



CORRELACIÓN ENTRE LA INFECCIÓN POR MICROQUISTES DE *S. lamacanis* Y CK-MB, AST Y LDH EN ALPACAS

CORRELATION BETWEEN THE INFECTION BY *S. lamacanis* MICROCYSTS AND CK-MB, AST AND LDH IN ALPACAS

Lopez-Torres, B.^{1*}, Espinoza, J.¹, Rodríguez, J.^{2*}, Lucas, J.², Barrios-Arpi, M.³, Arroyo, G.⁴, Rodríguez, A.⁵, Revuelta, L.⁶

¹Laboratorio de Farmacología y Toxicología; ²Estación Experimental del Centro de Investigación IVITA – El Mantaro, ³Laboratorio de Patología Clínica y Biología Molecular,

⁴Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria- Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú; ⁵SENASA, Región Junín-Perú;

⁶Departamento de Fisiología Animal, Universidad Complutense de Madrid-España

*E-mail: joserodriguezmv@gmail.com; belopezt@gmail.com

RESUMEN

El presente estudio tuvo por objetivo determinar la correlación entre el número de microquistes de *S. lamacanis* en miocardio (N°Mq) y los niveles de CK-MB, AST y LDH en sangre de alpacas, a fin de usarlos como predictores de salud o grado de infección por sarcocistiosis. Se utilizaron 41 alpacas de raza Huacaya de 3-5 años de edad del matadero Municipal de Huancavelica- Provincia de Huancavelica-Perú, las muestras de sangre se colectaron ante-mortem y las de miocardio post-mortem. El 100 % de los animales presentaron microquistes de *S. lamacanis*, y los coeficientes de correlación entre el N°Mq y CK-MB fue de 0.17, AST 0.04 y para LDH 0.06. Se concluye que la correlación es muy baja o casi nula, por lo que, las enzimas evaluadas, no podrían ser utilizadas como predictores de daño muscular por infección de microquistes de *S. lamacanis* en alpacas.

Palabras clave: Biomarcadores cardíacos, CK –MB, AST, LDH, microquistes *S. lamacanis*, alpaca.

ABSTRACT

This study was as objective to determine the correlation between the number of microcysts *S. lamacanis* in myocardium (NoMq) and blood levels of CK-MB, AST and LDH enzymes in alpacas, to know if you can to serve as predictors of health or sarcocystiosis degree. Performed in 41Huacaya alpacas of 3-5 year old from Municipal Slaughterhouse Huancavelica – Province of Huancavelica-Perú. Blood samples and myocardium were collected ante-mortem and post-mortem, respectively. 100% of the animals showed *S. lamacanis* microcysts, and correlation coefficients between the NoMq and CK-MB 0.17, with AST 0.04 and with LDH 0.06. We conclude that the correlation found was very low or almost zero, so the enzymes tested, could not be used as predictors of muscle damage from infection of *S. lamacanis* microcysts in alpacas.

Keywords: Cardiac biomarkers, CK-MB, AST, LDH, *S. lamacanis* microcysts, alpaca.

INTRODUCCIÓN

Sarcocystis lamacanis y *S. aucheniae* ocasionan la sarcocistiosis en camélidos sudamericanos. La alpaca es el hospedero intermediario donde el parásito realiza su reproducción asexual, formando los macro y micro quistes que pueden afectar en forma masiva las fibras musculares estriadas y cardíacas (Guerrero y Leguía, 1987). Esta enfermedad constituye una zoonosis tóxica, pues el consumo de carne infectada, cruda o insuficientemente cocida, puede producir un cuadro de gastroenteritis que cursa con náuseas, diarreas, cólicos y escalofríos, especialmente con el consumo de músculo cardíaco infectado con microquistes (Leguía y Casas, 1999). Así mismo, se ha demostrado que *Sarcocystis lamacanis* cursa con cuadros clínicos en alpacas, es así que en inoculaciones experimentales con 160,000 esporoquistes realizadas en crías de alpacas se evidenció signos clínicos agudos que incluían anorexia, pirexia, incoordinación postración y finalmente la muerte (Leguía *et al.*, 1990), mientras que La Perle *et al.* (1999) reportaron un caso de miositis eosinofílica y aborto en una alpaca.

