Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria

Presencia de Cryptosporidium parvum en la madre como factor de riesgo de la presentación de C. parvum en alpacas neonatas en Huancavelica

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Milagros Natalia LOSTAUNAU JÁUREGUI

Lima, Perú

2009



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

Lostaunau M. Presencia de Cryptosporidium parvum en la madre como factor de riesgo de la presentación de C. parvum en alpacas neonatas en Huancavelica [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria; 2009.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Armando Gonzales Zariquiey y a la Dra. Teresa López Urbina por darme la confianza para realizar este trabajo de investigación. Así mismo reconozco la ayuda que han prestado a mi persona en cada etapa de la tesis.

También quisiera agradecer al MV Eloy Gonzáles Gustavson con quien realizé la parte práctica de la tesis, además de brindarme ayuda al organizar e interpretar los datos estadísticos obtenidos.

DEDICATORIA

Dedico la tesis a mi madre, Vilma Jáuregui Najarro por todo el apoyo y la inspiración que me brinda diariamente.

Dedico la tesis a Daniel Ladera, gran compañero y amigo quien siempre confió en mí.

Dedico mi trabajo al Dr. Alfredo Delgado Castro y al Dr. Héctor Huamán (+) quienes estuvieron guiándome en toda la etapa de formación en la facultad.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN…… viii

ABSTRACT……..... ix

LISTA DE CUADROS…… x

LISTA DE FIGURAS…….. xi

LISTA DE ANEXOS…… xii

I. INTRODUCCIÓN…….. 1

II. REVISIÓN DE LITERATURA……. 3

1. ANTECEDENTES…… 3

2. ETIOLOGÍA Y TAXONOMÍA……..…….. 5

3. CARACTERÍSTICAS DEL PARÁSITO……..… 8

3.1 Características morfológicas……. 8

3.2 Características biológicas…….. 8

3.3 Localización en el hospedador…….. 10

4. TRANSMISIÓN…… .. 11

4.1 Rol de la madre en la transmisión del *Cryptosporidium parvum* a la cría……. 12

5. CICLO DE VIDA……..... 13

6. EPIDEMIOLOGÍA……... 16

6.1. Factores epidemiológicos dependientes del parásito….. 19

6.2. Factores dependientes del hospedador…… 19

6.2.1. Edad…… 19

6.2.2. Alimentación de la cría…… 20

6.3. Factores dependientes del ambiente…… 20

6.3.1. El terreno de crianza…… 20

6.3.2. Temperatura y Clima…….. 21

7. SIGNOS CLÍNICOS DE LA CRIPTOSPORIDIOSIS…….. 22

8. PERIODO DE INCUBACIÓN…….…. 22

9. INFECCIONES EXTRAINTESTINALES……... 23

10. LESIONES MACROSCÓPICAS……..… 23

11. LESIONES MICROSCÓPICAS…….. 23

12. DIAGNÓSTICO……..….. 23
13. PREVENCIÓN, CONTROL Y TRATAMIENTO…….. 25

III. MATERIALES Y MÉTODOS……..... 26
1. Diseño del estudio……..... 26
2. Lugar del estudio…….. 26
3. Los animales……. 29
4. Tamaño muestral…….. 30
5. Recolección de muestras…….. 31
6. Procesamiento de las muestras…… 32
7. Diagnóstico de láminas positivas a *C. parvum*……..... 35
8. Análisis de datos……. 36

IV. RESULTADOS……..… 37
V. DISCUSIÓN……..… 41
VI. CONCLUSIONES……..….. 46
VII. RECOMENDACIONES……..…. 47
VIII. LITERATURA CITADA……..… 48

RESUMEN

Cryptosporidium parvum afecta el tracto gastrointestinal de los humanos como también a un amplio rango de animales. Los más afectados son los animales neonatos y los individuos inmunocomprometidos. La infección ocurre con la ingestión de ooquistes infectivos que causan diarrea aguda severa pero autolimitante. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar si la presencia de *Cryptosporidium parvum* en la madre alpaca es factor de riesgo para que la cría presente *Cryptosporidium parvum*. El estudio se realizó en varias comunidades en el departamento de Huancavelica durante la época de parición. Se utilizaron 620 pares de muestras de heces de alpacas (madre- cría). Mediante la tinción de Ziehl-Neelsen modificado se diagnosticaron 13 casos positivos a *Cryptosporidium parvum*. Las dos pricipales variables en estudio presentaron un fuerte grado de asociación (Pr = 0.016). Así mismo, se estudiaron diferentes escenarios de riesgo, entre ellos el medio ambiente de crianza, las áreas de crianza, el área o las canchas de parición, el sistema de rotación de las áreas de crianza, la crianza mixta y el sistema de saneamiento de los pastores. Estas variables presentaron diversos grados de asociación. Se concluye que la chance para que la presentación de *Cryptosporidium parvum* en la cría alpaca debido a la presentación de *Cryptosporidium parvum* en la madre alpaca se produzca es 2.4 veces mayor que en las crías con madre negativa. La asociación es fuerte entre las dos variables principales, porque contribuyen la época de parición, la inmunodepresión de la madre alpaca, las condiciones climatológicas, la alta densidad de crianza, la baja rotación de las canchas de pastoreo entre otras variables, lo cual permite que la disponibilidad del parásito sea mayor y además éste se mantenga en el medio ambiente por mucho más tiempo siendo causal de enfermedad (P > | Z | = 0.019).

Palabras claves: *Cryptosporidium parvum*, alpacas, madres, crías, factor de riesgo

ABSTRACT

Cryptosporidium parvum harms the gastrointestinal tract, in humans as well as in a wide range of animals. The most affected are the newborns and the inmunossupresed. The infection occurs with the ingestion of infective oocysts that causes severe but autolimitant diarrhea. The purpose of this work is to determine whether the presence of *Cryptosporidium parvum* in the mother alpaca represents a risk factor for the presence of *Cryptosporidium parvum* in new born alpacas. This study was made in many comunnities in the department of Huancavelica during the birth time. Six hundred and twenty feces samples, pair mother and new born alpaca were studied. The modified Ziehl-Neelsen stain method was used for diagnosis. Thirteen cases with positive diagnosis for *Cryptosporidium parvum* were obtained. The two principal variables in this study had a strong association (Pr = 0.016). Also different risk cases were taken: environment, breeding yards, the birth places and the sanity sistem of the breeders. These variables had different grades of association. In conclusion, the chance for the presence of Cry*ptosporidium parvum* in the new born alpaca be caused by the presence of *Cryptosporidium parvum* in the mother alpaca is 2.4 times more probably than in a new born alpaca with a negative mother. The association between the two principal variables in the study is strong because: the birth time, the inmunodepresion of the mother alpaca, climate condition, the high density, the low rotation of the pasture and other variables contribute to maintain the parasite in a high exposition and for more time in the environment to be the cause of the disease (P > | Z | = 0.019).

Key words: alpaca, *Cryptosporidium parvum*, mother and new born transmmision, risk factor

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Especies de *Cryptosporidium* (basado en Xiao y Fayer, 2008)……..…… 6

Cuadro 2. Estudios previos realizados en el diferentes departamentos de la Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* encontrada en alpacas neonatas..…….. 18

Cuadro 3. Comparación del riesgo de presentación de *Cryptosporidium parvum* en el grupo de expuestos vs. El grupo de no expuestos en el estudio realizado en puntas de alpacas en el departamento de Huancavelica entre los meses de Enero y Febrero del año 2007……...……38

Cuadro 4. Chance para que el evento suceda entre el diagnóstico para *Cryptosporidium parvum* de las crías de alpaca y el diagnóstico de *C. parvum* de las madres alpacas mediante el modelo de regresión logística en puntas de alpacas muestreadas en el departamento de Huancavelica entre los meses de enero y febrero del año 2007……...……39

Cuadro 5. Diagnóstico positivo a *C. parvum* de la cría ajustado a otras posibles variables confundentes en puntas de alpacas distribuidas en el departamento de Huancavelica entre los meses de enero y febrero del año 2007……...…….……..40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo Biológico de *Cryptosporidium parvum* (Fayer, 1997)…….15

Figura 2. Mapa político del departamento de Huancavelica……28

Figura 3. Punta de alpacas y crías……29

Figura 4. Toma de muestra de heces de una cría de alpaca…….31

Figura 5. Organización de las muestras…….…..32

Figura 6. Frotices en las láminas…….……33

Figura 7. Fijando las láminas con metanol en el vaso koplin…….33

Figura 8. Secado de las láminas después del metanol…….34

Figura 9. Embalaje de las láminas……..34

Figura 10. Muestras conservadas en dicromato de potasio……34

Figura 11. Ooquistes coloreados mediante la técnica de Ziehl-Neelsen Modificada.....35

LISTA DE APÉNDICES

Apéndice 1. Técnica de coloración: Tinción Zielh – Neelsen Modificada (ZNM) utilizada para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium sp*…….59

Apéndice 2. Zonas alpaqueras en el departamento de Huancavelica y sus poblaciones…61

I. INTRODUCCIÓN

La criptosporidiosis es una enfermedad cosmopolita causada por un parásito protozoo apicomplexa del género *Cryptosporidium.* El parásito afecta el tracto gastrointestinal de los humanos como también a un amplio rango de animales de compañía, de abasto, de laboratorio y silvestres. El reconocimiento de la criptosporidiosis como enfermedad y el patógeno que la causa ha tomado muchos años de estudio y observación. Se señala como los más afectados a los animals neonatos y los individuos inmunocomprometidos, en los cuales se observa este organismo como oportunista. Aun se viene estudiando la especie de cada ooquiste de *Cryptosporidium* encontrado.

La infección por *Cryptosporidium sp.* ocurre con la ingestión de ooquistes infectivos vía fecal-oral, asociada con el consumo de agua o alimento contaminado. También, el contacto persona a persona y animal- persona representan importantes fuentes de infección (Chen *et al*., 2002; Dillingham *et al*., 2002). El *Cryptosporidium sp*. causa diarrea aguda y severa pero autolimitante en hospedadores inmunocompetentes, mientras que en pacientes inmunocomprometidos el parásito causa una enfermedad crónica y progresiva (Chen *et al*., 2002; Traversa *et al*., 2008). Además, la infección se considera parte del síndrome diarreico neonatal en rumiantes y en los últimos años se han incrementado los casos digestivos en los que el agente causal principal es el *Cryptosporidium parvum*.

Los camélidos sudamericanos son la base pecuaria de la población andina del Perú, pues representan fuente de trabajo y alimento para miles de familias. Por otro lado, constituyen el único medio de utilización productiva de las extensas áreas de pastos naturales de las zonas altoandinas, que van desde los 4000 a 5000 msnm, donde no es posible la agricultura ni la crianza rentable de otras especies de animales domésticos. La población de alpacas en el Perú es de 3 millones y se estima que el 81% se encuentra en manos de pequeños productores de subsistencia. Puno es el departamento que posee la mayor

proporción de alpacas seguido por Cuzco, Huancavelica y Arequipa; esto está en relación con la extensión de praderas altoandinas existentes (FAO, 2005).

