diámetro, cuatro ventosas voluminosas y proglotis más anchos que largos; cada uno tiene un par de órganos genitales; los ovarios y glándulas vitelógenas forman un anillo en torno a cada par. Los testículos ocupan los

espacios centrales del proglotis o hacia los lados (Quiroz, 2008). También poseen glándulas interproglotídeas dispuestas en forma de roseta que se extiende por el ancho de los segmentos maduros (Figura 1 y 2) (Spasskii, 1961).

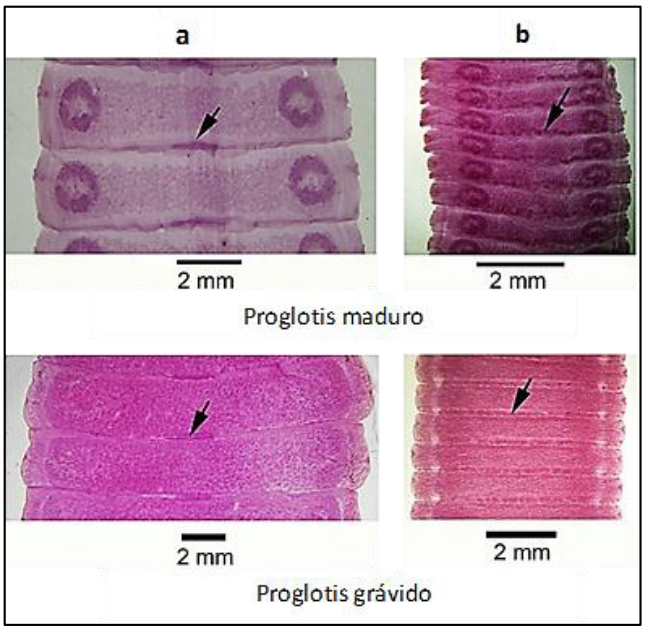


Figura 1. Proglótidos maduros (superiores) y grávidos (debajo) de *Moniezia benedeni* (a) de bovinos y *Moniezia expansa* (b) de cabras; Las flechas indican glándulas interproglótidas (Tam, 2019).

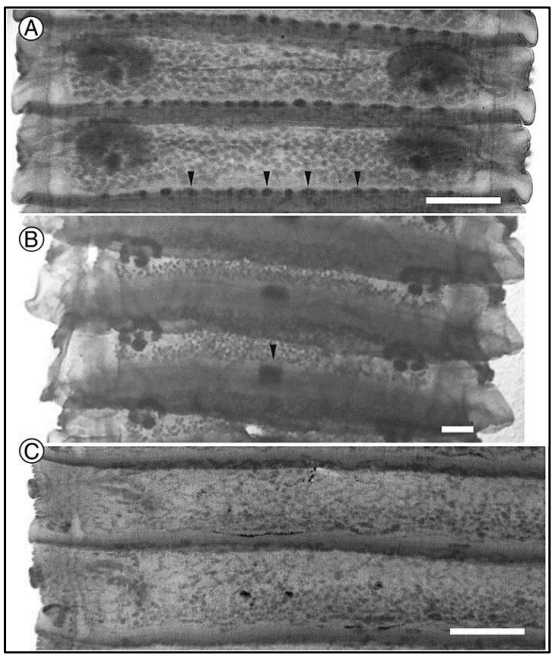


Figura 2. Proglótidos de *Moniezia* spp. obtenido de ovinos, caprinos y bovinos. Barras = 500 µm. (A) Proglotis con glándulas interproglótidas en forma de roseta (IPG: puntas de flecha). (B) Proglotis con IPG de patrón lineal (punta de flecha). (C) Proglotis sin IPG. (Diop, 2015)

3.2. Huevo

Moniezia expansa tiene forma triangular o esferoide en cuyo centro podemos observar un aparato piriforme bastante desarrollado (Figura 3a y 3b); mide entre 56 a 67 micras de diámetro aproximadamente (Quiroz, 2001). *Moniezia benedeni* posee en cambio forma cuadrangular y su aparato piriforme es redondeado (Figura 3c), con un diámetro que va de 55 a 75 micras (Urquhart, 2001).

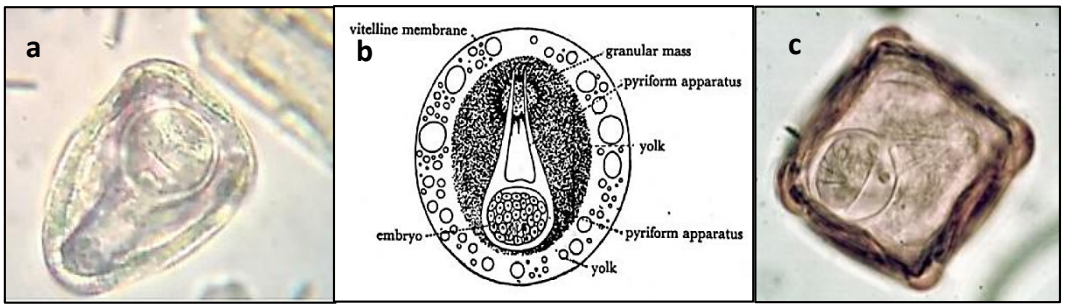


Figura 3. (a) Huevo de *Moniezia expansa* (b) Descripción interna de huevo de Moniezia (c) Huevo de *Moniezia benedeni* (Varcárcel, 2010)

3.3. Cisticercoide

En esta etapa; el desarrollo no ha podido ser establecido con claridad, debido al tamaño demasiado pequeño de la larva, pero se sabe a grandes rasgos que ocurre la retracción del escólex y será quien infecte al hospedero intermediario: ácaros oribátidos. El cisticercoide cuenta con una medida aproximada de 150 micras (Figura 4) (Caley, 1976).



Figura 4. Cisticercoide de *Moniezia expansa* (Varcárcel, 2010).

3.4. Ácaros oribátidos

Denegri (1993) menciona que existen más de 125 especies de ácaros oribátidos, de las cuales aproximadamente 45 especies se encuentran infectadas naturalmente por los cisticercoides de la familia Anoplocephalidae, aunque de forma experimental se han encontrado más especies. Existen cuatro familias de ácaros oribátidos mas importantes: Ceratozetidae, Galumnidae, Oribatulidae y Scheloribatidae; cada uno de ellos con sus respectivos géneros participan como hospederos intermediarios de los cisticercoides de *Moniezia* spp. (Denegri, 1993) (Cuadro 4)**.**

Se considera que los factores más relevantes para la infección con estos cisticercoides son las grandes dimensiones corporales de los ácaros (1.2 mm aproximadamente) lo cual favorece la capacidad para ingerir los huevos de *Moniezia* spp, así como la estructura de los quelíceros, el tipo de dieta y la afinidad por migrar del suelo hacia los pastizales (Mullen y Oconnor, 2002) (Figura 5).

Cuadro 4. Familia y cantidad de especies por género de ácaros oribátidos más comunes como hospederos intermediarios de *Moniezia* spp. Basado en Allred (1954), Sengbusch (1977), Narsapur (1988) y Denegri (1993)

Familia	**Ceratozetidae**	**Galumnidae**	**Oribatulidae**	**Scheloribatidae**
Género	*Ceratozetes* (4) *Hipozetes* (1) *Tricoribatos* (3)	*Allogalumna (3)* *Galumna* (15) *Pergalumna* (2) *Pilogalumna* (1)	*Liebstadia* (1)	*Scheloribates* (14) *Urubambates* (1)

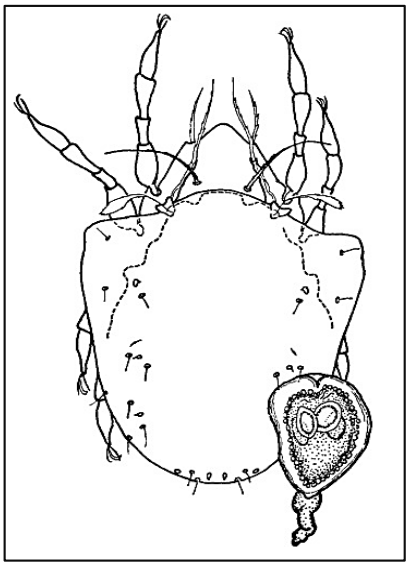


Figura 5. Ácaro oribátido; hospedero intermediario para la etapa cisticercoide de *Moniezia expansa*. En la parte inferior se ubica el cisticercoide. (Sengbusch, 1977).