Las manifestaciones sintomáticas de una cardiomiopatía aguda pueden ser variadas, y el ECG no es el único medio usado para dicho diagnóstico. Por otra parte, los marcadores bioquímicos y enzimas cardíacas también son considerados importantes para el diagnóstico de cardiomiopatías (Rajappa y Sharma, 2005). Los marcadores séricos sirven para diagnóstico de

miopatías (Braun *et al.*, 1996), daño de miocardio por cirugía (Adams, 1997), ejercicio (Laslett *et al.*, 1996; Siegel *et al.*, 1997) y miocarditis (Franz *et al.*, 1996; Lauer *et al.*, 1997).

Inicialmente la creatina quinasa (CK) fue utilizada como marcador-diagnóstico, pero fue superado por la creatina cardiaca banda miocárdica (CK-MB) que evolucionó y tienden a ser tan buenas como las troponinas en el diagnóstico de miocardiopatías (Maynard *et al.*, 2000).

Los investigadores han descrito las características que debería tener un marcador cardíaco ideal (Mercer, 1997), como la alta especificidad que se determina por sus altas concentraciones en el daño de miocardio y sus bajas concentraciones más bajas en tejido no cardíaco (Rajappa y Sharma, 2005).

Generalmente es aceptado que los niveles de los marcadores enzimáticos como CK-MB, la aspartato aminotransferasa (AST) y lactato deshidrogenasa (LDH), varían al evaluar la lesión miocárdica (Alpert *et al.*, 2000).

Es por estos motivos que el presente estudio tuvo objetivo determinar la correlación existente entre la infección por microquistes de *S. Lamacanis* y los niveles en sangre de biomarcadores enzimáticos CK-MB, AST y LDH en alpacas, a fin de establecerlos como predictores de salud o determinar el grado de infección por sarcocistiosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y muestras

Se han utilizado 41 alpacas aparentemente sanas de 3-5 años de edad, provenientes del matadero Municipal de Huancavelica en la Provincia de Huancavelica. La sangre se obtuvo por punción de la vena yugular (5 ml), ante-mortem teniendo en cuenta los lineamientos de bienestar animal (GECS, 2012), y fue colocada en tubos de ensayo sin anticoagulante para venipunción, inmediatamente se centrifugaron las muestras a 3000 rpm por 15 minutos, en una centrifuga automática (GEMMY, Taiwan) para obtener el suero, el suero se almacenó a -196°C en tanque de líquido (GEMMY, Taiwan) para su posterior análisis (Díaz *et al.*, 2015).

Las muestras de tejido cardíaco fueron obtenidas postmortem de los ventrículos derecho, izquierdo y ápice cardíaco, se seccionaron porciones de miocardio de 1-1,5 cm² los que se conservaron en frascos plásticos que contenían formol bufferado al 10%, y posteriormente fueron embebidos en parafina.

Análisis bioquímico sanguíneo

Mediante análisis bioquímico sérico de alpacas se determinó los niveles de las enzimas Creatina fosfokinasa-MB (CK-MB, UI/L). Se utilizó el método de inmunoinhibición (activado por N-acetilcisteína), para la determinación cuantitativa de la actividad de la isoenzima MB de la Creatina fosfokinasa (Valtek, Chile).

Para la determinación de Lactato Deshidrogenasa (LDH, UI/L) se utilizó el Kit comercial LDH- Líquida método cinético UV para la determinación de Lactato Deshidrogenada (LDH) en suero y plasma (FAR Diagnostics) y para Aspartato Aminotransaminasa (AST/GOT, UI/L) se utilizó el Kit comercial AST/GOT Líquido método cinético UV - IFCC para la determinación cuantitativa de Aspartato Amino Transaminasa (AST/GOT) en suero y plasma (FAR Diagnostics, Italia), siguiendo las especificaciones del fabricante y por medio de un analizador bioquímico semiautomático (SINOWA, China).