Las prácticas de manejo de alpacas son tradicionales y carentes de innovaciónes tecnológicas. Los criadores enfrentan problemas de diversa índole siendo uno de los más relevantes la alta mortalidad de crías, lo que resulta en una pobre rentabilidad. Esta alta mortalidad es causada por enfermedades de diverso origen, por ejemplo las parasitarias como la criptosporidiosis o las bacterianas como la enterotoxemia (FAO, 2005).

Durante la última decada el interés por estudiar al *Cryptosporidium spp.* se ha incrementado a causa de su implicancia en salud pública. Así mismo, estudios moleculares están proveyendo información acerca de como los animales y humanos actúan como reservorios de la infección. Otros temas de estudio son los múltiples factores asociados con la criptosporidiosis y su compleja interacción entre los hospedadores y el medio ambiente. Cada uno de estos factores incrementa el riesgo de contagio del parásito y por lo tanto necesitan una investigación sistemática. El valor del riesgo es uno de los componentes del análisis de riesgo y ofrece un significado para realizar una investigación sistemática. En este sentido, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar si la presencia de *C. parvum* en la madre alpaca es factor de riesgo para que la cría alpaca presente *C. parvum*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

La criptosporidiosis es una enfermedad parasitaria de distribución cosmopolita cuyo principal signo clínico en los rumiantes domésticos neonatos es la diarrea. Es causada por protozoos incluidos en el género *Crypstosporidium*, que comprende organismos que se desarrollan y multiplican en las células epiteliales de los aparatos digestivos y respiratorios de vertebrados. La infección por *Cryptosporidium* se ha descrito en más de 170 especies (Ortega Mora *et al*., en Cordero del Campillo y Rojo - Vásquez., 1999) y se caracteriza por afectar a los neonatos entre 3 y 35 días de edad (Acha y Szyfres, 2003).

El estudio de la criptosporidiosis en las distintas especies domésticas y su papel como patógeno primario de las diarreas neonatales es un aspecto importante que se investiga en medicina veterinaria, debido al gran impacto económico que representa para la mayoría de explotaciones ganaderas (López *et al*., 2001). En los rumiantes domésticos, la criptosporidiosis no se considera únicamente bajo la óptica de la sanidad y la producción animal, también se debe considerar las pérdidas debidas a mortalidad, morbilidad, gasto en medicamentos y horas de trabajo. Además, se debe considerar su carácter zoonótico y la posibilidad de que los animales de producción actúen como fuente de contagio, vehiculizando el parásito a la población humana por los alimentos y el agua (Cordero del Campillo y Rojo - Vásquez., 1999).

1. Antecedentes

En 1907, Ernest Edward Tyzzer fue el primero en reconocer, describir y publicar un informe sobre un parásito protozoario que encontraba frecuentemente en las glándulas gástricas en ratones de laboratorio. Detalló las fases asexual, sexual y espora (ooquistes), remarcó que las esporas (ooquistes) fueron excretadas en las heces y describió la transmisión fecal-oral del parásito. Además, reconoció al parásito como un esporozoa de un incierto estatus taxonómico

y lo llamó *Cryptosporidium muris*. En 1910 propuso al *Cryptosporidium* como un nuevo género (Fayer, 1997; Thomaz *et al*., 2007).

A inicios del siglo XX se establece la existencia de dos especies del género *Cryptosporidium* en ratones, *C. muris* (encontrado en el estómago) y *C. parvum* (hallado en el intestino) (Slapeta, 2006). Durante 70 años la criptosporidiosis fue descuidada por considerarse una infección poco frecuente e insignificante que ocurría en el intestino de los vertebrados y que causaba una enfermedad leve o no causaba enfermedad (Fayer, 1997). La asociación con enfermedad gastrointestinal en humanos y animales es reconocida recién a comienzos del año 1980. En los siguientes 25 años se genera información sobre la enfermedad en epidemiología, biología, taxonomía y se desarrollan herramientas de diagnóstico molecular (Tzipori y Widmer, 2008).

En el año 1971 se reporta el primer caso de criptosporidiosis clínica en animales. Se encuentra en una ternera de 8 meses de edad que sufre de una diarrea crónica. Años después de este hallazgo, se reportan casos clínicos de criptosporidiosis en terneros de hatos de carne y leche de 2 semanas de edad (Barker y Carbonnel, 1974; Meutin *et al*., 1974; Morin *et al*., 1976). Por otro lado, O´Handley *et al*. en el año 1999 reportan que ooquistes de *Cryptosporidium parvum* son detectados en heces de terneros Holstein a la edad promedio de 16.3 días.

La presencia del *Cryptosporidium* en camélidos sudamericanos se reportó por primera en 1988 (Rojas, 1990). Posteriormente, se determinó la asociación de *C. parvum* con la diarrea neonatal en alpacas en el Perú (López *et al*., 2001). La diarrea en alpacas representa una grave enfermedad que limita la productividad de camélidos sudamericanos (López *et al*., 1995), en especial produce pérdidas en la crianza no tecnificada y no se conocen bien su epidemiología y los factores de riesgo asociados a su presencia en camélidos neonatos (López *et al*., 1995).

El primer reporte de 2 casos de una infección por *Cryptosporidium* en humanos sucedió en 1976 (Nime *et al*., 1976). Con el uso de pruebas apropiadas los casos de criptosporidiosis humana han ido en aumento. En este sentido, en Estados Unidos se hicieron estudios de criptosporidiosis en los años 2003, 2004 y 2005. Estos estudios reportaron 3505, 3911 y 8269 casos de criptosporidiosis humana respectivamente. Así mismo, se han reportado brotes en estudiantes de medicina veterinaria en contacto con terneros infectados, investigadores en contacto con terneros infectados y niños que asisten a ferias o campos agrícolas (Preiser *et al*., 2003; Smith *et al*., 2004; Kiang *et al*., 2006).

2. Etiología y Taxonomía

El *Cryptosporidium* es uno de los muchos protozoos del *phylum* Apicomplexa. Los protozoos Apicomplexa están referidos como coccidios. Inicialmente, las especies de *Cryptosporidium* fueron nombradas como el hospedador en el que fueron encontradas y el sitio de infección dentro del animal. Posteriormente, la morfología y estudios de transmisión cruzada han invalidado muchas especies (Fayer, 1997). Actualmente, se están utilizando técnicas moleculares para establecer la base genética para hacer la distinción. En este sentido, la evolución de *Cryptosporidium sp.* es importante para clarificar la taxonomía del género y también para ver la significancia del parásito en salud pública (Xiao *et al*., 2001).

El género *Cryptosporidium* consiste en múltiples especies y subespecies detalladas en la tabla 1. Este género consiste en 18 especies (Cuadro 1) y por encima de 40 genotipos (Xiao y Fayer, 2008b). Inicialmente, se reporta que el *Cryptosporidium parvum* es infeccioso para 79 especies de mamíferos, incluyendo humanos (Fayer *et al*., 1990; Fayer, 1997). En los siguientes años más de 150 mamíferos hospedadores fueron reportados de haber sido infectados con *C. parvum*, o un parásito parecido a *C. parvum* o simplemente *Cryptosporidium,* basados en observaciones microscópicas de ooquistes en muestras de heces (Xiao y Fayer, 2008a).

Cuadro 1. Especies de *Cryptosporidium*

Especie	Hospedadores	Autor que la reporta inicialmente	Otros reportes
C. andersoni	*Bos Taurus* (bovinos domésticos)	Lindsay *et al*., 2000	Bovinos (Kvac, 2008; Byambaa, 2007; Thompson, 2007) Codorniz (Ng, 2006) Ovejas, Camello, gerbil, ratón, wood partridge
C. baileyi	*Gallus gallus* (pollos)	Current *et al* ., 1986	Aves de corral, *Gallus gallus* (Current *et al*., 1986); (Thompson y Monis, 2004; Xiao *et al*., 2004 en Thompson, 2007); (Ng, 2006); Aves silvestres (Ng, 2006) Pollos, patos, Bobwhite quail
C. bovis	*Bos Taurus* (bovinos domésticos)	Fayer *et al* ., 2005	
C. canis	*Canis familiaris* (perro doméstico)	Fayer *et al* ., 2001	Perro (Thomas, 2007; Thompson y Monis, 2004; Xiao *et al.* en Thompson, 2007) Lobo, Coyote
C. fayeri	*Macropus rufus* (canguro rojo)	Ryan *et al* ., 2008	
C. felis	*Felis catis* (gato doméstico)	Iseki, 1979	Felino, *Felis catis* (Iseki, 1979; Thomas, 2007; (Thompson y Monis, 2004; Xiao *et al*., en Thompson, 2007) Bovinos
C. galli	*Gallus gallus* (pollos)	Pavlasek, 1999	Aves silvestres (Ng, 2006) Aves de corral (Ng, 2006)
C. hominis	*Homo sapiens* (humano)	Morgan-Ryan *et al* ., 2002	Primates, Bovinos, Ovejas, Cerdos
C. macropodum	*Macropus giganteus* (canguro gris)	Power y Ryan, 2008	
C. meleagridis	*Meleagris gallopavo* (pavo)	Slavin, 1955	Aves, *Meleagridis gallopavo* (Slavin, 1955); (Thompson y Monis, 2004; Xiao *et al*., en Thompson, 2007) Humanos, pollo, Bobwhite quail, perro, deer mouse.

Basado en Xiao y Fayer ,2008a

Cuadro 1. Especies de *Cryptosporidium*. Continuación.

Cryptosporidium molnari	*Sparus aurata* (gilthead seabream) *Dicentrarchus labrax* (European seabass)	Alvarez-Pellitero y Sitja-Bobadilla, 2002	
Cryptosporidium muris	*Mus musculus* (ratón)	Tyzzer, 1910	Ovinos y Caprinos (Kvac, 2008) Roedores, *Mus musculus* (Tyzzer, 1910); (Thompson y Monis, 2004; Xiao *et al*., en Thompson, 2007) En bovinos de carne (Nakai *et al*., 2004) Ratón, hamster, ardilla, Siberian chipmunk, wood mouse, bank vole, rock hyrax, camello, cabra de monte, gato, coyote, ringed seal, bilby, cynomolgus mono, tawny frogmouth
Cryptosporidium parvum	*Mus musculus* (ratón)	Tyzzer, 1912	Bovino (Byambaa, 2007; Thomas, 2007) Raton, *Mus musculus* (Tyzzer, 1912) Terneros, Ovejas, Caballo, Alpaca, perro, ratón, raccoon dog, eastern squirrel
Cryptosporidium scophthalmi	*Scophthalmi maximus* (turbot)	Alvarez-Pellitero *et al*., 2004	
Cryptosporidium serpentis	*Elaphe guttata* (serpiente) *Elaphe subocularis* (rat snake) *Sanzinia madagascarensus* (Boa Madagascar)	Levine, 1980 (Brownstein *et al*.,1977)	Reptiles (Thompson y Monis, 2004; Xiao *et al*., en Thompson, 2007)
Cryptosporidium suis	*Sus scrofa* (cerdo)	Ryan *et al*., 2004	Porcinos (Thompson y Monis, 2004; Xiao *et al*., en Thompson, 2007) Bovino
Cryptosporidium varanii	*Varanus prasinus* (Emerald monitor)	Pavlasek *et al*., 1995	
Cryptosporidium wrairi	*Cavia porcellus* (cuy)	Vetterling *et al*., 1971	Cuy, *Cavia porcellus* (Vetterling *et al*., 1971); (Thompson y Monis, 2004; Xiao *et al.,* en Thompson, 2007)

Basado en Xiao y Fayer, 2008a

En enero del año 2008 se propone la existencia de una nueva especie hallada en canguros rojos en Australia a la que se denominó C*ryptosporidium fayeri*. Esta nueva especie se diferencia en un 90.64% - 97.88% de *Cryptosporidium parvum.* Hasta el momento se considera que esta especie es específica para su hospedador (Ryan *et al*., 2008).