4. CICLO BIOLÓGICO

Las especies de Moniezia tienen un ciclo biológico indirecto; los huevos salen al medio ambiente mediante las heces depositadas por el ovino infectado, muchas veces contenidas en los proglotis. (Diop *et al*., 2015) Una vez en el medio ambiente, los ácaros oribátidos, actúan como hospederos intermediarios, al fragmentar los huevos con sus quelíceros e ingerir al embrión u oncósfera, siendo esta última quien penetre la pared del intestino medio hasta llegar al hemocele, donde desarrollará su etapa cisticercoidea. Todo este proceso tomará 4 semanas aproximadamente. Luego los ácaros al entrar en contacto con el pastizal o arroyos, van a ser fácilmente ingeridos por ovinos; que son los hospederos definitivos (Mullen y Oconnor, 2002). Se producirá la eclosión de los cisticercoides de *Moniezia spp*. luego de su maduración en el lapso de 37 a 40 días en los corderos y de 47 a 50 días en los terneros, entonces las larvas, que cuentan con un movimiento activo llegarán al intestino delgado, donde se adhieren a la mucosa, formando su estróbilo, convirtiéndose en céstodos adultos y al alcanzar la adultez, aproximadamente a las 5 o 6 semanas de ingerir el parásito, contarán con proglotis maduros que podrán vivir de 2 a 6 meses periodo durante el cual pueden expulsar gran cantidad de huevos, produciéndose así la moneziosis, que conllevará a los trastornos gastrointestinales (Mullen y Oconnor, 2002; Diop *et al*., 2015) Cabe resaltar que en

muchas ocasiones las tenias se excretan espontáneamente del cuerpo después de vivir en el intestino delgado del animal. (Figura 6) (Guo, 2017).

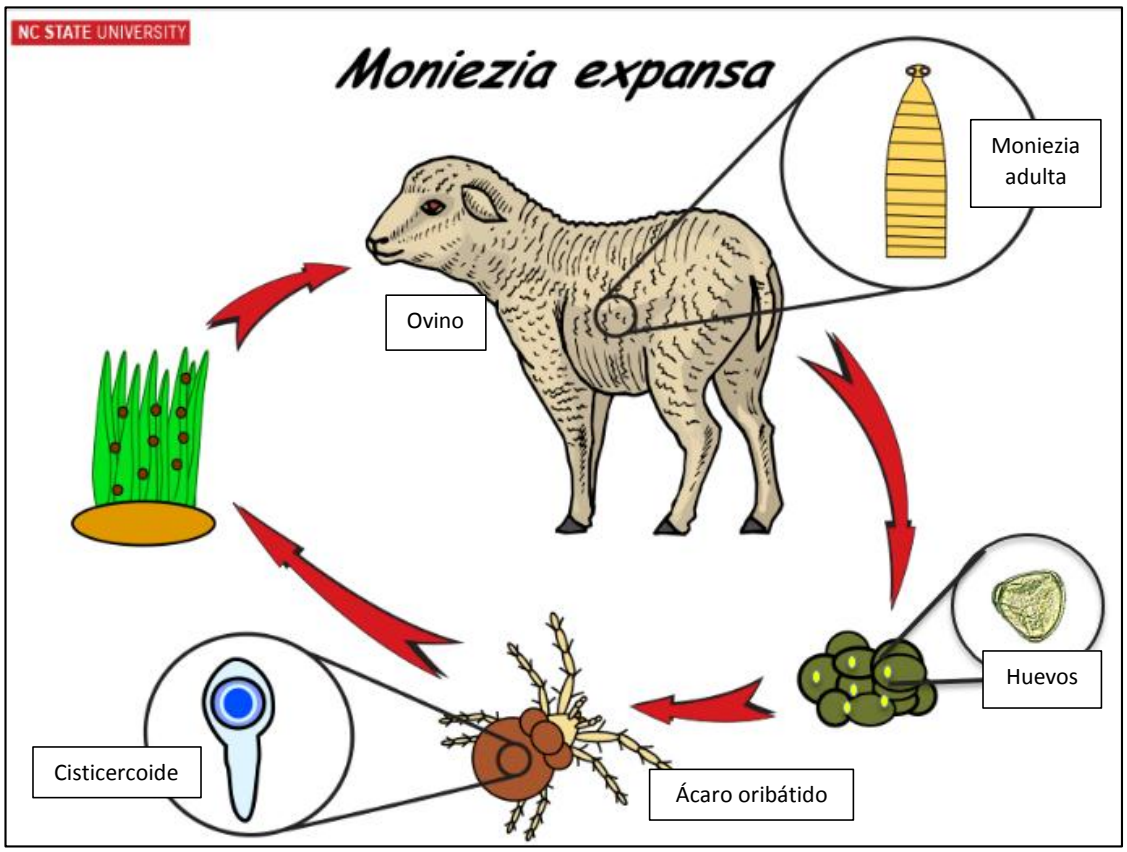


Figura 6. Ciclo biológico de *Moniezia expansa*. (Adaptado de Universidad Estatal de Carolina del Norte https://parasitology.cvm.ncsu.edu/life_cycles/cestodes/moniezia.html)

5. EPIDEMIOLOGÍA

Las especies de *Moniezia* han sido consideradas las tenias más frecuentes en los artidáctilos, cuentan con una amplia distribución mundial (Jyoti *et al*., 2014; Diop *et al*., 2015). La infección es variable debido al grado de susceptibilidad de los individuos por lo que es altamente común en animales jóvenes (cabritos, terneros y corderos), obteniéndose altas cargas parasitarias durante el primer año de vida, la misma que disminuye considerablemente mientras más avanzada sea la edad del animal. Es importante resaltar su presencia sobre todo en animales alimentados al pastoreo, en quienes se perpetúa la contaminación (Urquhart, 2001).

La cestodosis tiene carácter estacional en la incidencia de las infecciones por *Moniezia*, la cual se relaciona con el nacimiento de las crías y la presentación clínica (Quiroz, 2008). En zonas templadas además puede estar relacionada aparentemente con los periodos activos de los ácaros oribátidos del pasto durante el verano. Por otra parte, los cisticercoides tienen alta tasa de sobrevivencia, durante el invierno, en los ácaros (Urquhart, 2001).

En nuestro país cuenta con amplia distribución, sobre todo en la región alto andina y repercute negativamente en el desarrollo de los animales, provocando pérdidas económicas para los productores (Cordero del Campillo *et al*., 1999).

6. SIGNOS CLÍNICOS

La moneziosis ha sido considerada una parasitosis de importancia básicamente por la oclusión y competición de estos céstodos con el organismo del hospedero por la absorción de los nutrientes a nivel del tracto intestinal, principalmente en el intestino delgado, trayendo como consecuencia problemas en el peristaltismo y acumulación de gases en abundante cantidad, lo que conllevaría a la proliferación de bacterias anaerobias como *Clostridium* spp, que a través de sus toxinas pueden ocasionar trastornos digestivos, disminución del crecimiento, por ende baja conversión cárnica y de lana, según la especie; que en casos más severos produciría la muerte. Por tanto, las lesiones multiorgánicas dependerán de la magnitud de la infección y especie parasitaria, siendo más patógenas en animales de especies jóvenes que en aquellos mayores de 18 meses de edad, considerados adultos (Armour, 1989).

Elliot (2011) realizó una revisión de la literatura a nivel mundial encontrando que hay dos grupos en cuanto a la signología por moneziosis: (a) Aquellos que reportan toda una serie de signos clínicos para esta enfermedad encontrándose trastornos digestivos como bloqueo mecánico de intestino por la acumulación de vermes, constipación, diarrea, lo que consecuentemente genera retraso en el crecimiento, emaciación, edema, anemia, pérdida de lana, caquexia. Un número excesivo de tenias a veces puede formar agregaciones que causan obstrucción intestinal, torsión intestinal e

incluso ruptura intestinal, y en ocasiones la muerte o muerte súbita después de un periodo de convulsiones o toxemia aguda. (Liu *et al*., 2019); y (b) aquellos que en oposición consideran que rara vez causan una enfermedad grave y refieren que las infecciones son generalmente asintomáticas.

7. DIAGNÓSTICO

Podemos encontrar una variedad de métodos diagnósticos, clasificados de la siguiente forma:

7.1. Diagnóstico macroscópico

La evaluación macroscópica está subdividida en un *diagnóstico antemortem*, el cual se fundamenta en la signología, así como la visualización de los proglótidos en las heces de los animales, para orientarnos hacia el diagnóstico de Monieziosis. Por otro lado, en el *diagnóstico postmortem* se realiza la evaluación de los estadios del parásito, cuantificándolos y estimando el área que podrían ocupar dentro del tracto digestivo del animal (Quiroz, 2008).

7.2. Diagnóstico microscópico

Está basado en el diagnóstico de laboratorio, donde se pueden emplear métodos cualitativos y/o cuantitativos. El método directo es el método coproparasitológico cualitativo usualmente empleado, donde se puede observar los huevos de Moniezia. Adicionalmente se emplea el método de flotación simple, como método cualitativo, mediante el tamizado y separación de los proglotis, para poder colectar los huevos de Moniezia. Se puede realizar el método de flotación cuantitativa con el uso de solución azucarada de Sheather, donde se realiza el conteo del mismo y estimación de la carga parasitaria (Quiroz, 2008).

7.3. Diagnóstico molecular

El desarrollo de las técnicas moleculares ha proporcionado mejores herramientas para la identificación de especies de parásitos y para investigar las relaciones entre ellas. En particular, se ha utilizado con éxito la secuenciación del ADN mitocondrial para la

identificación y caracterización genética de estos parásitos (Bowles y McManus, 1994; Nakao *et al*., 2013, Haukisalmi *et al*., 2018).