Análisis histológico

Las muestras de miocardio en parafina fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina (HE). Los microquistes de *Sarcocystis lamacanis* se observaron por microscopia óptica con un objetivo a 4X (Primo Star Carl Zeiss, Alemania), y mediante una cámara digital incorporada AxionCam ERc5s (Carl Zeiss, Alemania) se obtuvieron fotografías a 4X y se determinó la infección parasitaria determinada por el **número de microquistes en 25 mm² de miocardio (N°Mq)** con el Software de medición ZEN 2012 SP1 Blue edition, Carl Zeiss, Alemania (Rodríguez *et al.*, 2012).

Análisis de datos

Los valores del análisis bioquímico y del Número de microquistes (N°Mq) se presentan como Promedios (Prom) \pm Desviación estándar (DE). Los N° Mq fueron agrupados en tres rangos de acuerdo al grado infección 1-10 N°Mq, 11-100 N°Mq y >100 N°Mq, y los resultados de la bioquímica sanguínea se distribuyeron dentro de ellos. Mediante el Coeficiente de Pearson se determinó la relación entre el N° Mq y la bioquímica sanguínea cardíaca; mientras que, por análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de significación del 95%, se evaluó la existencia de diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre los tres rangos. El coeficiente de Correlación de Pearson y el Análisis de Varianza (ANOVA) se realizó mediante el paquete estadístico GraphPad Prism versión 6 (GraphPad Software, Inc, 2015).

RESULTADOS

En el 100 % de los animales se identificaron microquistes de *S. lamacanis*. Los valores del Número de microquistes (N°Mq) se expresan como promedio \pm desviación estándar, determinándose para el rango de 0-10, 6.36 ± 3.41 ; para 11-100, 41.01 ± 19.82 y para >100 , 130.31 ± 27.99 microquistes en 25mm^2 de miocardio (Figura 1).

La bioquímica sanguínea para CK-MB, AST/GOT y LDH no mostraron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) al compararlos entre los rangos de agrupación por ANOVA. De acuerdo al orden creciente de los rangos (0-10; 11-100 y >100) se determinaron en sangre para CK-MB (UI/L) 29.19 ± 8.34 , 30.41 ± 8.93 y 32.93 ± 12.45 ; para AST/GOT (UI/L) 260.52 ± 59.79 , 243.44 ± 48.31 y 253.00 ± 37.79 ; y para LDH (UI/L) 937.41 ± 209.52 , 965.78 ± 162.15 y 966.46 ± 125.33 (Figuras 2, 3 y 4).

El cuadro 1 muestra el coeficiente de correlación entre el N°Mq y los valores de las enzimas CK-MB, AST/GOT y LDH. Se puede observar que la correlación es muy baja para el caso de CK-MB y para el resto de enzimas casi nula o hasta negativa.

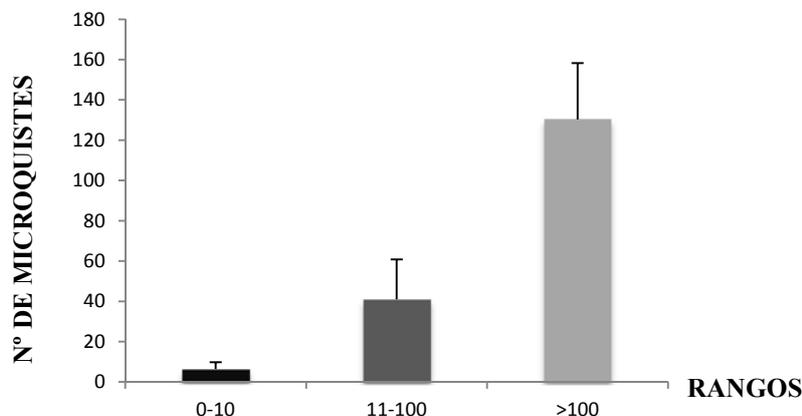


Figura N° 1. Prom \pm DE del N° Microquistes de *S. lamacanis*. No se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$), entre los rangos.