3. Características del parásito

3.1 Características Morfológicas

Los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* son organismos esféricos u ovalados, de 4-6 µm de diámetro (Cordero del Campillo y Rojo - Vásquez, 1999) y tienen estructuras internas oscuras que son los esporozoítos (Fayer *et al.,* 2000; Xiao *et al*., 2004a). El 80% de los ooquistes presentan una doble pared ooquística, constituyen las formas de resistencia que encontramos en el ambiente y son los responsables de la transmisión entre hospedadores (Leguía y Casas, 1999).

3.2 Características biológicas

La caracterización genética y la adaptación indican la evolución conjunta del *Cryptosporidium* y del hospedador (Xiao *et al*., 2001). Algunas especies y genotipos parecen estar restringidos a una particular especie o tipo de hospedador. Por ejemplo, *Cryptosporidium baileyi* y *Cryptosporidium wrairi* sólo infectan a aves y cuyes respectivamente (Gibson y Wagner, 1986) y *Cryptosporidium canis* sólo a perros. Por otro lado, existen otras especies que tienen un rango amplio de hospedadores. Así, *C. parvum* afecta a bovinos, otros animales de abasto y humanos (Thompson *et al*., 2007), *C. meleagridis* afecta a pavos y a humanos (Slavin, 1995; Xiao *et al*., en Thompson *et al*., 2007), y *Cryptosporidium muris* y *C. andersoni*, ambos reconocidos como parásitos del estómago de mamíferos, han sido detectados en heces de aves (Ng *et al*., 2006).

La especie más estudiada es el *Cryptosporidium parvum*, que alguna vez se pensó que era la que infectaba a todas las especies de mamíferos. Así mismo, se determinó que *C. parvum* podía infectar pollos bajo condiciones experimentales (Palkovic y Marousek, 1989). Sin embargo, estos resultados no pudieron ser corroborados en otro estudio experimental (Darabus y Olariu, 2003). Estudios realizados en 1995 determinaron que los ooquistes de *C. parvum* hallados en humanos eran capaces de infectar pescados, anfibios, reptiles, aves y mamíferos (Arcay *et al*., 1995), mientras que otros estudios determinaron que los ooquistes de *C. parvum* de un bovino no eran capaces de infectar a pescados, anfibios o reptiles y que los ooquistes hallados simplemente pasaban a través del tracto digestivo (Graczyk *et al*., 1996)

La existencia de especies y genotipos de *Cryptosporidium* adaptados a los hospedadores indica que la transmisión cruzada entre diferentes grupos es usualmente limitada. La transmisión cruzada entre especies es posible cuando los animales comparten un habitat similar y el parásito es biológicamente capaz de infectar múltiples especies de hospedadores. Dos genotipos que aparecen para apoyar este argumento son el genotip*o skunk* (zorrillo) y el genotipo *cervine* (ciervo). El genotipo *skunk* (zorrillo) ha sido detectado en heces de zorrillos, mapaches, ardillas y zarigueya (Fayer *et al.,* 2006). El genotip*o cervine* ha sido detectado en heces de rumiantes domésticos y silvestres (ovejas, oveja mouflon, ciervo), roedores (ardillas, ardillas listadas, marmotas, castor, ratón ciervo), carnívoros (mapache) y primates (lémur y humanos) (Ryan *et al*., 2008).

Análisis filogenéticos sugieren que *Cryptosporidium parvum* genotipo bovino y *Cryptosporidium meleagridis* fueron originalmente parásitos de roedores y mamíferos respectivamente. Posteriormente, se incrementa el rango de hospedadores, incluyendo a humanos inmunocomprometidos y sanos (Pedraza – Díaz *et al*., 2000; Xiao *et al*., 2001). Por otro lado, se

indica que el *C. parvum* ha sido transmitido de un paciente infectado con diarrea a pollos, ratones, lechones y terneros (Akiyoshi *et al*., 2003).

Cryptosporidium parvum genotipo bovino es genéticamente muy cercano al *C. parvum* genotipo ratón y forman un solo grupo con *C. parvum* genotipos humano, mono y conejo (Xiao *et al*., 2001). *Cryptosporidium parvum genotipo bovino* es considerado zoonótico y ha sido aislado de bovinos, ovejas, cabras y alpacas (Morgan *et al*., 1998). El *Crytosporidium parvum* es un parásito causante de diarrea en terneros, caprinos, ovinos y otros mamíferos (Palacios *et al*., 2005). Se ha descrito en alpacas sanas (Rojas, 1990) y en aquellas que presentaron diarrea (López y González., 1997).

3.3 Localización en el Hospedador

El *Cryptosporidium parvum* se localiza en el intestino delgado con especial predilección por las partes finales del yeyuno y el ileon, aunque también puede afectar al intestino grueso, principalmente al ciego y el colon; en determinados casos parasita todo el tracto intestinal. Los estados endógenos del parásito se sitúan en el borde luminal de los enterocitos, localización que se ha definido como intracelular, pero extracitoplasmática (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999). Ocasionalmente, se ha encontrado el parásito en: el estómago, la vesícula biliar, el hígado, el páncreas, el útero, la tráquea, los pulmones, el corazón, las vías urinarias y la conjuntiva de terneros, cerdos y ratones infectados natural y experimentalmente (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999; Rojas, 2003).

4. Transmisión

El ooquiste es el estadío transmitido de un hospedador infectado a un hospedador susceptible por la vía fecal- oral. Las rutas de transmisión pueden ser: persona a persona a través del contacto directo o indirecto, posiblemente incluyendo actividades sexuales, tomando agua o comiendo alimento contaminado o en piscinas. Así mismo, de animal a animal a través de los pastos contaminado con heces, de la cama de la explotación o de las ubres de las madres. También, el contagio puede ser de animal a humano considerando el contacto directo y el indirecto (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999).

El elevado número de ooquistes que excretan los animales enfermos durante la fase aguda de la enfermedad es la principal fuente de infección (Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999). La prevalencia es superior en explotaciones con un elevado número de neonatos. Pues, en el periodo de máxima eliminación los neonatos infectados pueden excretar entre 10^6- 10^7 ooquistes por gramo de heces. También, incrementan la prevalencia determinados factores de riesgo como: el hacinamiento de los animales y las condiciones higiénicas deficientes. Así mismo, la incidencia de nuevos casos es superior al final de la época de partos, como consecuencia de la contaminación progresiva del corral de partos al favorecer la acumulación de materia fecal contaminada (Nouri y Touroghi, 1991; Lorenzo- Lorenzo *et al*., 1993; Requejo - Fernández, 1995; Scott *et al*., 1995; Heather *et al*., 2007).

También, existe la posibilidad de transmisión indirecta de la criptosporidiosis, mediante la ingestión de agua o alimentos contaminados, aunque esta vía de transmisión tiene mayor interés desde el punto de vista de la salud pública, especialmente teniendo en cuenta el carácter zoonótico de la enfermedad (Requejo – Fernández *et al*., 1995; Cordero del Campillo y Rojo-Vásquez, 1999). La contaminación de los alimentos se debe a los mecanismos de alimentación y

hábitos de apareamiento de insectos sinantrópicos pueden contribuir significativamente a la dispersión de enfermedades entéricas causadas por protozoos en países en desarrollo como en países desarrollados (Graczyck *et al*., 1999).

4.1 Rol de la madre en la transmisión del *Cryptosporidium parvum* a la cría

Una fuente de infección adicional son los animales adultos que actúan como portadores y posibilitan el mantenimiento de la infección en las explotaciones pecuarias (Requejo – Fernández *et al*., 1995; Ortega- Mora *et al.,* 1999; Faubert y Litvinsky, 2002). Aunque, la cantidad de ooquistes que eliminan estos animales al medio es generalmente baja, ésta es suficiente para infectar a los animales recién nacidos, que son los que posteriormente amplifican la infección (Xiao *et al*., 1994; Castro – Hermida *et al*., 2005; Ryan *et al*., 2005).

En las ovejas, se ha demostrado que la eliminación de ooquistes es significativamente mayor durante el periparto, especialmente en la primera semana posparto el número de ooquistes excretados se incrementa entre 7 a 10 veces durante 3 semanas alrededor del parto (Xiao *et al*., 1993), como consecuencia de la inmunodepresión que parecen originar los cambios hormonales durante el parto y la lactación (Ortega- Mora *et al.,* 1999). Se plantea como hipótesis que el incremento en la excreción de ooquistes en las heces por parte de las madres podría ser debido a una depresión de la respuesta inmune de los linfocitos T helper-1 durante ese periodo (Marzi *et al*., 1996 en Faubert y Litvinsky, 2002; Faubert y Litvinsky, 2002), y se estima que cada oveja parasitada puede eliminar diariamente al medio durante ese período entre 20000 y 440000 ooquistes (Nouri y Touroghi, 1991; Lorenzo-Lorenzo *et al*., 1993; Xiao *et al*., 1994; Requejo Fernández, 1995; Scott *et al*., 1995).