Gracias a estas técnicas, se ha demostrado que los genes mitocondriales de los céstodos no solo hacen que el diagnóstico de las especies sea más confiable, sino que también proporcionan marcadores genéticos útiles para identificar diferentes etapas del ciclo de vida y para investigar su genética de poblaciones, ecología y epidemiología. Uno de estos marcadores es el gen citocromo c oxidasa subunidad 1 (cox1) del ADN mitocondrial, el cual ha demostrado ser muy eficaz para céstodos (Haukisalmi *et al*., 2018).

En un estudio realizado por Zhao en el 2009 se describió y construyó una biblioteca de ADN y el perfil de expresión de genes parciales de *M. expansa*. Se secuenciaron y analizaron 1081 unigenes, los cuales han servido para la identificación de nuevos genes y mayor comprensión de la expresión génica. Por otra parte, la construcción de esta biblioteca de ADN aportó para el conocimiento del crecimiento, reproducción y funciones metabólicas de la tenia.

Actualmente, existe evidencia molecular sólida la cual indica que los céstodos identificables morfológicamente como *M. expansa* o *M. benedeni* en realidad incluyen múltiples especies, aparentemente crípticas (Bâ *et al*., 1993, Johnson y Hoberg 1989, Chilton *et al*., 2007). Un estudio que evaluó la variación de la secuencia del ADN de *M. expansa* y *M. benedeni* en rumiantes domésticos de África, mostró diferencias genéticas de variación interespecífica dentro de ambas especies (Diop *et al*., 2015).

8. TRATAMIENTO

La forma de tratar las infecciones causadas por Moniezia en rumiantes es con el empleo de fármacos antihelmínticos. Es una amplia gama, lo que confiere diversas variaciones y combinaciones farmacológicas. (Domke *et al*., 2011) Se incluye la niclosamida, praziquantel, bunamidina, diversos probenzimidazoles y benzimidazoles de amplio espectro (Urquhart, 2001) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Fármacos, dosis y vías de administración contra Moneziosis. (Bowman, 2011)

Fármaco	Dosis	Vía de administración
Netobimin	7.5 – 20 mg/kg PV	Oral o inyectable
Fenbendazol	5-25 mg/kg PV	Oral
Oxfendazol	2.5 mg/kg PV	Oral
Luxanbendazol	7.5-10 mg/kg PV	Oral
Albendazol	7.5 mg/kg PV	Oral
Bunamidina	25-50 mg/kg PV	Oral
Niclosamida	100-150 mg/kg PV	Oral
Resorantel	70 mg/kg PV	Oral
Praziquantel	10-15 mg/kg PV	Oral o parenteral

Actualmente el fármaco más adecuado para el tratamiento de la moneziosis es niclosamida, debido a su eficacia contra tenias (Elliott 1986). En animales jóvenes el tratamiento se puede instaurar cada 6 semanas y el dirigido al ganado adulto se puede reajustar realizando control parasitológico de las heces (Jackson *et al.,* 2009). Cabe señalar que se está presentando casos de resistencia a los antihelmínticos, esto por el uso indiscriminado de fármacos y un mal empleo de protocolos antiparasitarios en los pequeños rumiantes (Domke *et al*., 2011).

Gibson (1975) da referencias sobre los compuestos empleados para la eliminación de *M. expansa* en ovejas, y enumera sulfato de cobre, mezcla de sulfato de cobre y sulfato de nicotina, trisulfuro de arsénico, arseniato de plomo, arseniato de estaño, diclorofeno, niclosamida, acetoarsenita cúprica, hidroxinaftoato de hunamidina y resorantel. Posteriormente se empleó en mayor porcentaje el sulfato de cobre en solución al 1%, a dosis de 0.02 g/kg. La vía de administración es mediante el uso de sondas esofágicas o con pistolas de dosificación, donde recomiendan que el animal este en ayunas como mínimo 12 horas. Su eficacia es variable (Quiroz, 2008).

9. CONTROL Y PREVENCIÓN

Es de importancia conocer las correctas practicas sobre el control de la moneziosis, ya que aporta una base para el desarrollo de guías enfocadas en la prevención (Domke *et al*., 2011).

Actualmente, existe el uso de quimiterápicos, inmunomanipulación y/o manejo del ambiente de pastoreo para el control profiláctico, aunque es conocido también el alto empleo de antihelmínticos por parte de los agricultores y/o ganaderos. (Jackson *et al.,* 2009). En cuanto al manejo del ambiente de pastoreo puede resultar beneficioso el arado y resembrado, así como separación de los animales para evitar su reinfección al consumir los pastos contaminados, debido a que la mayoría de los productos antihelmínticos carecen de efecto ovicida (Urquhart, 2001).

Es recomendable para el control realizar desparasitaciones periódicamente, por ello el grupo considerado inicialmente deberían ser madres gestantes antes del parto, así como las crías al cumplir 1 – 2 meses de edad, así como evitar que el excremento de los animales medicados contamine pastos limpios. También es importante realizar el descarte de parasitosis en los potreros antes de realizar el ingreso de animales (Cordero del Campillo *et al*., 1999).

Internacionalmente existe un interés creciente en los forrajes bioactivos, debido a su posible efecto antihelmíntico directo y/o efecto antihelmíntico indirecto, esto se fundamenta en los efectos nutricionales que producen la estimulación de la respuesta inmunitaria del hospedero contra los nemátodos. En el futuro, se puede ver gran interés en el área de la inmunomanipulación, donde los avances actuales en genómica y proteómica ofrezcan un margen para el desarrollo de vacunas y marcadores genéticos o biológicos asociados con la infección o la inmunidad efectiva. Se podrá identificar y seleccionar animales genéticamente resistentes durante muchos años mediante el uso de marcadores fenotípicos para el endoparasitismo (Jackson *et al*., 2009).

10. IMPACTO ECONÓMICO

Las infestaciones parasitarias internas actualmente continúan considerándose un gran gasto económico por parte de las industrias ganaderas, teniendo su fundamento en la pérdida de productividad, por ende, el empleo de fármacos para su tratamiento y control (Jackson *et al*., 2009).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. LUGAR DE EJECUCIÓN Y PERIODO DE DURACIÓN

El presente estudio fue realizado en el Laboratorio de Epidemiologia y Economía Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicada en el distrito de San Borja en el departamento de Lima. El periodo de ejecución del trabajo fue durante los meses de noviembre del 2019 a noviembre del 2020.

2. TAMAÑO MUESTRAL

Se utilizaron un total de 31 especímenes morfológicamente identificados como *Moniezia expansa* pertenecientes a la Colección de Parásitos del Laboratorio de Epidemiologia y Economía Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV), Lima, Perú (SERFOR RDG N° 023-2018) (Cuadro 6). Cada especimen se mantenía en frascos de 60 ml, herméticamente sellados con alcohol al 70% en volumen total de 40 ml, debidamente rotulados con fecha de colección y lugar de procedencia. El tamaño de la muestra para evaluar la diversidad de nucleótidos es de 30 especímenes como mínimo. Con esta mínima cantidad de muestra existe la probabilidad de encontrar un máximo de 25 haplotipos (Luo *et al*., 2015). La especie *M. expansa* fue identificada tiñendo los especímenes con carmín acético de Semichon, el cual facilita la observación de las glándulas interproglotídeas (Liu *et al*., 2019).

Cuadro 6. Muestras de *M. expansa* empleadas.

Hospedero	Nº especímenes	Procedencia
Cerdo	4	Tumbes
Alpaca	3	Cusco
Ovino	2	Cusco
Ovino	9	Cerro de Pasco
Alpaca	3	Puno
Ovino	10	Puno

Morfología de las muestras

Las muestras empleadas fueron de *Moniezia expansa* en estadio adulto, tenían aproximadamente 1 metro de largo por 1 cm de ancho. Los proglotis más anchos que largos. Microscópicamente se podía identificar 04 ventosas. En los segmentos maduros se podía observar las glándulas interproglotídeas en forma de roseta y distanciadas entre ellas.

3. EXTRACCIÓN DE ADN DE LOS PARÁSITOS

La extracción de ADN se realizó utilizando los últimos segmentos del céstodo (proglotis grávidos). Para ello, se utilizó el kit DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN, EE.UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Aproximadamente 3 mm^3 del proglotis fue utilizado y colocado en un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml. Luego se añadió 180 µl de tampón ATL y 20 µl de proteinasa K. La muestra homogeneizada fue incubada a 56 °C por 12 horas. Luego se agregó 200 µl de tampón AL y 200 µl de etanol absoluto. El contenido de este vial fue transferido a la columna de centrifugado DNeasy Mini y se colocó en un tubo de 2 ml. Se centrifugaron a 6000 g durante un minuto y se desechó el filtrado con el tubo de 2 ml. Luego, se colocó la columna de centrifugación DNeasy Mini en un nuevo tubo de 2 ml, se agregó 500 µl de tampón AW1 y se centrifugó durante un minuto a 6000 g. Se desechó el filtrado con el tubo de 2 ml. Se colocó la columna de centrifugación DNeasy Mini en un nuevo tubo de 2 ml, se agregó 500 µl de tampón AW2 y se centrifugó durante tres minutos a 20000 g para secar la membrana de la columna de centrifugación

DNeasy Mini. Se desechó el filtrado con el tubo de 2 ml. Se colocó la columna de centrifugación DNeasy Mini en un tubo limpio de microcentrífuga de 1.5 ml se agregó 200 µl de tampón AE directamente sobre la membrana DNeasy para centrifugar durante un minuto a 6000 g. El ADN obtenido fue almacenado a -20 °C hasta su uso.