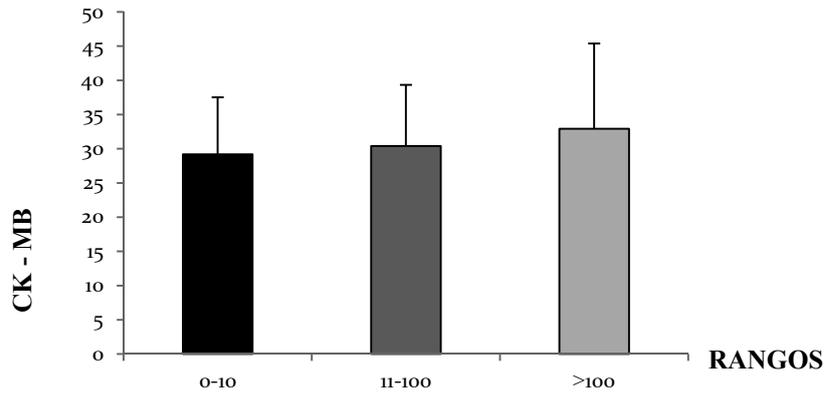


Figura N° 2. Prom±DE de los niveles de CK-MB (UI/L) en sangre de alpacas positivas a *S. lamacanis* en tejido cardíaco. No se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$), entre los rangos.

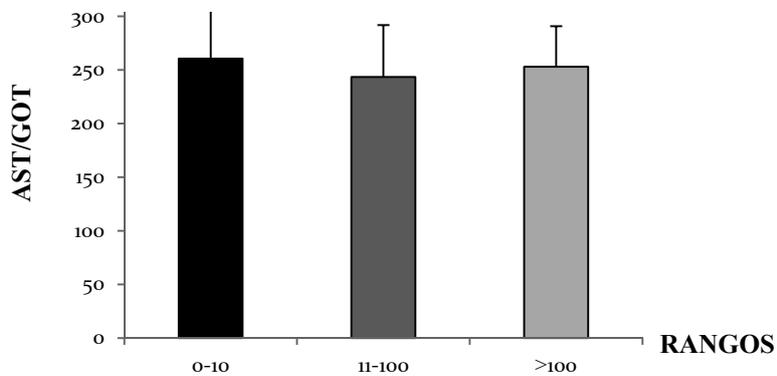


Figura N° 3. Prom±DE de los niveles de AST/GOT (UI/L) en sangre de alpacas positivas a *S. lamacanis* en tejido cardíaco. No se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$), entre los rangos.

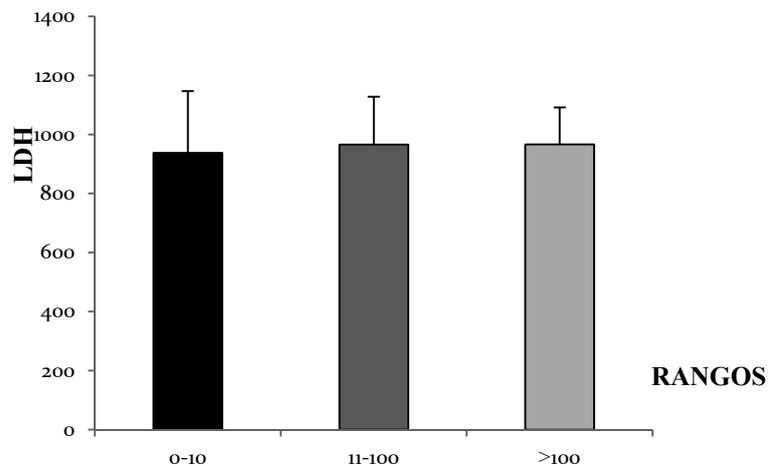


Figura N° 4. Prom±DE de los niveles de LDH (UI/L) en sangre de alpacas positivas a *S. lamacanis* en tejido cardíaco. No se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$), entre los rangos.