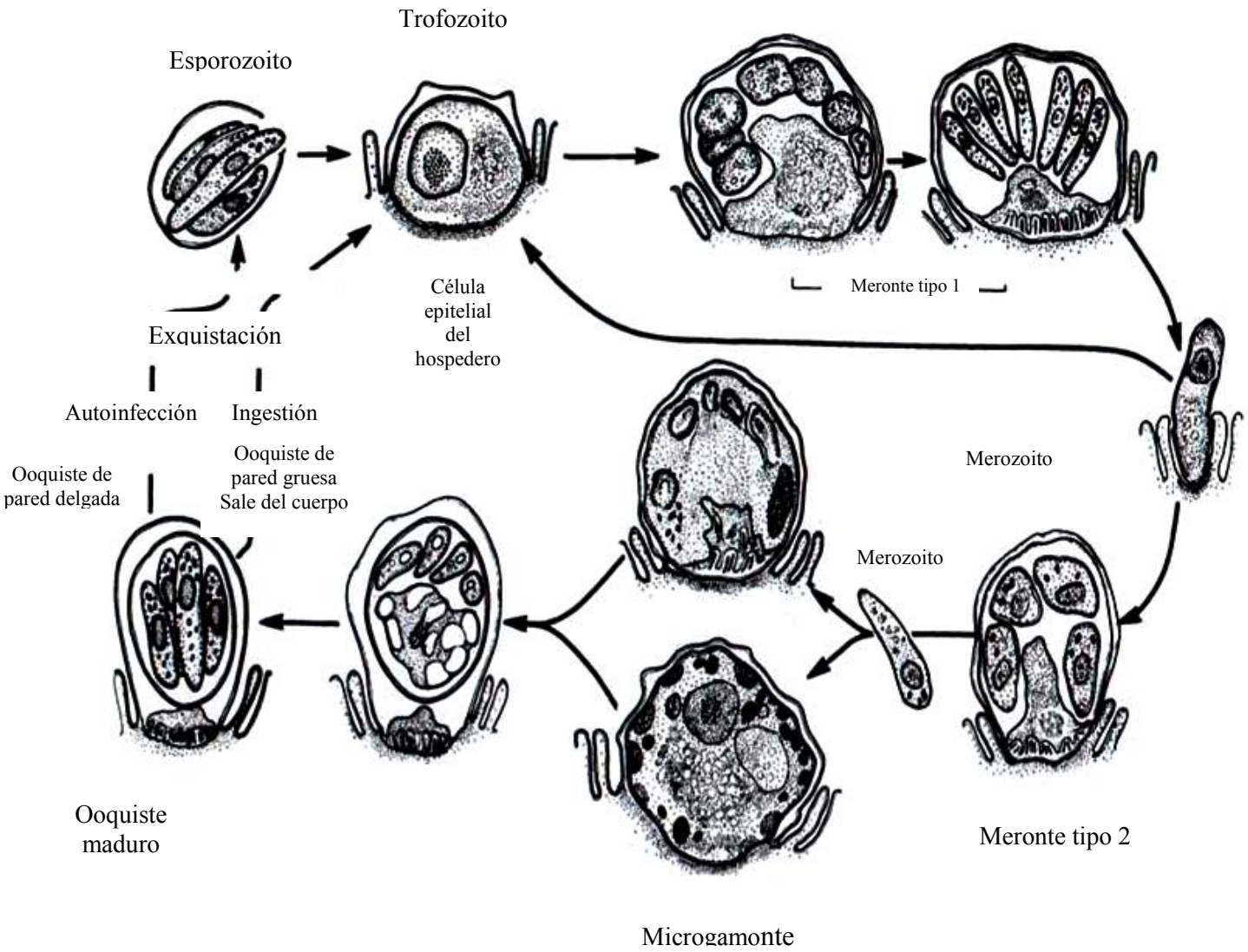
5. Ciclo de Vida

El ciclo biológico del *Cryptosporidium* es monoxeno pues todas sus fases, asexuadas y sexuadas, ocurren en el mismo hospedador (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999; Fayer, 2008). Inicialmente los ooquistes son ingeridos en agua o comida contaminada o producto de un contacto directo con una persona o animal infectado, luego los esporozoítos son liberados en el intestino delgado e invaden las células epiteliales. Todos los siguientes estadíos endógenos son intracelulares pero extracitoplasmáticos. Se producen dos ciclos asexuales, cada uno produce 4 a 8 merozoítos dependiendo si se trata de una esquizogonia de I o II generación. Así mismo, se reconoce la existencia de dos tipos de esquizontes: el tipo I es el primero en aparecer en el ciclo biológico y tiene 8 merozoítos; el tipo II tiene 4 merozoítos. Los merozoítos del tipo I pueden generar nuevas merogonias de primera generación o formar merontes de tipo II a partir de los cuales se desarrollan los macro y microgametos. La mayoría de los merozoítos de tipo II que entran en la célula hospedadora van a formar macrogametos, mientras que sólo unos pocos forman microgamontes, que contienen 16 microgametos en su interior (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999). (Figura 1)

Los macrogametos poseen gránulos de polisacáridos en la parte basal y cuerpos formadores de la pared en la periferia. Los microgametos carecen de flagelo y se dirigen hacia los macrogametos siguiendo el flujo intestinal o mediante la contracción y extensión de los microtúbulos intracitoplasmáticos. El segundo estadío, merozoítos, se transforma en estadíos sexuados macho o hembra y la fertilización se acompaña de la penetración del microgameto a través de la vacuola parasitófora y de la membrana del microgameto. La esporogonia tiene lugar en el interior de la célula hospedadora resultando en la formación de ooquistes (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999). Algunos ooquistes pueden causar la autoinfección, pero la mayoría son excretados en las heces (Xiao y Ryan, 2008b).

La formación de la pared del ooquiste acontece antes que la esporulación. El 80% de los ooquistes presentan una doble pared ooquística, se denominan ooquistes de pared gruesa, constituyen las formas de resistencia que encontramos en el ambiente. Los ooquistes de algunas especies como el *Cryptosporidium parvum* puede mantenerse infecciosos en climas fríos y en condiciones húmedas durante 6 meses en promedio (Fayer *et al*, 1990) y son los responsables de la transmisión entre hospedadores (Leguía y Casas, 1999). Los ooquistes de pared fina (20%) están rodeados de una sola unidad de membrana y son los responsables de la autoinfección. Su pared se rompe tras su liberación por la célula hospedadora y los esporozoítos penetran en las células epiteliales adyacentes, reiniciándose el ciclo endógeno (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999; Urquhart, 2001; Barriga, 2002).

Figura 1. Ciclo Biológico de *C. parvum*



Fayer *et al*., 1997

6. Epidemiología

La distribución de la criptosporidiosis en los rumiantes domésticos es cosmopolita (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999; Acha y Szyfres, 2003). Se reportan prevalencias de *Cryptosporidium parvum* entre 52 a 59% en hatos de rumiantes domésticos (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999) así como en rumiantes neonatos silvestres también se ha reportado la existencia del parásito (Parreno *et al*., 2001).

En el año 1997 se determinó que la prevalencia de la infección por *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatas en el departamento de Huancavelica fue de 22 ± 3,21% (López, 1997). Este dato reflejó la situación de la criptosporidiosis en crianzas de alpacas menos tecnificadas. Una de las provincias del departamento de Huancavelica, Castrovirreina, presentó una prevalencia de 26 ± 4,85% y en otras localidades muestreadas en la provincia de Huancavelica fue de 18 ± 4,18% (López *et al*., 1995) (Cuadro 2). Las provincias de Huancavelica y Castrovirreina fueron la primera y la segunda provincia con mayor población alpaquera respectivamente (Apéndice 5).

En el ganado bovino los datos de prevalencia varían ampliamente dependiendo de la técnica utilizada para recuperar ooquistes, de la granja, de los animales y del país. El rango de valores va de 9 a 70 % (Lorenzo – Lorenzo *et al*., 1993; Olson *et al*., 1997). En ovejas, las infecciones digestivas causadas por *C. parvum* han sido registradas en 7.8% a 19.5% en animales adultos (Xiao *et al*., 1993; Causape *et al*., 2002). La prevalencia de rebaños de ovinos infectados es de 52% y en rebaños con antecedentes de diarrea es superior al 70% (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999). El *C. parvum* es frecuente en la especie caprina, especialmente en cabritos y las prevalencias de rebaño e individuales son similares a las observadas en ovinos y bovinos (Majewska, 2000).

El *Cryptosporidium* es un parásito ubicuo, de distribución mundial y ha sido reportado por infectar a personas en 106 países (Xiao y Fayer; 2008). Los grupos de mayor riesgo de infección incluyen niños, personas desnutridas y un amplio rango de individuos inmunocomprometidos incluyendo pacientes con SIDA, receptores de transplantes, pacientes recibiendo quimioterapia, pacientes internados y pacientes con enfermedades infecciosas inmunosupresivas (Fayer *et al.,* 2000). Ademas, la enfermedad tiene una especial repercusión en la población infantil (Fayer *et al*., 2000).

En los humanos la prevalencia de la enfermedad es de 3-20% en la población de las zonas más desfavorecidas. Investigaciones realizadas en países en desarrollo demuestran una mayor prevalencia de infección que en países industrializados (Fayer *et al*., 2000). El subtipo II de *C. parvum* antropozoonótico es responsable de la mayoría de infecciones humanas en países en desarrollo (Xiao *et al*., 2004a; Xiao *et al*., 2007). Las diferencias de la infección por *Cryptosporidium* entre los países industrializados y los países en vias de desarrollo están en los mejores servicios sanitarios y agua para beber más limpia con los que cuentan los países industrializados (Mc lauchlin *et al*., 2000; Learmonth *et al*., 2004; Starkey *et al.,* 2007).

Cuadro 2. Prevalencia de *C. parvum* encontrada en alpacas neonatas por departamento en el Perú en estudios previos.

DEPARTAMENTO	PREVALENCIA (%)	INTERVALO DE CONFIANZA (95%)	AUTORES DE TRABAJOS PREVIOS
Puno	26.1	22.7 – 29.4	Morales, 1996
Huancavelica	25.2	21.8 – 28.6	Romero, 1998
Junín	18.9	15.5 – 22.3	Wanda, 1996
Pasco	12.03	9.25 – 14.8	Romero, 1998
Arequipa	10.5	8.5 – 12.5	Tribeño, 1997
Cuzco	10.4	7.7 – 13.1	Caman, 1996
Cuzco- La Raya	9.9	6.2 – 13.72	Fernández, 1995
Ayacucho	7.8	5.8 – 9.9	Ramírez, 1997

6.1 Factores epidemiológicos dependientes del parásito

Los ooquistes de *C. parvum* pueden continuar viables en el medio ambiente durante muchos meses (Fayer *et al.,* 2000). Esa resistencia es proporcionada por las capas protectoras que poseen pues le dan resistencia ante temperaturas extremas, cloración y destrucción mecánica para que se mantengan infectivos (Harp *et al.,* 1996; Fayer *et al.,* 2000; Xiao *et al*., 2001; Faubert y Litvinsky, 2002; Pokorny *et al.,* 2002).

El *Cryptosporidium* posee dos tipos de ooquistes que se diferencian por el número de capas que les proporcionan protección. La protección del 80% de los ooquistes es una doble pared ooquística. Estos ooquistes constituyen las formas de resistencia que se encuentran en el ambiente y son los responsables de la transmisión entre hospedadores. Los ooquistes de pared fina, que son aproximadamente el 20%, están rodeados de una sola membrana y son los responsables de la autoinfección. Su pared es relativamente débil, se rompe tras su liberación por la célula hospedadora y los esporozoítos penetran en las células epiteliales adyacentes, reiniciándose el ciclo endógeno (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999; Xiao *et al*., 2001).

6.2. Factores epidemiológicos dependientes del hospedador

6.2.1. Edad

Los animales neonatos son los más susceptibles a contraer la criptosporidiosis ya que posiblemente poseen factores influyentes como la temperatura corporal, las sales biliares y la tripsina que crean las condiciones adecuadas para que se desencadene la enfermedad. Así mismo, poseen un sistema inmune poco desarrollado para contrarrestar a los patógenos como el *C. parvum* (Soulsby, 1987; Mehlhorn, 1993; Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez., 1999).