4. AMPLIFICACIÓN PARCIAL DEL GEN CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD 1 (COX1) DE *Moniezia expansa*

Cada muestra de ADN de Moniezia fue sometido a una amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para amplificar parcialmente el gen cox1. Se amplificaron aproximadamente 400 pares de bases utilizando los siguientes cebadores: JB3 (5' TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT 3') y JB4.5 (5' TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG 3') (Bowles y McManus, 1994). Cada mezcla de reacción de PCR tuvo: 4 µl de ADN, 25 µl de la mezcla maestra DreamTaq TM Master Mix (2X) (Thermo Scientific, Lihuana), 10 pmol de cada cebador, 6 µg de albúmina de suero bovino y agua libre de ARNasa, donde se obtuvo un volumen final de 50 µl. Se incluyó un control negativo y positivo en cada serie de PCR. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador Applied Biosystems SimpliAmp (Thermo Fisher Scientific Inc., EE.UU.). Las condiciones del termociclador fueron: al inicio subió la temperatura a 95 °C durante 15 minutos, continuando con 36 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 45 segundos, alineación de 55 °C durante 45 segundos, extensión de 72 °C durante un minuto y extensión final a 72 °C durante 10 minutos (Bowles y McManus, 1994). Los productos de la PCR fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% y se visualizaron después de la tinción con bromuro de etidio.

5. ANÁLISIS DE SECUENCIAS

Los productos PCR-positivos fueron enviados a la empresa Macrogen Ltd. (Corea del Sur) para su purificación y secuenciación. La secuenciación fue realizada en ambas direcciones usando los cebadores JB3 y JB4.5. La secuencia de nucleótidos que se obtuvo de cada muestra fue analizada y limpiada, utilizando el programa ChromasPro. Las secuencias obtenidas (Anexo 1, 2 y 3) fueron comparadas con las

secuencias de referencia de la base de datos del GenBank utilizando el BlastN. El programa BioEdit fue utilizado para observar las diferencias de nucleótidos entre las secuencias obtenidas.

6. ANÁLISIS FILOGENÉTICO.

El análisis filogenético empleó el método estadístico de máxima verosimilitud usando el programa MegaX. Se eligió este método para evaluar relaciones evolutivas entre las secuencias de nucleótidos del gen cox1 de especímenes de *M. expansa*. Para el análisis filogenético y evaluación de las distancias genéticas se aplicó el método Bootstrap con 1000 repeticiones y el modelo propuesto por Kimura-2, el cual fue elegido como mejor modelo por el programa MegaX. Las tasas de sustitución fueron uniformes considerando la eliminación parcial para el tratamiento de lagunas/datos faltantes y 95% de corte de cobertura del sitio (Kumar *et al.,* 2018; Tamura *et al*., 2004).

IV. RESULTADOS

Un total de 31 céstodos colectados de diferentes hospederos fueron diagnosticados como *Moniezia expansa* debido a sus características morfológicas (Cuadro 7). Entre las principales características destacan los proglotis más anchos que largos, glándulas interproglotídeas en forma de roseta y distantes una con otras, y forma triangular de los huevos, los cuales tienen un aparato piriforme.

Cuadro 7. Lista de especímenes de *Moniezia expansa*, indicando el hospedero y procedencia, analizadas molecularmente en el presente estudio.

Identificación de la muestra	Hospedero	Localidad	Fecha de colecta
Muestra 01	Cerdo	Tumbes	19/04/2010
Muestra 02	Cerdo	Tumbes	19/04/2010
Muestra 03	Cerdo	Tumbes	23/08/2005
Muestra 04	Cerdo	Tumbes	23/08/2005
Muestra 05	Alpaca	Cusco	23/04/2018
Muestra 06	Alpaca	Cusco	23/04/2018
Muestra 07	Alpaca	Cusco	23/04/2018
Muestra 08	Alpaca	Puno	20/04/2018
Muestra 09	Alpaca	Puno	20/04/2018
Muestra 10	Alpaca	Puno	20/04/2018
Muestra 11	Ovino	Puno	16/02/2018
Muestra 12	Ovino	Cusco	23/02/2018
Muestra 13	Ovino	Cusco	23/02/2018

Muestra 14	Ovino	Puno	16/02/2018
Muestra 15	Ovino	Puno	16/02/2018
Muestra 16	Ovino	Puno	16/02/2018
Muestra 17	Ovino	Cerro de Pasco	12/09/2018
Muestra 18	Ovino	Cerro de Pasco	12/09/2018
Muestra 19	Ovino	Cerro de Pasco	12/09/2018
Muestra 20	Ovino	Cerro de Pasco	12/09/2018
Muestra 21	Ovino	Cerro de Pasco	12/09/2018
Muestra 22	Ovino	Cerro de Pasco	12/09/2018
Muestra 23	Ovino	Cerro de Pasco	12/09/2018
Muestra 24	Ovino	Puno	16/02/2018
Muestra 25	Ovino	Puno	16/02/2018
Muestra 26	Ovino	Puno	16/02/2018
Muestra 27	Ovino	Puno	16/02/2018
Muestra 28	Ovino	Puno	16/02/2018
Muestra 29	Ovino	Puno	16/02/2018
Muestra 30	Ovino	Cerro de Pasco	12/09/2018
Muestra 31	Ovino	Cerro de Pasco	12/09/2018

Los ejemplares de *M. expansa* fueron analizados molecularmente, logrando amplificar parcialmente la secuencia de nucleótidos del gen cox1 (400 pb). El análisis molecular mostró una divergencia genética por pares de hasta 20.5% en los especímenes de *M. expansa* estudiados. Asimismo, se confirmó un total de 7 haplotipos, los cuales formaron un total de tres grupos o clados en el árbol filogenético (Figura 7).