Cuadro N° 1. Coeficiente de Correlación entre el N° de microquistes de *S. lamacanis* y los niveles de CK-MB, AST/GOT y LDH.

N° microquistes	CK-MB			AST/GOT			LDH					
	Total	0-10	11-100	>100	Total	0-10	11-100	>100	Total	0-10	11-100	>100
Total	0.17				0.04				0.06			
0-10		-0.15				-0.52				-0.55		
11-100			0.19				0.08				0.06	
>100				0.07				0.05				0.30

Cuadro N° 2. Valores mínimos y máximos del N° de microquistes de *S. lamacanis*, CK-MB, AST/GOT y LDH dentro de los rangos de agrupación.

	Rangos de agrupación		
	0-10	11-100	>100
N° microquistes	1.1 - 10.3	12.5 - 84.6	100.5 - 170.5
CK-MB (UI/L)	17.9 - 41.4	13.9 - 46.9	22.1 - 56.6
AST/GOT (UI/L)	173.1 - 329.8	151.3 - 363.6	200.6 - 238.2
LDH (UI/L)	828.5 - 658.4	455.6 - 1212.2	790.2 - 1144.3

DISCUSIÓN

En nuestro estudio el 100% de los animales presentaban microquistes de *Sarcocystis lamacanis*, lo que anteriormente fue reportado por Mostajo (1983) quien halló prevalencias del 70 al 100% de micro y macroquistes en las cuatro especies de camélidos sudamericanos en todas las regiones alpaqueras del Perú. Por otra parte, éste es el primer estudio en documentar sobre la correlación que podría existir entre la presencia de microquistes de *Sarcocystis lamacanis* en miocardio de alpacas y los niveles séricos del biomarcador CK-MB, LDH y AST/GOT en alpacas. Así mismo, se ha reportado que las concentraciones de CK - MB tienen 88.2 % de sensibilidad y 93.2 % de especificidad como biomarcador cardíaco (Alpert y Thygesen 2000; Jaffe et al., 2010).

Bogin (2000), midió enzimas cardíacas en camélidos cuyos resultados se expresan en el promedio y desviación estándar para cada enzima: En camellos CK – MB (88 ± 37 UI/L), AST (105 ± 17 UI/L) y LDH (392 ± 64 UI/L). En alpacas CK – MB (41 ± 30 UI/L), AST (292 ± 50 UI/L) y LDH (320 ± 116 UI/L).

En el presente trabajo los niveles de CK-MB en alpacas adultas de 3 - 5 años de edad con presencia de microquistes de *S. lamacanis* van de 17.9- 41.4 UI/L (Cuadro 2) y están por debajo de los valores hallados en el estudio realizado por Tharwat et al. (2013a) determinaron que en camellos adultos sanos de Arabia Saudita el valor de CK - MB promedio fue de 139 ± 22 UI/L; mientras que en camellos de tiro sometidos a estrés de transporte los valores obtenidos fueron de 320 ± 170 UI/L. Las enzimas AST y CK - MB podrían ser consideradas económicas al momento de usarlas como marcadores de daño cardíaco. Por su parte, AST presentó valores promedio de 80 ± 17 UI/L en animales control, y se notó un incremento en animales sometidos a estrés de transporte cuyo valor fue de 92 ± 17 UI/L.

El análisis bioquímico del suero sanguíneo con frecuencia provee información valiosa sobre la salud cardíaca y enfermedad en los animales (Coodley, 1970). Cuando hay daño en el miocardio los niveles de enzimas tales como CK-MB (Kaneko, 1989), LDH (Reinaldo et al., 2010), AST y ALT (Coodley, 1970), homocisteína (Ciaccio et al., 2008) y Troponina I (cTnI) (Radostits et al., 2007) se encuentran elevadas en suero.

Los valores séricos pueden variar dependiendo de la metodología que se emplee en el laboratorio (Santaló et al., 2003). Es por esto que se recomienda establecer, en cada laboratorio, sus propios rangos referenciales (Sodikoff, 1996). Por ello, en esta investigación se presenta valiosa información de valores referenciales séricos, de estas enzimas, en alpacas adultas aparentemente normales. Pero, teniendo en cuenta que por la cantidad de animales estudiados, estos valores resultan ser no significativos estadísticamente.