Mientras que los animales adultos son generalmente considerados refractarios a la reinfección y a la enfermedad causada por *C. parvum*, debido a que tienen una respuesta inmune fuerte. Sin embargo, los animales adultos permanecen como portadores asintomáticos, reactivándose el ciclo endógeno cuando pasan por procesos de estrés (Foreyt, 1990; Starkey *et al*., 2007).

La criptoporidiosis en alpacas crías se presenta en el rango de edades de 9 a 11 días y se extiende por dos semanas en promedio (Starkey *et al*., 2007). En el caso de terneros el hallazgo de ooquistes de *C. parvum* es común alrededor de dos semanas de edad y rara en terneros menores de 1 semana o sobre 4 semanas de edad (Pohlenz *et al*., 1978; Mackenzie *et al*., 1994; Faubert y Litvinsky, 2002; Santín *et al*., 2004; Fayer *et al*., 2006; Feltus *et al*., 2008).

6.2.2. Alimentación de la cría

En los primeros días, la alpaca cría depende enteramente de la leche materna luego entre la tercera y cuarta semana de vida combina su dieta entre la leche materna y el pasto (Bustinza, 2000). Las alpacas tienen la conducta de depositar los excrementos en lugares determinados, formando los llamados estercoleros o letrinas. Estos lugares tienen un papel importante en el control de las infestaciones parasitarias. En las crianzas menos tecnificadas la contaminación de los pastos es alta debido a la elevada densidad y a la baja rotación de las canchas (FAO, 2005).

6.3. Factores epidemiológicos dependientes del ambiente

6.3.1. El terreno de crianza

Los terrenos de crianza de alpacas deben tener ciertas características óptimas. En este sentido, los terrenos deben de estar dotados de buenos pastizales, deben estar ubicados en sitios bajos y

abrigados en laderas con poca pendiente, además deben disponer de suficiente agua. Es importante la inclinación del terreno pues se ha comprobado que los terrenos planos y arcillosos predisponen a que se acumule el agua de las lluvias siendo así esta humedad beneficiosa para la conservación de los ooquistes de *Criptosporidium* en el medio ambiente (Bustinza, 2000).

Las áreas del terreno de crianza que se utilizan, como dormideros, se deben rotar y desinfectar para evitar la presentación de enfermedades infecciosas y parasitarias. Así mismo, para la época de parición deben reservarse las mejores "canchas", pues será necesario contar con pastizales frescos para brindar una buena alimentación a las madres en los primeros días después del parto, con el fin que produzcan una buena cantidad y calidad de leche como también para que las crías empiecen a alimentarse a partir de la tercera semana de edad (Bustinza J. 2000)

6.3.2. Temperatura y Clima

El rango de temperatura óptimo para la conservación de los ooquistes de *Cryptosporidium* en el medio ambiente es de 10º a 25° C, este amplio rango de temperatura le permite mantener la infectividad durante un año (Fayer, 1994). Sin embargo, el cambio abrupto de temperatura hace que la viabilidad del ooquiste de *Cryptosporidium* decrezca (Pokorny *et al*., 2002; Chen *et al*., 2007). Con respecto a las condiciones climatológicas se consideran que los climas que presentan brillo solar moderado y alta humedad permiten que el ooquiste se mantenga por mucho tiempo viable en el medio ambiente (Pokorny *et al*., 2002). A diferencia de climas con brillo solar intenso, directo y por muchas horas que causan la desecación del ooquiste (Fayer, 1994).

En el departamento de Huancavelica la temperatura máxima media anual es de 9.8ºC y la temperatura mínima es de -10 ºC. Así mismo, el clima es frío, seco, con brillo solar todo el año y las precipitaciones pluviales se mantienen en un promedio anual de 986 mm. (Región Huancavelica, 2007).

7. Signos clínicos de la criptosporidiosis

Entre los signos clínicos que causa la criptosporidiosis están la pérdida del apetito, las heces acuosas y la apatía (Urquhart, 2001; Castro – Hermida *et al*., 2005). Así mismo, el signo más común en la mayoría de los casos reportados es la diarrea líquida (Starkey *et al*., 2007) y cuando los signos clínicos se hacen severos éstos continúan con la deshidratación y la muerte del animal (Castro - Hermida *et al*., 2005).

8. Periodo de Incubación

Los periodos prepatente y patente de la criptosporidiosis en camélidos sudamericanos recién nacidos, determinados en un trabajo experimental, son de 3 - 4 días y de 11 - 14 días, respectivamente. Así mismo, se determinó que el pico de eliminación de ooquistes ocurre entre los días 7 - 10 post infección (López *et al*., 2001).

El periodo de prepatencia en ovejas y cabras también es de 3 - 4 días, aunque dependiendo de la edad y de la dosis infectante puede prolongarse hasta 6-7 días (Snodgrass *et al*., 1980; Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999; Fayer *et al*., 2000). El periodo prepatente en terneros se extiende por 5 días y es seguido por un periodo de liberación de ooquistes hasta el día 53 (Faubert y Litvinsky, 2002).

Existe una relación inversa entre carga parasitaria infectante y periodo pre patente pues a menor carga parasitaria infectante el periodo pre patente se amplia. Esto se debe a que la producción de ooquistes se considera dificultosa en una infección de menor carga parasitaria, porque los microgametos no son suficientes para que la fertilización se establezca (Matsui *et al.,* 2001).

9. Infecciones extraintestinales

Ocasionalmente, se han encontrado ooquistes de *C. parvum* en el estómago, vesícula biliar, hígado, páncreas, útero, tráquea, pulmones, corazón, vías urinarias y conjuntiva de terneros, cerdos y ratones. Estos hallazgos se observaron en animales infectados natural y experimentalmente (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999).

10. Lesiones macroscópicas

En la necropsia se observa en los neonatos diversos grados de caquexia y deshidratación. Así mismo, lo más resaltante en la cavidad abdominal es la atrofia de la grasa mesentérica, el infarto de los ganglios regionales y la enteritis congestiva (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999).

11. Lesiones microscópicas

Se observa disminución de la longitud de las vellosidades intestinales, principalmente en yeyuno e íleon, con fusión de vellosidades. El epitelio columnar de las vellosides es sustituido por células cuboidales inmaduras. En la parte apical de las vellosidades se observan zonas de degeneración que con frecuencia incluyen formas endógenas del parásito. Así mismo, la lámina propia esta infiltrada por poliformonucleares y mononucleares (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999).

12. Diagnóstico

El ooquiste es el estadio de importancia primaria para la detección e identificación de la criptosporidiosis. Sin embargo la mayoría de los ooquistes del género *Cryptosporidium* miden de

4-6 μm, aparecen casi esféricos, tienen estructuras internas oscuras, hay pocas o no hay características de forma y tamaño para diferenciar especies (Fayer *et al.,* 2000; Xiao y Fayer, 2008). Se recomienda que el diagnóstico del parásito se realize mediante distintos métodos complementarios. Inicialmente, la concentración por centrifugación de las deposiciones es altamente eficaz en el procesamiento de las muestras (Urquhart, 2001). Luego, se realizan extensiones que son teñidas para visualizar mejor las estructuras internas de los ooquistes y la tinción de referencia es el método de Ziehl-Neelsen modificado, que está basado en la demostración de las características de resistencia al alcohol-ácido del parásito (Henricksen y Pohlenz, 1981; Tzipori, 1983).

Los ooquistes del *Cryptosporidium* presentes en las heces se pueden detectar mediante la inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales (Urquhart, 2001; Subprograma de coproparasitología, 2003). Así mismo, existen otros métodos que dan un resultado definitivo y confiable de la identificación e infectividad del parásito. Uno de estos métodos es el ensayo con tejido celular cultivado (Slifko *et al*., 1997), reduce costos, permite un gran número de repeticiones y la obtención de datos cuantificables (Peters *et al*., 1989; Lorenzo- Lorenzo *et al*., 1993; Pokorny *et al.,* 2002).

Otros métodos de diagnóstico más sofisticados que se pueden utilizar son los de amplificación, basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con la utilización de *primers* específicos para *Cryptosporidium*, que consiguen una alta sensibilidad y especificidad en la detección de ooquistes en muestras clínicas y ambientales (Jenkins *et al.,* 1997; Urquhart, 2001 Subprograma de coproparasitología, 2003). También, se pueden utilizar técnicas complementarias, como la coloración vital y el desenquistamiento para determinar la viabilidad del ooquiste (Smith *et al*., 1989; Robertson *et al*., 1993; Belosevic *et al*., 1997).

13. Prevención, Control y Tratamiento

Prevención

La prevención de la criptosporidiosis se da respetando las densidades máximas por unidad de área para cada especie animal. Sea una unidad de cría intensiva o extensiva, el fin es disminuir la carga parasitaria en el terreno y así minimizar el riesgo de generar un brote (Starkey *et al*., 2007). Así mismo, en el caso de animales de crianza extensiva se recomienda realizar rotación de dormideros, evitar los terrenos húmedos y la crianza mixta (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999; Faubert y Litvinsky, 2000).

Control

Cuando se presenta un brote de criptosporidiosis se recomienda aplicar desinfectantes en las zonas contaminadas y separar a los animales enfermos de los sanos (Cordero del Campillo y Rojo - Vásquez, 1999). Así mismo, se debe dar terapia de sostén a los animales enfermos y aplicar coccidiostatos a la población susceptible de contraer la infección (Mehlhorn y Piekarski, 1993).

Tratamiento

En el tratamiento de la criptosporidiosis se han obtenido resultados variados, en distintas especies, con la utilización de antibióticos como: ß- cyclodextrin (1g/kg por 3 días), Paramomicina y Decoquinato (Castro - Hermida *et al.,* 2002); lasalocid y halofuginone lactato (Causape *et al*., 2002); Azithromicina (Starkey *et al*., 2007); Espiramicina (Urquhart, 2001); Lasolacida (Mehlhorn y Piekarski, 1993) entre otros. Ninguna de estas drogas ha sido probada en alpacas para contrarestar la criptosporidiosis, pero se recomienda su uso para disminuir la severidad de la enfermedad y reducir la contaminación ambiental. Además, el tratamiento de soporte en corderos ha sido exitoso en casos clínicos (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999; Starkey *et al*., 2007).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Diseño del Estudio

Estudio Caso – Control

Es un estudio epidemiológico, observacional, analítico, en el que los sujetos son seleccionados en función de que tengan (casos) o no tengan (control) una determinada enfermedad, o en general un determinado efecto. Una vez seleccionados los individuos en cada grupo, se investiga si estuvieron expuestos o no a una característica de interés y se compara la proporción de expuestos en el grupo de casos frente a la del grupo de controles. Presenta las siguientes ventajas: son útiles para estudiar eventos raros, permiten el estudio con tamaños muestrales relativamente pequeños, exigen poco tiempo en su ejecución, relativamente baratos y proporcionan estimadores de *odds ratio* o razón de riesgo (Thrusfield, 1990).