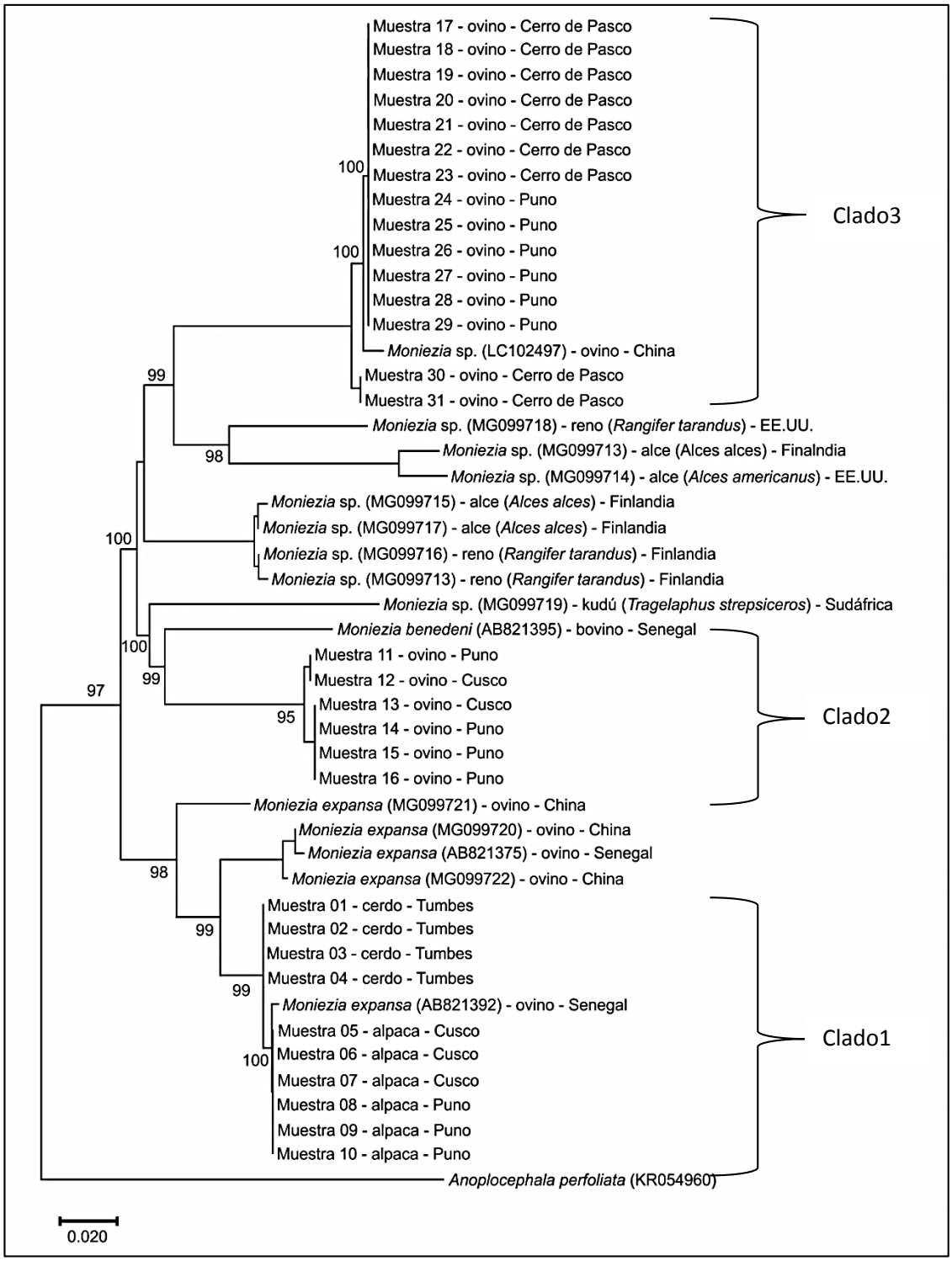


Figura 7. Relaciones filogenéticas de *Moniezia* spp. colectadas de ovinos, cerdos y alpacas de Perú, inferidas por el método de Máxima Verosimilitud del gen cox1, con base en distancias genéticas calculadas por el modelo 2-parámetros de Kimura. El porcentaje de asociación de los taxones se muestra junto a las ramas. El árbol se dibuja a escala con las longitudes de las ramas medidas en el número de sustituciones por sitio (la barra de escala indica 20 sustituciones por 1000 posiciones de nucleótidos). Se eliminaron todas las posiciones con menos del 95% de cobertura del sitio, es decir, se permitieron menos del 5% de huecos de alineación, datos faltantes y bases ambiguas en cualquier posición (opción de eliminación parcial). El número de acceso de la secuencia está entre paréntesis, seguido del hospedero y el país.

En la base de datos del GenBank, se halló secuencias de nucleótidos del gen cox1 de *M. expansa* (AB821392, AB821375, MG099720, MG099722 y MG099721), las cuales correspondían cestodos de ovinos (*Ovis aries*) procedentes de los países de Senegal y China. Estas muestras fueron morfológicamente identificadas como *M. expansa*. Asimismo, se halló la secuencia nucleótidos del gen cox1 de *M. benedeni* (AB821395), correspondiente a una muestra de bovino (*Bos taurus*) procedente de Senegal. También se hallaron secuencias del gen cox1 de especímenes que no fueron identificados morfológicamente y cuyo diagnóstico solo quedó como *Moniezia* spp., estas fueron para los siguientes hospederos: kudú mayor (*Tragelaphus strepsiceros*) de África del Sur (MG099719), alce (*Alces alces*) y reno de Finlandia (MG099713, MG099715 y MG099717), alce americano (*Alces americanus*) de Estados Unidos (MG099714), alce y reno (*Rangifer tarandus*) de Finlandia y Estados Unidos (MG099713, MG099716 y MG099718), y ovinos de China (LC102497). Estas secuencias fueron comparadas con las secuencias obtenidas de *Moniezia* spp. del presente estudio y mostraron una identidad 84.7% a 99.7% comparando secuencias de 345 nucleótidos.

El análisis de las secuencias de diez *M. expansa*, correspondientes a cuatro especímenes de cerdos provenientes de Tumbes y seis especímenes de alpacas provenientes de Cusco y Puno, mostró una identidad de 99.3% a 100%. Estas secuencias formaron un grupo clado con secuencias de *M. expansa* aisladas de ovinos de China y Senegal. Asmismo, nuestras secuencias obtenidas tuvieron una identidad de 94.2% a 96.4% con las secuencias de *M. expansa* proveniente de China y Senegal (Cuadro 8).

Cuadro 8. Distancias entre las secuencias de nucleótidos del gen cox1 según el análisis filogenético utilizando el modelo 2-parámetros de Kimura, junto a otras secuencias de *Moniezia* spp. disponibles en el GenBank para el Clado 1.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	Muestra 01 - cerdo - Tumbes	-														
2	Muestra 02 - cerdo - Tumbes	0.00	-													
3	Muestra 03 - cerdo - Tumbes	0.00	0.00	-												
4	Muestra 04 - cerdo - Tumbes	0.00	0.00	0.00	-											
5	Muestra 05 - alpaca - Cusco	0.00	0.00	0.00	0.00	-										
6	Muestra 06 - alpaca - Cusco	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-									
7	Muestra 07 - alpaca - Cusco	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-								
8	Muestra 08 - alpaca - Puno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-							
9	Muestra 09 - alpaca - Puno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-						
10	Muestra 10 - alpaca - Puno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-					
11	*M. expansa* (AB821392) - ovino - Senegal	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	-				
12	*M. expansa* (MG099720) - ovino - China	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.03	-			
13	*M. expansa* (AB821375) - ovino - Senegal	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.00	-		
14	*M. expansa* (MG099722) - ovino - China	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.01	0.01	-	
15	*M. expansa* (MG099721) - ovino - China	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.06	-

Las secuencias de nucleótidos de seis especímenes de *M. expansa* (identificados y definidos solo por morfología) colectadas de ovinos procedentes de Puno (n=4) y Cusco (n=2) tuvieron una distancia de 99.4% a 100%. Las secuencias de estos especímenes de *M. expansa* formaron un segundo grupo o clado con la secuencia del gen cox1 de *M. benedeni* colectada de bovinos procedente de Senegal. El análisis de las secuencias de nucleótidos mostro una distancia de 89.1% entre los especímenes de Senegal con las de Perú (Cuadro 9).

Cuadro 9. Distancias entre las secuencias de nucleótidos del gen cox1 según el análisis filogenético utilizando el modelo 2-parámetros de Kimura, junto a otras secuencias de *Moniezia* spp. disponibles en el GenBank para el Clado 2.

		1	2	3	4	5	6	7
1	Muestra 11 - ovino - Puno	-						
2	Muestra 12 - ovino - Cusco	0.00	-					
3	Muestra 13 - ovino - Cusco	0.01	0.01	-				
4	Muestra 14 - ovino - Puno	0.01	0.01	0.00	-			
5	Muestra 15 - ovino - Puno	0.01	0.01	0.00	0.00	-		
6	Muestra 16 - ovino - Puno	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	-	
7	*Moniezia benedeni* (AB821395) - bovino - Senegal	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	-

El análisis de las secuencias de 15 *M. expansa* aisladas de ovinos de Cerro de Pasco (n=9) y Puno (n=6) mostró una distancia de 99.1% a 100% entre ellas. Asimismo, estas secuencias tuvieron una distancia de 98.2% a 99.1% con una secuencia de nucleótidos del gen cox1 de *Moniezia* spp. aislada de ovino y procedente de China (GenBank No. LC102497). Todas estas secuencias formaron un tercer clado con secuencias de *Moniezia* spp. colectadas de alces y renos procedentes de Finlandia y Estados Unidos (Cuadro 10).

Cuadro 10. Distancias entre las secuencias de nucleótidos del gen cox1 según el análisis filogenético utilizando el modelo 2-parámetros de Kimura, junto a otras secuencias de *Moniezia* spp. disponibles en el GenBank para el Clado 3.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	Muestra 17 - ovino - Cerro de Pasco	-																		
2	Muestra 18 - ovino - Cerro de Pasco	0.00	-																	
3	Muestra 19 - ovino - Cerro de Pasco	0.00	0.00	-																
4	Muestra 20 - ovino - Cerro de Pasco	0.00	0.00	0.00	-															
5	Muestra 21 - ovino - Cerro de Pasco	0.00	0.00	0.00	0.00	-														
6	Muestra 22 - ovino - Cerro de Pasco	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-													
7	Muestra 23 - ovino - Cerro de Pasco	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-												
8	Muestra 24 - ovino - Puno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-											
9	Muestra 25 - ovino - Puno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-										
10	Muestra 26 - ovino - Puno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-									
11	Muestra 27 - ovino - Puno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-								
12	Muestra 28 - ovino - Puno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-							
13	Muestra 29 - ovino - Puno	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-						
14	Muestra 30 - ovino - Cerro de Pasco	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	-					
15	Muestra 31 - ovino - Cerro de Pasco	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	-				
16	*Moniezia* sp. (LC102497) - ovino - China	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	-			
17	*Moniezia* sp. (MG099718) - reno (*Rangifer tarandus*) - EE.UU	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	-		
18	*Moniezia* sp. (MG099713) - alce (*Alces alces*) - Finlandia	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.15	0.15	0.16	0.12	-	
19	*Moniezia* sp. (MG099714) - alce (*Alces americanus*) - EE.UU.	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.15	0.15	0.17	0.12	0.03	-

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se estudió la diversidad genética, analizando parcialmente el gen mitocondrial cox1 de *M. expansa* colectados de ovinos, alpacas y cerdos, proveniente de diversas localidades del Perú. Desde el punto de vista morfológico, todos los céstodos recolectados de los hospederos mencionados fueron identificados como *M. expansa*. El análisis filogenético basado en las secuencias del gen cox1 reveló que las muestras identificadas morfológicamente como *M. expansa* de ovinos, alpacas y cerdos eran genéticamente distintas entre sí.