Son pocos los estudios como el nuestro que relacionan la infección parasitaria en tejido cardíaco y los niveles de biomarcadores cardíacos (Cuadro 2). Otro estudio que hace esta correlación es uno desarrollado en ratas que fueron infectados oralmente con huevos de *Toxocara canis* y se evidenció los cambios producidos en la bioquímica sérica para CK - MB la cual se elevó a 674 UI/L cuando el rango de animales no infectados va de 385-605 UI/L, mientras que LDH se encontró dentro de los valores normales (1473-2401 UI/L) (Braga et al., 2012).

Las tres enzimas determinadas en nuestro estudio también fueron evaluadas por Pourjafar et al. (2013) en dromedarios de 1-3 años de edad y hallaron valores de: AST (UI/L), 101.57 ± 14.38 ; CK - MB (UI/L), 225.06 ± 109.40 ; LDH (UI/L), 2833.49 ± 748.05 . Por su parte en los animales de 4-6 años de edad: AST (UI/L), 72.42 ± 24.37 ; CK- MB (UI/L), 250.16 ± 62.61 y LDH (UI/L) 1714.44 ± 887.57 . Mientras que nosotros hemos determinado para

CK-MB (UI/L) 29.19 ± 8.34 , 30.41 ± 8.93 y 32.93 ± 12.45 ; para AST/GOT (UI/L) 260.52 ± 59.79 , 243.44 ± 48.31 y 253.00 ± 37.79 ; y para LDH (UI/L) 937.41 ± 209.52 , 965.78 ± 162.15 y 966.46 ± 125.33 , en los tres rangos de agrupación, respectivamente (0-10; 11-100 y >100) (Figuras 2, 3 y 4). Başbuğan et al. (2010) desarrollaron un trabajo donde obtuvieron valores de enzimas relacionadas a daño cardiomuscular en 8 bovinos, 10 ovejas y 10 cabras mayores de 12 meses de edad y clínicamente saludables, se determinaron los niveles de CK-MB (UI/L): 21.3 ± 1.25 , 21.60 ± 1.40 y 27.8 ± 2.55 , respectivamente. AST (UI/L): 56.00 ± 6.53 , 67.60 ± 2.4 y 58.00 ± 2.7 , respectivamente. LDH (UI/L): 958.5 ± 63.5 , 386.9 ± 25.4 y 267.1 ± 19.2 , respectivamente.

Otros estudios en veterinaria como los de Fredericks et al. (2001) determinaron la concentración de CK-MB (UI/L) directamente de tejido cardíaco en diferentes especies de uso común en laboratorio y halló en perro 1.3 ± 0.19 , humano 10.3, mono 1.2 ± 0.93 , cerdo 0.6 ± 0.07 y rata 2.5 ± 1.31 .

No hemos podido demostrar que a mayor grado de infección cardíaca haya mayores niveles de CK-MB, AST y LDH (Cuadro 1 y Figura 2), a pesar que está es la primera enzima es la más sensible de las tres usadas en nuestro estudio. Hay tres isoformas de creatinina kinasa: BB, MM y MB. El músculo esquelético contiene primariamente la isoforma MM con trazas de MB (estimado en 1-4 % de la actividad CK) y el musculo cardíaco contiene primariamente la isoforma MM pero con altas cantidades de MB (estimado en 20 % de la actividad CK) (Henderson et al., 2001). En humanos la principal, isoforma contenida en suero es la MM, mientras que la MB es pequeña. La presencia de la secreción incrementada de CK - MB en sangre puede estar relacionada a numerosos sucesos, que estén supeditados al daño del miocardio. Sin embargo, un estudio publicado recientemente, muestra que camellos envenenados con narasina mostraron daños miocárdicos en la histopatología pero los valores de CK-MB no se incrementaron (Hassen et al., 2012).