En cuanto al presente estudio se determinó que el caso se define como el par madre - cría que tienen diagnóstico positivo de *Cryptosporidium parvum* mientras que el control se define como el par madre – cría que tienen diagnóstico negativo de *Cryptosporidium parvum*.

2. Lugar del estudio

El estudio fue realizado en el Departamento de Huancavelica. Este departamento se localiza en la parte centro – sur del territorio peruano, en la región andina, entre los: 11º 50´10´´ y 14º 07´43´´ de latitud Sur; 74º 16´15´´ y 75º 48´55´´ de longitud oeste de Greenwich. El Departamento de Huancavelica límita por el norte con el departamento de Junín, por el este con el departamento de Ayacucho, por el oeste con los departamentos de Lima e Ica y por el sur con los departamentos de Ayacucho e Ica. Su territorio tiene una extensión de 22 870.96 km^2 y se divide políticamente en 7 provincias: Acobamba, Angaraes, Castrovirreina, Churcampa, Huancavelica, Huaytará y

Tayacaja. Su capital es la provincia de Huancavelica donde se desarrollan las principales actividades económicas.

El Departamento de Huancavelica presenta una geografía bastante accidentada, esto determina el desarrollo de las actividades económicas según las altitudes de su territorio. Entre estas actividades están la agricultura, la ganadería y la minería. La minería es la principal actividad económica que se desarrolla en Huancavelica, mientras que la ganadería se realiza por tradición y se lleva a cabo en la zona de puna. La puna de Huancavelica posee 411 000 Has de pastos naturales, donde se crían ovinos, vacunos y camélidos sudamericanos. Así mismo, en las zonas periféricas a las ciudades se crían equinos, porcinos y caprinos. Para la actividad agrícola el departamento cuenta 193 000 Has de las cuales sólo están cultivadas 137 000 y se lleva a cabo principalmente en las planicies del norte del departamento.

El clima en el Departamento de Huancavelica es variado. En la vertiente occidental, el clima varía de árido a árido- subhúmedo y las precipitaciones fluctúan entre los 70 y 1000 mm mientras que en el sector interandino, varía de húmedo semifrío a nival, con precipitaciones más intensas y de mayor volumen que las que ocurren en la vertiente occidental, con variaciones de 500, 1000 y 2000 mm (Instituto Geográfico Nacional, 2003).

El presente estudio se realizó entre los meses de enero y febrero comprendidos en el periodo que es conocido como la época de lluvias del año 2007 en las comunidades de Tucumachay, Piquimachay, San José de Astobamba, Saccsamarca, Cusibamba, Yauricocha, Pucapampa, Chocclococha y sectores. Estas comunidades se encuentran dentro de tres provincias: Huancavelica, Castrovirreina y Huaytará.

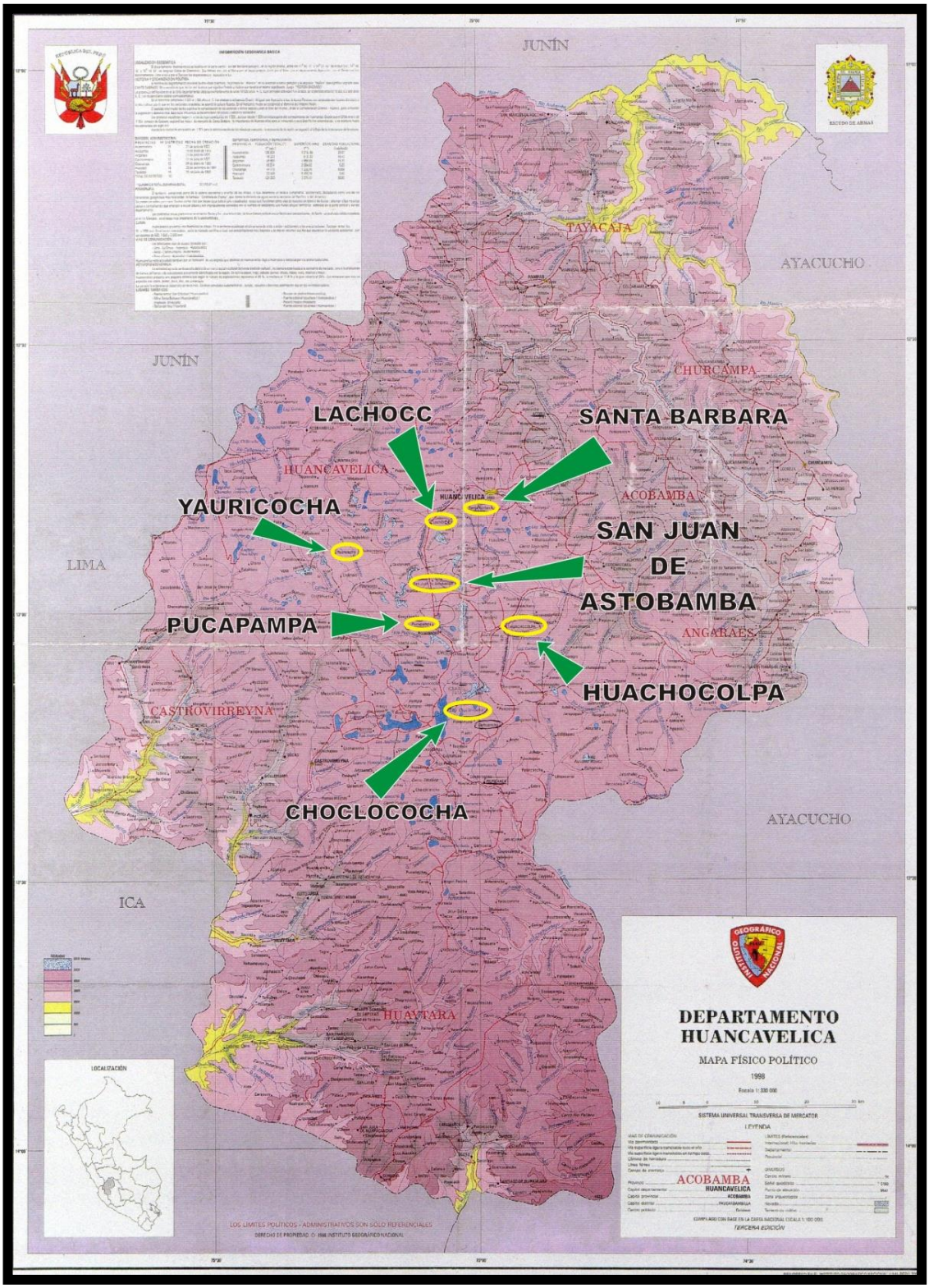


Figura 2. Mapa político del departamento de Huancavelica

3. Los Animales

Para este estudio la especie que se muestreó fueron las alpacas (*Lama pacos)*. Se realizó el muestreo de heces a 620 pares de alpacas (madre- cría). El rango de la edad de la cría fue de 1 a 30 días de edad y la edad de la madre no tuvo restricciones. Así mismo, se recabaron datos sobre el sexo de la cría, edad, raza, consistencia de las heces, las condiciones ambientales, inclinación del piso de la cancha y el sistema de saneamiento de los pastores.



Figura 3. Punta de alpacas y crías.

4. Tamaño Muestral.- Se aplicó la fórmula para el cálculo de tamaño muestral para un estudio de caso-control:

$$m = \frac{\left(Z(a)/2 + Z(b).\sqrt{P.(1-P)} \right)^2}{(P - 1/2)^2} \qquad M = \frac{m}{Pe}$$

Para el caso:

$$P = \frac{OR}{1+OR} \qquad p1 = \frac{p0.OR}{1+p0.(OR-1)} \qquad Pe = p0.(1-p1) + p1.(1-p0)$$

Donde:

M = número de pares requeridos para detectar pares discordantes en m

m = número mínimo de pares discordantes requeridos

Z (a) = nivel de confianza especificado para la prueba (95%)

Z (b) = potencia especificada para la prueba (80%)

p0 = proporción esperada de exposición entre los controles (14.02%) (Foroca *et al.*, 2001)

p1 = proporción calculada de exposición entre los casos

OR = Odds Ratio estimado de suficiente importancia (2.38) (López, 1997)

Al reemplazar los valores obtenidos en trabajos anteriores en la fórmula propuesta para estudios de tipo caso - control se obtuvo que el número mínimo de muestras por recolectar fuera de 130 pares madre - cría como mínimo para la presente investigación.

5. Recolección de muestras.- las muestras fecales se recolectaron directamente del recto, aproximadamente 3 gramos por animal, en una bolsa de polietileno de primer uso, luego fueron rotuladas con los siguientes datos: el sexo, la edad del animal, la consistencia de las heces y la fecha de recolección.



Figura 4. Toma de muestra de heces de una cría de alpaca.

6. Procesamiento de las muestras.- Este proceso se realizó en el Laboratorio de Prácticas de Parasitología Veterinaria de la Universidad Nacional de Huancavelica. Primero se organizaron las muestras correlativamente, luego se realizó la extensión de las heces con un hisopo sobre dos portaobjetos identificados y se les dejó secar al medioambiente. Como siguiente paso las láminas fueron colocadas en un vaso Kopling con metanol absoluto para ser fijadas por espacio de 5 minutos, después fueron embaladas y remitidas al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM, donde se tiñeron empleando la técnica Ziehl-Neelsen Modificada y finalmente se procedió a su observación al microscopio a 40x para emitir el diagnóstico (Rojas, 1990).



Figura 5. Organización de las muestras

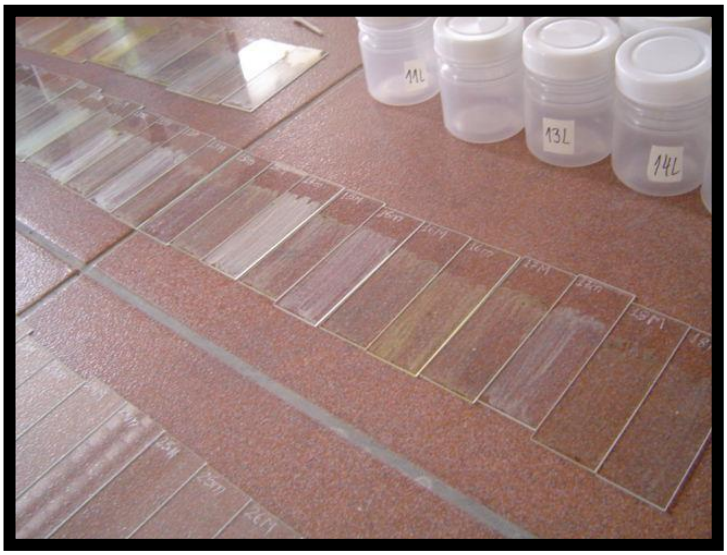


Figura 6. Frotices en las láminas



Figura 7. Fijando las láminas con metanol en el vaso koplin



Figura 8. Secado de las láminas después del metanol



Figura 9. Embalaje de las láminas



Figura 10. Muestras conservadas en dicromato de potasio

7. Diagnóstico de láminas positivas a *Cryptosporidium parvum*.- la observación microscópica de todas las láminas se realizó a 400X. Para confirmar las muestras positivas estas se observaron a 1000X. La medida del ooquiste se realizó con un ocular micrométrico. Mediante la técnica de Ziehl-Neelsen Modificada, los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* se observaron como organismos esféricos u ovalados de 4.2-5.6 µm (Xiao *et al*, 2004a), de color rojo fucsia con algunas granulaciones oscuras en su interior, que contrastan con el fondo teñido de verde (Henriksen y Pohlenz, 1981; Casemore *et al*, 1985).