En el Perú, solamente se han identificado a través de morfología dos especies de *Moniezia* en animales domésticos: *M. expansa* y *M. benedeni*. La clasificación taxonómica del género *Moniezia* se basa principalmente por la presencia y tipo de glándulas interproglotídeas. Por ejemplo, *M. expansa* presenta glándulas interproglotídeas separadas y están formados por células glandulares agrupadas y formando una depresión circular, las cuales se abren cerca del margen posterior del proglotis, de ahí su nombre común "la forma de roseta" (Taylor, 1928). En el caso de *M. benedeni*, las glándulas interproglotídeas están formadas por células glandulares agrupadas en la parte media y posterior del proglotis, formando una estructura "lineal" (Spasskii, 1951). Los especímenes del presente estudio tuvieron glándulas interproglotídeas separadas y fueron identificadas como *M. expansa*.

Diversos estudios se han realizado con el fin de evaluar los marcadores genéticos que puedan ayudar en la evaluación taxonómica de los céstodos. De todo lo

estudiado, el gen mitocondrial cox1 ha mostrado ser un marcador eficaz para diferenciar especies de céstodos (Zhang *et al*., 2014). Un estudio realizado con especies del género *Taenia*, mostró que una misma especie puede tener hasta 9.8% de diferencia en la secuencia de nucleótidos, tal como lo tiene *Hydatigera taeniaeformis* (sinónimo: *Taenia taeniaeformis*), el cual tiene una diferencia de 1.3 a 9.8% (Lavikainen *et al*., 2008). Sin embargo, *H. taeniaeformis* fue estudiado posteriormente combinando el diagnóstico morfológico y molecular, concluyendo que era una especie *sensu lato* y estaba conformada por tres especies: *H. taeniaeformis*, *H. kamiyai* y *Hydatigera* sp. (Lavikainen *et al*., 2016). En el presente estudio, las secuencias de nucleótidos del gen cox1 de las *M. expansa* analizadas tuvieron una divergencia genética que iba de 0.02% a 20.5%, esto indicaría que *M. expansa* corresponde a una especie *sensu lato* (*s.l.*) y que probablemente este conformada por más de una especie. Será necesaria la realización de futuros estudios que combinen el análisis molecular con la descripción morfológica para confirmar esta hipótesis.

Estudios previos sugirieron que *M. expansa*, así como *M. benedeni*, representan complejos de diversas especies, esto mediante el análisis por electroforesis de isoenzimas utilizando muestras de África y Europa (Ba *et al*., 1993). Esta técnica proporcionó la evidencia de especies crípticas en *M. benedeni* colectadas de ovinos y bovinos procedentes de Australia (Chilton *et al.*, 2007). Es importante mencionar que las especies crípticas son un problema biológico emergente. Se ha sugerido la definición de especie críptica para aquellas especies que manifiestan una escasa diferencia morfológica, pero manifiestan una considerable diferencia genética (Korshunova *et al*., 2019). El análisis molecular de las *M. expansa* analizado en el presente estudio mostró una considerable variabilidad genética, similar a los resultados de *M. benedeni*, así como la agrupación en tres clados.

En el presente estudio se identificaron tres linajes mitocondriales en *M. expansa*, los cuales mostraron una divergencia máxima por pares de 0.8%. Esto sugiere fuertemente que la variabilidad mitocondrial de *M. expansa* analizada es la variación intraespecífica más que interespecífica entre especies crípticas. Actualmente, los

informes disponibles sobre la variación intraespecífica de la secuencia del gen cox1 en céstodos de la familia Anoplocephalidae son limitados; sin embargo, algunos estudios han informado que otros céstodos ciclofilídeos (Cyclophyllidea) como *Taenia solium* y *Echinococcus multilocularis* tienen subgrupos genéticos en el mundo con una divergencia máxima de 1.3% y 1.9%, respectivamente (Nakao *et al*., 2002, 2009). Por lo tanto, el presente estudio demuestra que los especímenes de *M. expansa* colectados en Perú son genéticamente diversos.

El análisis filogenético mostró la presencia de tres grupos o clados en los especímenes de *M. expansa* estudiados (Figura 7). El clado 1, estuvo agrupado con secuencias correspondientes a especímenes *M. expansa sensu.lato.* colectados de ovinos procedentes de China y Senegal, identificados morfológicamente y analizados molecularmente (Diop *et al*., 2015; Haukisalmi *et al*., 2018). Esto nos indicaría que las especies del clado 1 correspondieron a *M. expansa sensu l*ato. Las muestras provenían de alpacas de Cusco y cerdos de Tumbes. Cabe mencionar que este sería el primer reporte molecular de *M. expansa* en estos hospederos (alpacas y cerdos). El clado 2 fue agrupado con céstodos colectados de ovinos de Puno, con *M. benedeni* colectada de bovinos procedentes de Senegal (Diop *et al*., 2015). Sin embargo, las secuencias de nucleótidos del gen cox1 de los especímenes del presente estudio tuvieron una diferencia del 11% con la secuencia de *M. benedeni*. Se necesitará futuros estudios morfológicos y moleculares, analizando otros marcadores genéticos, para verificar si las *Moniezia* spp. de los ovinos de Puno y Cusco corresponden a una especie diferente a *M. benedeni*. Por otro lado, el clado 3 estuvo formado por *Moniezia* spp. colectadas de ovinos de Puno y Cerro de Pasco, además de una *Moniezia* spp. aislada de ovino de China (GenBank No. LC102497). Todas las secuencias de nucleótidos de estos céstodos tuvieron una identidad mayor al 90%, lo que indicaría que corresponden a la misma especie. Asimismo, el clado 3 agrupó a *Moniezia* spp. colectadas de alces y renos, las cuales tuvieron una diferencia genética superior al 25% en comparación con las secuencias de *Moniezia* spp. de ovinos.

El análisis molecular del gen cox1 de los especímenes de *Moniezia* del presente estudio muestra el problema taxonómico para *M. expansa* para los animales domésticos del Perú. Esta problemática ha sido previamente divulgada en estudios realizados en especies de *Moniezia* de ciervos (Haukisalmi *et al*., 2018), así como en especies de *Moniezia* provenientes de Etiopia y Senegal (Diop *et al*., 2015). Asimismo, el principal repositorio de secuencias de nucleótidos, el GenBank, cuenta con numerosos depósitos de secuencias referentes a *M. expansa*, a pesar de ello, la mayoría no han llegado a tener una publicación científica que les respalde. Esta falta de publicación para las secuencias de *Moniezia* dejaría en incertidumbre como han sido identificadas.

El uso de las técnicas moleculares ha motivado a realizar diversos protocolos que ayuden en el diagnóstico de diversas especies de parásitos. Por ejemplo, Nguyen *et al*., (2011) elaboraron un PCR anidada que ayuda a identificar *M. expansa* y *M. benedeni* amplificando la secuencia de la región del espaciador interno transcrito 1 (ITS1). El método propuesto por Nguyen *et al*., (2011) pudo clasificar claramente las *M. expansa* y *M. benedeni* del ganado vacuno, ovino y caprino. Debido a la diversidad genética que mostró *M. expansa* en el presente estudio, se necesitarán más estudios para examinar los especímenes de diferentes localidades en la distribución global de estos taxones y poder validar el protocolo de PCR anidado.

La taxonomía y el estado de las especies de *Moniezia* se encuentran en gran disyuntiva, debido a la existencia de un número desconocido de especies crípticas dentro de *M. expansa* (*sensu lato*). Para poder aclarar todo esto, es necesario examinar en detalle la morfología de los especímenes, recolectar nuevos especímenes de localidades y hospederos diferentes, así como evaluar las características biológicas del hospedero y la distribución geográfica de ellos.

.

VI. CONCLUSIONES

- El análisis de las secuencias de nucleótidos del gen citocromo c oxidasa subunidad 1 de especies de *Moniezia expansa* colectadas de diversas localidades del Perú presenta una diversidad genética de hasta 20.5%.
- El análisis filogenético del gen cox1 mostró que las muestras colectadas en Perú están agrupadas en tres clados.

VII. RECOMENDACIONES

Será necesario realizar futuros estudios morfológicos y moleculares de *Moniezia* spp. colectadas de diferentes hospederos y localidades del Perú, para validar la cantidad de especies presente en nuestro país.