CONCLUSIONES

- La correlación entre el número de microquistes y los niveles de CK-MB, AST y LDH fueron muy bajas en alpacas infectadas con microquistes de *S. lamacanis*, por lo que las enzimas evaluadas no serían de utilidad como predictores de daño cardíaco por infección de *S. lamacanis*.

- En comparación con los valores referenciales de otros estudios, se observó que la actividad de las enzimas CK- MB y AST/GOT mantuvieron sus valores, a diferencia de la enzima LDH que se incrementó en las alpacas con microquistes de *S. lamacanis*.

Agradecimientos

El presente estudio fue financiado con fondos provenientes del Vicerrectorado de Investigación (VRI) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y del Proyecto N° 173-FINCYT-IB-2013, Lima-Perú.

BIBLIOGRAFIA

- Adams JE. 1997.** Utility of cardiac troponins in patients with suspected cardiac trauma or after cardiac surgery. Clin Lab Med 17(4): 613–623.
- Alpert J, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. 2000.** Myocardial infarction redefined – A consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 36(3): 959–969.
- Alpert JS, Thygesen KE. 2000.** Myocardial infarction redefined - A consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. European Heart Journal 21: 1502-1513.
- Başbuğan Y, Ağaoglu Z, Yüksek N. 2010.** An Investigation on serum troponin concentration in healthy ruminants. Kafkas Univ Vet Fak Derg 16(4): 641-645.
- Bogin E. 2000.** Clinical pathology of *Camelides*: present and future. Revue Méd Vét 151(7): 563-568.
- Braga C, de Bastos S, Nogueira A, Rubinsky-Elefant G, Giuffrida G, Barili R, Vamilton V. 2012.** Cardiac markers: profile in rats experimentally infected with *Toxocara canis*. Rev Bras Parasitol Vet 21(3): 291-293.
- Braun SL, Pongratz DE, Bialk P, Liem S, Schlotter B, Vogt W. 1996.** Discrepant results for cardiac troponin T and troponin I in chronic myopathy, depending on instrument and assay generation. Clin Chem 42(12): 2039–2041.
- Ciaccio M, Bivona G, Bellia C. 2008.** Therapeutical approach to plasma homocysteine and cardiovascular risk reduction. Ther Clin Risk Manag 4: 219-224.
- Coodley EL. 1970.** Diagnostic Enzymology. 3^{ra} ed. USA: W.B. Saunders Co. 323 p
- Díaz H, Espinoza J, Huanca W, Lopez – Torres B, Rodríguez J. 2015.** Características Bioquímicas del Plasma Seminal Fresco y Congelado/Descongelado de Alpaca (*Vicugna pacos*). Rev Inv Vet Perú 26 (1): 43 -48.