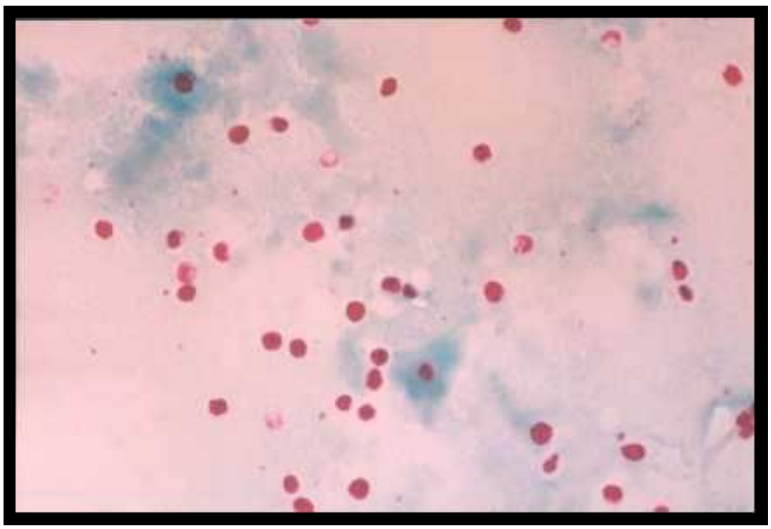


Figura 11. Ooquistes coloreados mediante la técnica de Ziehl-Neelsen Modificada

8. ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados de la lectura de las láminas y la información complementaria obtenida en el campo fueron ordenados en una hoja de cálculo del programa Microsoft Excel™ Corp. como datos pareados y luego fueron ingresados a la base de datos del programa STATA® 10.0 para su posterior análisis. Este paquete estadístico permitió realizar el cálculo de la chance (*odds ratio*) para la presentación de diagnóstico positivo a *C. parvum* en alpacas neonatas y su asociación con el diagnóstico positivo a *C. parvum* en la madre empleando el modelo de regresión logística. Para que el resultado de esta prueba fuese más confiable se introdujeron 7 variables más que fueron tomadas en cuenta como parte del modelo de estudio.

IV. RESULTADOS

Para el presente trabajo se muestrearon a 620 pares de alpacas madre-cría. De esta muestra se obtuvieron 13 casos, es decir 13 pares madre- cría con diagnóstico positivo a *C. parvum*, esto representó el 2.1% del total de la muestra. Los trece casos, pares madre-cría alpaca positivos para diagnóstico a *C. parvum,* no pertenecen a la misma punta de crianza. Este estudio se extendió parcialmente por tres de las siete provincias del departamento de Huancavelica. Se obtuvieron 8 casos en la provincia de Castrovirreina, distrito de Santa Ana, comunidad de Sallccasanta Ana en los sectores de Cerro Palomo, Comunidad, Granja y Choclococha entre las puntas denominadas: L, M, N y P, mientras que en la provincia de Huaytará, distrito Choclococha, comunidad Choclococha en el sector Centro en la zona denominada Trapiche se diagnosticó un caso. La zona del estudio está conformada por planicies situadas alrededor de la laguna Choclococha, es una zona bastante húmeda y existen pequeños humedales y riachuelos por doquier. El espacio de pastoreo es reducido, por lo tanto hay sobrepastoreo de las canchas, baja rotación y un terreno de tipo arcilloso que no drena fácilmente el agua.

Otros 3 casos fueron diagnosticados en la provincia de Huancavelica, distrito de Huancavelica, comunidad de Sacsamarca, en los sectores Casacancha y Sacsamarca cada uno con 1 y 2 casos respectivamente. En esta zona la crianza es mixta, principalmente con ovinos y algunos caballos. Un caso se diagnosticó en la punta denominada J ubicada en la provincia de Huancavelica, distrito de Huancavelica, comunidad Lachocc en el sector Tucumachay, también de crianza mixta.

Del total de las muestras el 20,3% fueron diagnóstico madre positivo para *C. parvum* pero para la cría fue diagnóstico negativo para *C. parvum,* mientras que el 3.2% de los 620 pares fueron diagnóstico madre negativo para *C. parvum* pero para la cría fue diagnóstico positivo para

C. parvum (Cuadro 3). De estos 620 pares el 74.4% pares fueron diagnóstico madre-cría negativo para *C. parvum.*

CUADRO 3. COMPARACIÓN DEL RIESGO DE PRESENTACIÓN DE LA ENFERMEDAD EN EL GRUPO DE EXPUESTOS VS. EL GRUPO DE LOS NO EXPUESTOS EN EL ESTUDIO REALIZADO EN PUNTAS DE ALPACAS EN EL DEPARTAMENTO DE HUANCAVELICA ENTRE LOS MESES DE ENERO Y FEBRERO DEL AÑO 2007

	DX CRÍA		
DX MADRE	**NEGATIVO**	**POSITIVO**	**TOTAL**
POSITIVO	**126**	**13**	**139**
NEGATIVO	**461**	**20**	**481**
TOTAL	**587**	**33**	**620**

Las dos principales variables en estudio presentaron un fuerte grado de asociación Pr = 0.016 (Cuadro 4). Luego al realizar la prueba de regresión logística a las dos principales variables se encontró asociación entre el diagnóstico para *C. parvum* de la cría alpaca con el diagnóstico para *C. parvum* de la madre alpaca (P > | Z | = 0.047) este valor indicó que la asociación no es fuerte como inicialmente se demostró cuando solo se confronta a la variable dependiente contra una sola variable independiente (Cuadro 5).

Cuadro 4. CHANCE PARA QUE EL EVENTO SUCEDA ENTRE EL DIAGNÓSTICO PARA *C. parvum* DE LAS CRÍAS DE ALPACA Y EL DIAGNÓSTICO DE *C. parvum* DE LAS MADRES ALPACAS MEDIANTE EL MODELO REGRESIÓN LOGÍSTICA EN PUNTAS DE ALPACAS MUESTREADAS EN EL DEPARTAMENTO DE HUANCAVELICA ENTRE LOS MESES DE ENERO Y FEBRERO DEL AÑO 2007.

DIAGNÓSTICO DE LA CRÍA	ODDS RATIO	P>|Z|	[95% INTERVALO DE CONFIANZA]
DIAGNÓSTICO DE LA MADRE	2.378175	0.019	1.151217 - 4.912813

Mediante la prueba de regresión logística múltiple se comprobó la asociación entre el diagnóstico de la variable dependiente cría alpaca y la variable independiente rotación de dormideros (P > | Z | = 0.034); además el valor Z de esta asociación es negativo (Z = -2.11) por lo cual se considera a esta variable independiente como un factor de protección. La interpretación es que la probabilidad que el diagnóstico de las crías de alpaca sea negativo para *C. parvum* será mayor si se realiza rotación de dormideros (cuadro 5).

Las otras 6 variables independientes confrontadas con la variable dependiente no presentan asociación. Pero el valor de Z de las variables independientes: pendiente, crianza mixta, provincia y punta es negativo por lo cual se consideran factores de protección (Cuadro 5).

Cuadro 5. DIAGNÓSTICO POSITIVO A *C. parvum* DE LA CRÍA AJUSTADO A OTRAS POSIBLES VARIABLES CONFUNDENTES EN PUNTAS DE ALPACAS DISTRIBUIDAS EN EL DEPARTAMENTO DE HUANCAVELICA ENTRE LOS MESES DE ENERO Y FEBRERO DEL AÑO 2007.

DIAGNÓSTICO DE LA CRÍA	ODDS RATIO	P>|Z|	[95% INTERVALO DE CONFIANZA]
DIAGNÓSTICO DE LA MADRE	2.164053	**0.047**	1.010339 - 4.635204
SEXO DE LA CRÍA	2.091196	0.056	.9807334 - 4.459013
PENDIENTE	.3755579	0.094	.1191814 - 1.183437
CRIANZA MIXTA	.9073976	0.841	.3517631 - 2.340696
ROTACIÓN DE CANCHAS	.1887069	**0.034**	.0402342 - .8850757
PROVINCIA	.4145879	0.128	.1333951 - 1.288527
PUNTA	.9143895	0.173	.8038958 - 1.04007
LOCALIDAD	1.23473	0.136	.9359092 - 1.628961

V. DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio epidemiológico de diseño caso -control fue determinar si la presencia de *Cryptosporidium parvum* en la madre alpaca es un factor de riesgo para que la cría neonata presente *Cryptosporidium parvum*. Éste se realizó en múltiples comunidades del departamento de Huancavelica. Se colectaron 620 pares de muestras de heces de alpacas madre-cría entre los meses de enero y febrero del año 2007.

Del total de la muestra se diagnosticaron 13 pares madre- cría con diagnóstico positivo a *C. parvum*, lo que representó el 2.1% del total de la muestra. Si bien este estudio se extendió parcialmente por tres de las siete provincias del departamento de Huancavelica donde las características del terreno son propicias para que el parásito se mantenga en el ambiente no se pudieron obtener al diagnóstico muchos casos.

Por otro lado las características más resaltantes del territiorio donde se cría esta especie son: planicies que están alrededor de la laguna Choclococha, zona bastante húmeda donde existen pequeños humedales y riachuelos. Así mismo otras carácterísticas como: espacios de pastoreo reducidos, sobrepastoreo de las canchas, baja rotación y un terreno de tipo arcilloso que no drena el agua fácilmente. Además en una segunda zona la crianza es mixta, principalmente con ovinos y algunos caballos. Por tanto la humedad del suelo, la alta densidad y la crianza mixta son factores de riesgo para la presentación de la criptosporidiosis (Cordero del Campillo y Rojo – Vásquez, 1999).

Por otro lado, el 20,3% de los 620 pares de muestras fueron diagnóstico madre positivo para *C. parvum* pero para la cría fue diagnóstico negativo para *C. parvum.* Así mismo se tuvo en cuenta que existieron factores que afectaron a la liberación de *C. parvum* de la variable independiente al

inicio del evento. Entre ellos si la madre alpaca fue portadora o no, el estado de preparturienta la predispuso a la inmunosupresión (Faubert y Litvinsky, 2002) y como consecuencia a la reactivación del ciclo endógeno del parásito *C. parvum* entre otros patógenos y la edad de la madre alpaca. Pues, se considera que los rebaños que tienen una composición etárea más joven son los más suceptibles en producir un brote de criptosporidiosis. En este caso no se tomó en cuenta para el análisis la edad de las madres por no tener un dato exacto. Pero, si se tomaron notas de las edades aproximadas como resultado de la lectura de la dentición por parte de las personas que muestreamos (cuaderno de campo).