VIII. LITERATURA CITADA

1. ***Allred DM. 1954.*** Mites as intermediate hosts of tapeworms. *Proceedings of the Utah Academy of Science* 31: 44-51.
2. ***Armour G. 1989***. Parasitología Veterinaria. 3ed. Madrid, España. Editorial Agropecuario Hemisferio Sur, S.R.L. p: 48-151.
3. ***Baer JG. 1927***. Monographie des cestodes de la famille des Anoplocephalidae. Bull Biol Fr Belg Supp. 10: 1–241.
4. ***Bâ CT, Wang XQ, Renaud F, Euzet L, Marchand B, De-Meeus T. 1993.*** Diversity and specificity in cestodes of the genus *Moniezia*: genetic evidence. Int J Parasitol 23: 853–857. Doi: 10.1016/0020-7519 (93)90049-5.
5. ***Beveridge I. 1994.*** Family Anoplocephalidae Cholodkovsky, 1902. En: Khalil LF, Jones A, Bray RA (Eds.). Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates, Commonwealth Agricultural Bureaux International, Wallingford, Oxfordshire. p. 315–366.
6. ***Bowles J, McManus D. 1994.*** Genetic characterization of the Asian Taenia, a newly described taeniid cestode of humans. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. p. 33 – 44. Doi: 10.4269/ajtmh.1994.50.1.TM0500010033
7. ***[CEDER] Centro de Estudios para el Desarrollo Regional. 2008.*** Desarrollo de las capacidades productivas y comerciales de los pequeños criadores de alpacas de los distritos de Mañazos y Cabanillas. Puno: CEDER. 50 p.
8. ***Caley J. 1976.*** Ultrastructural Studies of the Cysticercoid of Moniezia expansa (Anoplocephalidae) with Special Reference to the Development of the Cyst. School of Biological Sciences, University of East Anglia, Norwich, U.K. Z. Parasitenk. 48: 251—262.
9. ***Chilton NB, O'Callaghan MG, Beveridge I, Andrews RH. 2007.*** Genetic markers to distinguish *Moniezia expansa* from *M. benedeni* (Cestoda: Anoplocephalidae) and evidence of the existence of cryptic species in Australia. Parasitol Res 100: 1187–1192. Doi: 10.1007/s00436-006-0388-4.
10. ***Cordero del Campillo M, Rojo F, Martínez A, Sánchez M, Hernández S, Navarrete S, et al. 1999.*** Parasitología Veterinaria. McGraw-Hill Interamericana. Madrid: España. p. 229-234.

11. ***Denegri GM. 1993.*** Review of oribatid mites as intermediate hosts of tapeworms of the Anoplocephalidae. Experimental & Applied Acarology. 17: 567-580.
12. ***Diop G, Yanagida T, Hailemariam Z, Menkir S, Nakao M, Sako Y, Ba CT, Ito A. 2015.*** Genetic characterization of Moniezia species in Senegal and Ethiopia. Parasitol Int 64: 256–260. Doi: 10.1016/j.parint.2015.02.008
13. ***Domke VM, Christophe CH, Bjørn GJ, Nils L, Synnøve V, Olav Ø, Snorre S. 2011.*** Worm control practice against gastro-intestinal parasites in Norwegian sheep and goat flocks. Acta Veterinaria Scandinavica, 53:29 p. http://www.actavetscand.com/content/53/1/29
14. ***Elliott DC. 1986.*** Tapeworm (Moniezia expansa) and its effect on sheep production: The evidence reviewed, New Zealand Veterinary Journal, 34:5, 61-65. Doi: 10.1080/00480169.1986.35289
15. ***Gibson TE. 1975.*** Veterinary Anthelmintic Medication (3rd edition), Technical Comunication N°33 (3 rd edition) of the Commonwealth Institute of Helminthology. S1. Alban.
16. ***Guo A. 2017.*** Moniezia benedeni and Moniezia expansa are distinct cestode species based on complete mitochondrial genomes. Acta Trop. 166:287–92.
17. ***Haukisalmi V, Laaksonen S, Oksanen A, Beckmen K, Halajian A, Yanagida T, Nakao M. 2018.*** Molecular taxonomy and subgeneric classification of tapeworms of the genus Moniezia Blanchard, 1891 (Cestoda, Anoplocephalidae) in northern cervids (Alces and Rangifer). Parasitology International 67: 218–224. Doi: 10.1016/j.parint.2017.12.006
18. ***Jackson F, Bartley D, Bartley Y, Kenyon F. 2009.*** Worm control in sheep in the future. Parasitology Division, Moredun Research Institute, Edinburgh, EH26 0PZ, UK. Small Ruminant Research 86: 40–45.
19. ***Johnson MR, Hoberg EP. 1989.*** Differentiation of Moniezia expansa and Moniezia benedeni (Eucestoda: Cyclophyllidea) by isoelectric focusing. Can J Zool 67: 1471–1475. Doi: 10.1139/z89-208
20. ***Jyoti, Singh N, Juyal P. 2014.*** Prevalence of gastro-intestinal parasites in buffalo calves from different agro-climatic zones of Punjab. J Parasit Dis 38: 367-70.
21. ***Korshunova T, Picton B, Furfaro G, Mariottini P, Pontes M, Prkić J, Fletcher K, Malmberg K, Lundin K, Martynov A. 2019.*** Multilevel fine-scale diversity challenges the 'cryptic species' concept. Sci Rep 9: 6732. doi: 10.1038/s41598-019-42297-5.

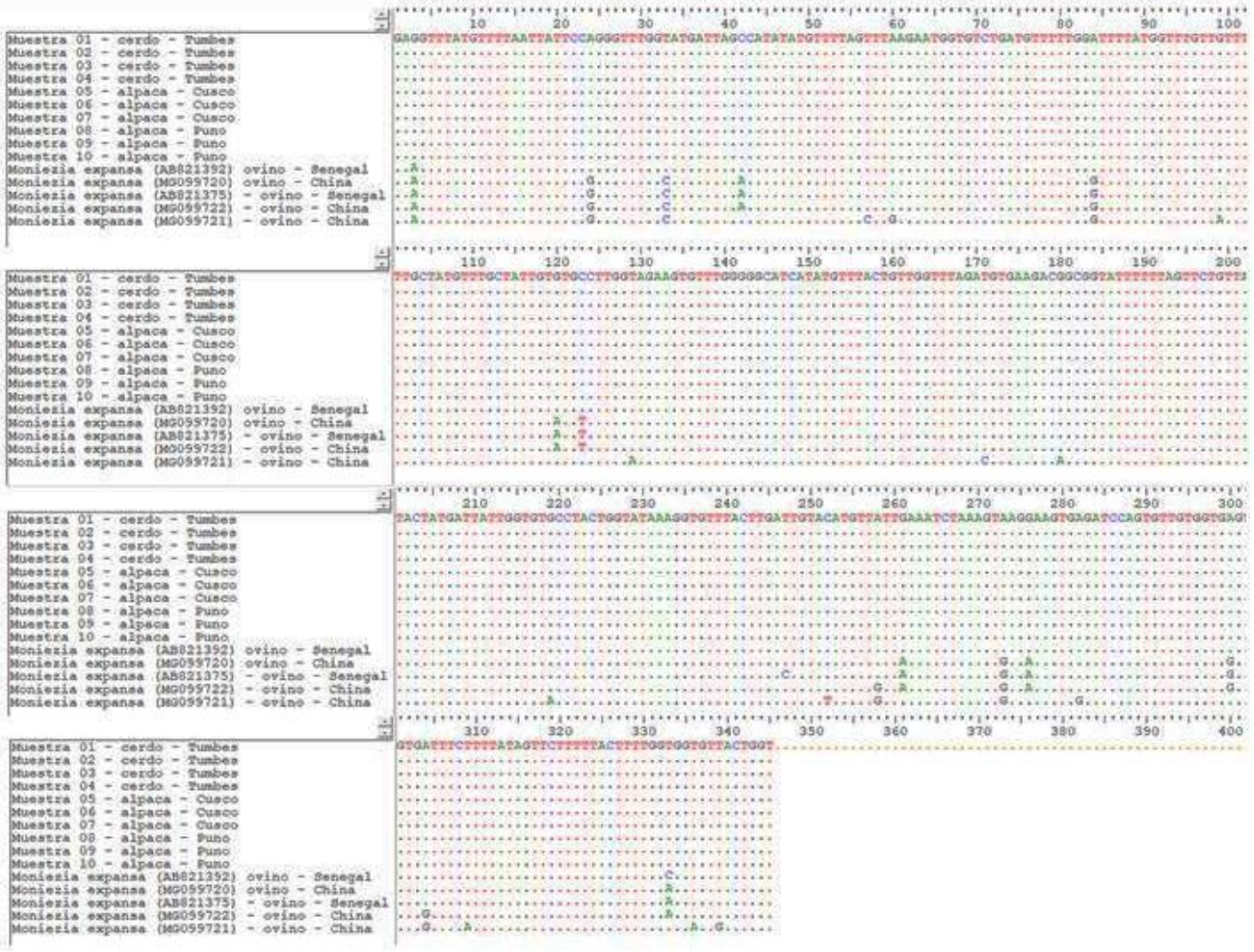
22. ***Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018.*** MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. Mol Biol Evol 35(6): 1547-1549. doi: 10.1093/molbev/msy096.
23. ***Lavikainen A, Haukisalmi V, Lehtinen MJ, Henttonen H, Oksanen A, Meri S. 2008.*** A phylogeny of members of the family Taeniidae based on the mitochondrial cox1 and nad1 gene data. Parasitology 135: 1457-1467. doi: 10.1017/S003118200800499X.
24. ***Lavikainen A, Iwaki T, Haukisalmi V, Konyaev SV, Casiraghi M, Dokuchaev NE, Galimberti A, Halajian A, Henttonen H, Ichikawa-Seki M, Itagaki T, Krivopalov AV, Meri S, Morand S, Näreaho A, Olsson GE, Ribas A, Terefe Y, Nakao M. 2016***. Reappraisal of *Hydatigera taeniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda: Taeniidae) *sensu lato* with description of *Hydatigera kamiyai* n. sp. Int J Parasitol 46(5-6): 361-374. Doi: 10.1016/j.ijpara.2016.01.009.
25. ***Liu Y, Wang Z, Pang S, Zhao W, Kang L, Zhang Y, Zhang H, Yang J, Wang Z, Lu P, Xu M, Wang W, Bo X, Li Z. 2019.*** Evaluation of dynamic developmental processes and the molecular basis of the high body fat percentage of different proglottid types of *Moniezia expansa.* Parasites Vectors 12:390. Doi:10.1186/s13071-019-3650-1
26. ***Luo A, Lan H, Ling C, Zhang A, Shi L, Ho SY, Zhu C. 2015.*** A simulation study of sample size for DNA barcoding. Ecol Evol 5(24):5869-79. doi: 10.1002/ece3.1846.
27. ***Lupaca JA. 2017.*** Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos de la raza Hampshire down (*Ovis aries*) del distrito de Sama, Tacna 2016. Disponible en: http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/1880
28. ***Mullen G, Oconnor B. 2002.*** Mites (Acari). Medical and veterinary entomology, Cap. 23: 449–516. Doi:10.1016/b978-012510451-7/50025-6
29. ***Nakao M, Okamoto M, Sako Y, Yamasaki H, Nakaya K, Ito A. 2002.*** A phylogenetic hypothesis for the distribution of two genotypes of the pig tapeworm *Taenia solium* worldwide. Parasitology 124: 657–662. Doi: 10.1017/s0031182002001725.
30. ***Nakao M, Xiao N, Okamoto M, Yanagida T, Sako Y, Ito A. 2009.*** Geographic pattern of
genetic variation in the fox tapeworm *Echinococcus multilocularis*. Parasitol Int 58: 384–389. Doi: 10.1016/j.parint.2009.07.010.
31. ***Nakao M, Lavikainen A, Iwaki T, Haukisalmi V, Konyaev S, Oku Y, Okamoto M, Ito A. 2013.*** Molecular phylogeny of the genus Taenia (Cestoda: Taeniidae): proposals for