- Franz WM, Remppis A, Kandolf R, Kübler W, Katus HA. 1996.** Serum troponin T: diagnostic marker for acute myocarditis. *Clin Chem* 42(2):340–1.
- Fredericks S, Mertona G, Lerena M, Heining P, Carter N, Holt D. 2001.** Cardiac troponins and creatine kinase content of striated muscle in common laboratory animals. *Acta Clin Chem* 304: 65–74.
- Guerrero C, Leguía G. 1987.** Enfermedades infecciosas y parasitarias de alpacas. *Rev Camélidos Sudamericanos* 4: 32-82.
- Hassen AD, Alhaj Ali M, Abbas TA, Omer EA, Al Fihail AM. 2012.** Narasin poisoning in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). *Comp Clin Path* 22 (3): 305 – 311.
- Jaffe AS, Apple FS, Morrow DA, Lindahl B, Katus B. 2010.** Being Rational about precision: A Statement from the Biochemistry Subcommittee of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Foundation/American Heart Association/World Heart Federation Task Force for the Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem* 56: 941-943.
- Kaneko JJ. 1989.** *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4th ed. USA: Academic Press, INC. 832 p.
- La Perle KM, Silverio F, Anderson DE, Blomme EA. 1999.** Dalmeni disease in an alpaca (*Lama pacos*): Sarcocystosis, eosinophilic, myositis and abortion. *J Comp Pathol* 121: 287-293.
- Laslett L, Eisenbud E, Lind R. 1996.** Evidence of Myocardial Injury during Prolonged Strenuous Exercise. *J Am Cardiol* 78: 488–490.
- Lauer B, Niederau C, Kühl U, Schannwell M, Pauschinger M, Strauer BE, Schultheiss HP. 1997.** Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 30(5): 1354–1359.
- Leguía G, Casas E. 1999.** Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. Lima: Ed. De Mar. 190 p.
- Leguía G, Guerrero C, Sam R, Rosadio R. 1990.** Patología de *Sarcocystis aucheniae* en alpacas infectadas naturalmente. *MV Rev Cienc Vet* 6(3): 11-13.
- Maynard SJ, Mentown IBA, Adgey AA. 2000.** Troponin T or troponin I as cardiac markers in ischaemic heart disease. *Heart* 83: 371-373.
- Mercer DW. 1997.** Role of cardiac markers in evaluation of suspected myocardial infarction. Selecting the most clinically useful indicators. *Postgrad Med* 102(5): 113-122.
- Mostajo W. 1983.** Sarcocistiosis en alpacas beneficiadas en el camal municipal de Santa Rosa. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Puno: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano. 58 p.
- Pourjafar M, Chalmeh A, Badiiei Kh, Nazifi S, Keshavarz S, Naghib M. 2013.** Correlations among homocysteine, cardiac troponin I and cardiac enzymes in different ages of clinically healthy male dromedary camels. *IJVM* 7(3): 201-206.

- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. 2007.** Veterinary Medicine: A Text Book of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats. 10^{ma} ed. USA: Elsevier. 2065 p.
- Rajappa M, Sharma A. 2005.** Biomarkers of cardiac injury: an update. *Angiology* 56: 677-691.
- Reinaldo AB, Carlos HJP, Kaio FV, Antonio JS, Leonardo RS, Rui C. 2010.** Effect of shortterm creatine supplementation on markers of skeletal muscle damage after strenuous contractile activity. *J Eur Appl Physiol* 108: 945-955.
- Rodríguez J, Cueva S, Vásquez M, Lira B, Olivera L, Espinoza J. 2012.** Desarrollo postnatal del páncreas endocrino de cuyes (*Cavia porcellus*) lactantes. *Rev Inv Vet Perú* 23 (1): 13 – 19.
- Santaló M, Guindo J; Ordoñez J. 2003.** “Marcadores biológicos de necrosis miocárdica”. *Rev. Esp Cardiol* 56(7):703-720.
- Siegel AJ, Sholar M, Yang J, Dhanak E, Lewandrowski KB. 1997.** Elevated serum cardiac markers in asymptomatic marathon runners after competition: is the myocardium stunned? *Cardiology* 88(6): 487– 491.
- Sitio Web Criterios de Bienestar Animal para el Manejo de Camélidos Silvestres Sudamericanos. 2012.** Lima: Grupo Especialista en Camélidos Sudamericanos (GECS). [Internet], [12 agosto 2015]. Disponible en: <http://infoalpacas.com.pe/criterios-de-bienestar-animal-para-el-manejo-de-camelidos-silvestres-sudamericanos/>.
- Sodikoff C. 1996.** Pruebas diagnósticas y de laboratorio en las enfermedades de pequeños animales. 2º ed. Madrid, España: Mosby-Doyma Libros S. A. 1 – 37 p.
- Tharwat M, Al-Sobayil F, Buczinski S. 2013a.** Cardiac biomarker changes in camels (*Camelus dromedarius*) secondary to road transportation. *Journal of Veterinary Cardiology* 15: 15-22.
- Tharwat M, Al-Sobayil F, Buczinski S. 2013b.** Effect of racing on the serum concentrations of cardiac troponin I and creatine kinase myocardial band in racing camels (*Camelus dromedarius*). *J Vet Res Commun* 37:139–144.