the resurrection of Hydatigera Lamarck, 1816 and the creation of a new genus Versteria. Int J Parasitol 43: 427-437. Doi: 10.1016/j.ijpara.2012.11.014.

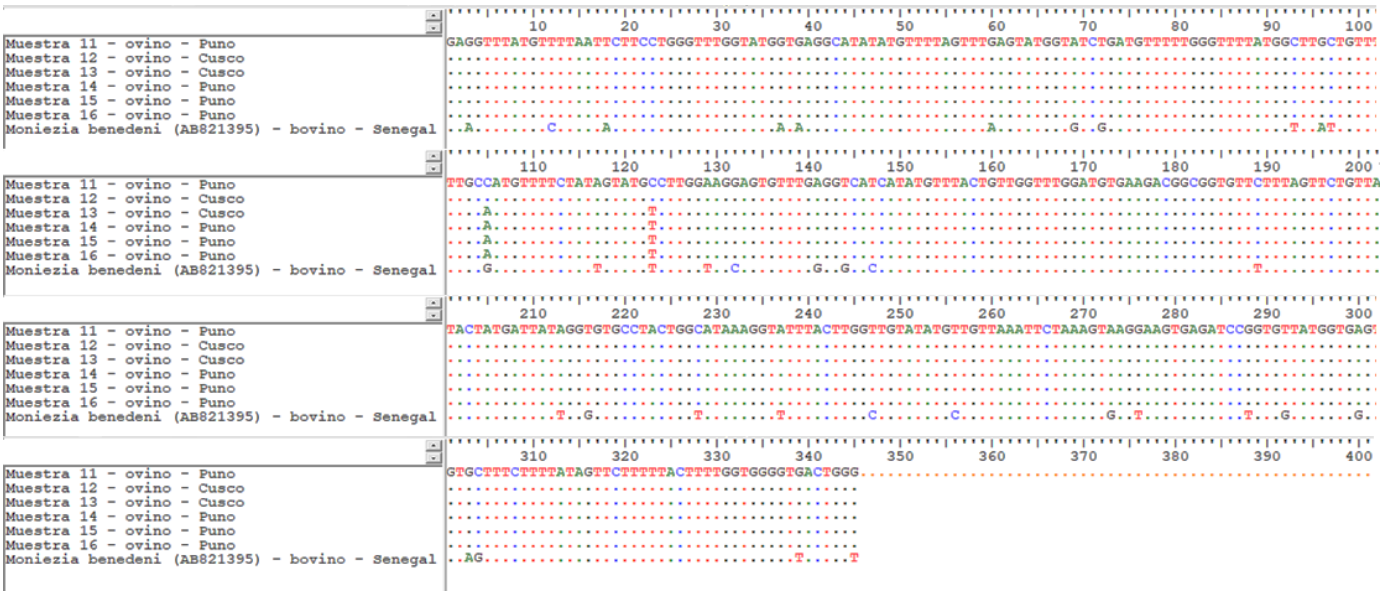
32. ***Narsapur VS. 1988.*** Pathogenesis and biology of anoplocephaline cestodes of domestic animals. *Annales de Recherches Veterinaires.* 19: 1-17.
33. ***Nguyen TD, Le QD, Huynh VV, Nguyen ST, Nguyen TV, Vu-Khac H. 2011.*** The development of PCR methodology for the identification of species of the tapeworm *Moniezia* from cattle, goats and sheep in central Vietnam. J Helminthol 86: 426–429. 10.1017/S0022149X11000629.
34. ***Quiroz H. 2001***. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. México: DF. Editorial Limusa. Pag: 291 - 297.
35. ***Quiroz H. 2008.*** Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. México: DF. Editorial Limusa. Pag: 291 - 297.
36. ***Sengbusch H. 1977.*** Review of oribatid mite-anoplocephalan apeworm relationships (Acari; Oribatei: Cestoda; Anoplocephalidae). In "Biology of Oribatid Mites" (D. L. Dindal, Ed.). State Univ. of New York, College of Environmental Science and Forestry, Syracuse. Pp: 87-102.
37. ***Spasskii AA. 1951.*** Anoplocephalate Tapeworms of Domestic and Wild Animals. The Academy of Sciences of the USSR, Moscow, 1951. 783p.
38. ***Spasskii AA. 1951.*** Principles of cestodology. Volume I. Anoplocephalata-tapeworms of domestic and wild animals, Izdatelstvo Akademii Nauk SSSR, Moscow, USSR: 735
39. ***Spasskii AA. 1961.*** Essentials of cestodology. Anoplocephalate tapeworms of domestic and wild animals. Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations [for the National Science Foundation, Washington, D.C., and the Department of Agriculture, U.S.A. vol. I.
40. ***Tam T, Lan N, Doanh P. 2020.*** Morphological differences and molecular phylogenetic relationship of two tapeworm species, *Moniezia expansa* and *Moniezia benedeni*, collected from domestic ruminants in northern Vietnam. Doi: 10.1016/j.parint.2019.101998
41. ***Tamura K, Nei M, Kumar S. 2004.*** Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. Proc Natl Acad Sci USA 101(30): 11030-11035. Doi: 10.1073/pnas.0404206101
42. ***Taylor EL. 1928***. Moniezia, a genus of cestode worms and the proposed reduction of its species to three. Pro.c USA Nat. Mus 74: 1– 9. Doi: 10.5479/si.00963801.74-2754.1

43. ***Theiler G. 1924.*** On the classification of the cestode genus Moniezia (Blanchard, 1891). Ann Trop Med Parasitol 18: 109–123. Doi: 10.1080/00034983.1924.11684396
44. ***Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW. 2001.*** Veterinary Parasitology. Longman Scientific Technical, UK. 384 p.
45. ***Varcárcel F. 2010.*** Atlas de Parasitología ovina: Enfermedades parasitarias de los ovinos. Sitio argentino de Producción Animal. 8 p.
46. ***Zaldivar R. 1991.*** Zooparásitos de interés veterinario en el Perú. *Lima: MAIJOSA. 253 p.*
47. ***Zhang G, Chen J, Yang Y, Liu N, Jiang W, Gu S, Wang X, Wang Z. 2014.*** Utility of DNA barcoding in distinguishing species of the family Taeniidae. J Parasitol 100(4): 542-546. doi: 10.1645/13-224.1.
48. ***Zhao W, Zhang H, Bo X, Li Y, Fu X. 2009.*** Generation and analysis of expressed sequence tags from a cDNA library of Moniezia expansa. Molecular & Biochemical Parasitology 164: 80–85.

Anexo 1. Diversidad genética para *M. expansa* analizando parcialmente el gen cox1 del Clado 1. Los puntos (.) indican nucleótidos idénticos con la secuencias usadas como control (No de acceso del Genbank en paréntesis).



Anexo 2. Diversidad genética para *M. expansa* analizando parcialmente el gen cox1 del Clado 2. Los puntos (.) indican nucleótidos idénticos con la secuencias usadas como control (No de acceso del Genbank en paréntesis).



Anexo 3. Diversidad genética para *M. expansa* analizando parcialmente el gen cox1 del Clado 3. Los puntos (.) indican nucleótidos idénticos con la secuencias usadas como control (No de acceso del Genbank en paréntesis).