De los 620 pares de muestras, el 3.2% fueron diagnóstico madre negativo para *C. parvum* pero para la cría fue diagnóstico positivo para *C. parvum.* La observación de un gran número de ooquistes de *C. parvum* por gramo de heces diarreicas de terneros inmunológicamente inmaduros y la detección de bajas cantidades en animales inmunológicamente maduros ha permitido la suposición de que los adultos son refractarios a la infección (Faubert y Litvinsky, 2002). La alta concentración de animales jóvenes como: terneros y corderos, puede permitir altos niveles de criptosporidiosis endémica y el potencial riesgo de alta contaminación del medio ambiente favorecen a la transmisión (Xiao *et al*., 2001). Probablemente, las crías que tienen diagnóstico positivo fueron víctimas de la contaminación indirecta con los ooquistes de *C. parvum* excretados por animales adultos que no son sus madres. Así mismo, existe la probabilidad de la transmisión por vectores mecánicos como las moscas, escarabajos y otros insectos (Greenberg, 1973; Majewska, 1986; Graczyck *et al*., 1999; Meerburg *et al*., 2007; Xiao y Fayer, 2008).

Se obtuvieron 461 (74.4%) pares que fueron diagnóstico madre-cría negativo para *C. parvum.* En el caso de las madres alpacas la detección de cantidades pequeñas de ooquistes/g de heces no es sólo debido al sistema inmune desarrollado, también hay que considerar la cantidad de heces colectadas, la sensibilidad del método usado para la detección de ooquistes en las heces y la

experiencia de los lectores de las láminas; estas consideraciones pueden ayudar a incrementar la sensibilidad del estudio (Casemore *et al*., 1985; Faubert y Litvinsky, 2002).

Los resultados se analizaron mediante el modelo de regresión logístca, este determinó que la chance para que la presentación de *C. parvum* en la cría alpaca debido a la presentación de *C. parvum* en la madre alpaca se produzca fue 2.4 veces mayor que lo contrario ocurra. La asociación fue fuerte entre las dos variables principales en estudio ($P > |Z| = 0.019$). Por lo tanto, la presentación de *C. parvum* en la cría de alpaca dependió de la presentación de C. *parvum* en la madre alpaca. Este resultado corroboró estudios previamente realizados en otras especies (Faubert. y Litvinsky, 2002; Castro - Hermida *et al.*, 2005). Sin embargo, el nivel de confianza de este resultado fue malo (Pseudo $R2 = 0.000$) pues solo se analizaron inicalmente las dos principales variables.

En un segundo análisis realizado mediante el modelo de regresión logística se incluyeron otras variables independientes y se confirmó la asociación entre el diagnóstico para *C. parvum* de la cría alpaca con el diagnóstico para *C. parvum* de la madre alpaca ($P > |Z| = 0.047$). En este caso el valor de P indicó que la asociación no fue fuerte como inicialmente se demostró cuando solo se confrontó a la variable dependiente contra una sola variable independiente.

Así mismo, se encontró asociación entre el diagnóstico de la variable dependiente presencia de *C. parvum* en la cría alpaca y la variable independiente rotación de dormideros ($P > |Z| = 0.034$); además el valor Z de esta asociación fue negativo ($Z = -2.11$) por lo cual se consideró a esta variable independiente como un factor de protección. La interpretación fue que la probabilidad que el diagnóstico de las crías de alpaca sea negativo para *C. parvum* será mayor si se realiza rotación de dormideros.

Las otras 6 variables independientes fueron confrontadas con la variable dependiente y no presentaron asociación. Sin embargo el valor de Z de cuatro de las variables independientes:

pendiente, crianza mixta, provincia y punta fueron negativos por lo cual se consideraron como factores de protección. El haber confrontado un mayor número de variables permitió mejorar el nivel de confianza de la regresión logística (PSEUDO R2 = 0.0618) en comparación al nivel de confianza (Pseudo R2 = 0.000) de la regresión realizada inicialmente sólo con dos variables.

El manejo en general estuvo significativamente asociado al riesgo de la infección de *C. parvum* en las crías neonatas de alpacas en las distintas comunidades de Huancavelica pues la crianza de esta especie se lleva de forma precaria, sin organización. La alta densidad de las canchas, la existencia de distintos grupos etáreos dentro del mismo corral y la reutilización de las canchas de descanso nocturno para los partos fueron manejos considerados de alto riesgo para la presentación de la enfermedad. Al no descansar esta área el riesgo es mayor pues existiendo un animal que sea portador de *C. parvum* podría contaminar el área en muy poco tiempo. El 60% de las alpacas se crían en unidades agropecuarias de una extensión menor de 50 hectareas y el 32% se ubican en unidades de crianza menores de 3 hectáreas (FAO, 2005). Esto implica una alta carga animal por hectárea cuyas consecuencias son: el sobre pastoreo, contaminación de pastos, deterioro de las praderas, escasez de alimento, animales subalimentados por lo tanto susceptibles a problemas sanitarios y con pobres índices productivos y reproductivos (FAO, 2005). En contraposición a la densidad máxima recomendada por veterinarios y criadores de ganado alpacuno en Estados Unidos que es de 5a 10 adultos/ acre con el fin de disminuir la carga parasitaria en el terreno y así disminuir el riesgo de generar un brote de criptosporidiosis (Starkey *et al*., 2007).

Las madres preñadas preparturientas inician la inmunosupresión que las hace susceptibles a reiniciar el ciclo endógeno del parásito en estudio. La época de lluvia que coincide con la época de partos con lo cual se mantiene húmedo el suelo y mejora las condiciones para que los ooquistes se mantengan viables en el terreno. La falta de facilidades como el empleo de la malla

ganadera para correr los corrales a lugares secos, la ubicación del las canchas en lugares planos o pendientes, el tipo de suelo y la crianza mixta (Pedroza- Diaz *et al*., 2000; Xiao *et al*., 2001) fueron variables asociadas para acercarnos a determinar la magnitud de la relación principal.

VI. CONCLUSIONES

1) La presencia de *Cryptosporidium parvum* en la madre alpaca fue un factor de riesgo para que la cría neonata presente *Cryptosporidium parvum.* Así mismo la chance para que la presentación de *Cryptosporidium parvum* en la cría alpaca debido a la presentación de *Cryptosporidium parvum* en la madre alpaca se produzca es 2.4 veces mayor que en las crías con madre negativa.

2) Las variables independientes: pendiente, crianza mixta, provincia y punta confrontadas con la variable dependiente no presentaron asociación para este estudio pero se consideran factores de protección.

VII. RECOMENDACIONES

1. Confirmar mediante técnicas moleculares la especie de *Cryptosporidium* que los animales positivos muestran.

2. Realizar investigaciones en el medio ambiente con el fin de observar la presencia y viabilidad del parásito.

3. Realizar un estudio en el cual se determine la probabilidad de que los fómites: escarabajos coprófagos contribuyan al contagio de especies de *Cryptosporidium*.

VIII. LITERATURA CITADA

1. Acha P.; B. Szyfres. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. Vol. III. Parasitosis. OPS Publicación Científica Técnica No. 580. p. 23-26.
2. Adams R., FB Garry. 1992. Gram negative bacterial infection in neonatal New World camelids: six cases (1985 – 1991). J Am Vet Med Assoc 1992; 201: 1419 – 1424.
3. Akiyoshi, DE; J. Dilo; C. Pearson; S. Chapman; J. Turnwine; S. Tzipori. 2003. Characterisation of *Cryptosporidium meleagridis* of human origin passaged through different host. Infect. Immun. 71, 1828 – 1832.
4. Arcay L.; E. Baez de Borges; E. Bruzual. 1995. Cryptosporidiosis en la escala de vertebrados. I. Infecciones Experimentales. II. Estudio Histopatologico, Parasitol. al día, 19,20, 1995.
5. Barker IK, PL Carbonnel. 1974. *Cryptosporidium agni* sp. From lambs and *Cryptosporidium bovis* sp. n. from a calf with observations on the oocyst. Zeitschrift fur Parasitenkunde 44: 289- 298.
6. Barriga O. 2002. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en la América Latina. Ed. Germinal. Chile. p.187-188.
7. Belosevic, M., R.A. Guy, R. Taghi- Kilani, N.F. Neumann, L. L. Gyurék, L.R. J. Liyanage, PJ Millard, and GR Finch. 1997. Nucleic acid stains as indicators of *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. International Journal of Parasitology 27: 787 – 798.
8. Bustinza J. 2000. Enfermedades de alpacas. 2da ed. Perú: Centro de impresiones EMAVI´S E.I.R.L. 353 p.
9. Byambaa B.; M. Bakheit; J. Plutzer; N. Suzuki; I. Igarashi; J. Ongerth; P. Karatis. 2007. Prevalence and genotyping of *Cryptosporidium* species from farm animals in Mongolia. Parasitol. Res. DOI 10.1007/S00436-007-0847-6. 2007.
10. Caman V. 1996. Prevalencia de Criptosoridiosis en alpacas neonatales en Cuzco. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 38p.
11. Casemore D.P.; M. Armstrong, R.L. Sands. 1985. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. J Clin. Pathol. Dec; 38(12):1337-41.

12. Castro - Hermida J.A.; Gonzáles- Losada, Freire- Santos F.; González- Warleta M.; Mezo- Menéndez, and Ares- Mazás. 2002. Efficacy of ß- cyclodextrin against experimental cryptosporidiosis in neonatal lambs. J. Parasitol., 88 (1), 2002, pp. 185-187.
13. Castro - Hermida J.A.; A. Delafosse; I. Pors; E. Ares – Mazás; C. Chartier. 2005. *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium parvum* infections in adult gotas and their implications for neonatal kids. Veterinary Record (2005) 157, 623 – 627.
14. Causape, AC; J. Quilez; C. Sanchez – Acedo; E. Del Cacho and F. Lopez – Bernad. 2002. Prevalence and analysis of potencial risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeastern Spain). Veterinary Parasitology 104, 287 – 298.
15. Cebra CK, Mattson DE, Baker RJ, et al. 2003. Potential pathogens in feces from unweaned llamas and alpacas with diarrhea. J Am Vet Med Assoc 2003; 223: 1806 – 1808.
16. Cebra CK, BA Valentine, JW Schlipf. 2007. *Eimeria macusaniensis* infection in 15 llamas and 34 alpacas. J Am Vet Med Assoc 2007; 230: 94- 100.
17. Cesbron-Delauw M.F.; C. Gendrin; L. Travier; P. Ruffiot; C. Mercier. 2008. Apicomplexa in mammalian cells: trafficking to the parasitophorous vacuole. Taffic 2008 Feb 24.
18. Chalmers RM; A Grinberg. 2005. Significance of *Cryptosporidium parvum* in horses. The veterinary record, May 21, 2005.
19. Chen X. M.; J. S. Keithly; C.V. Paya; Larusso N.F. 2002. Cryptosporidiosis. *N. Engl J. Med.* 346 (2002), pp 1723 – 1731.
20. Chen F; K Huang; Q Shunyi; Z Yuxin and P Cuiling. 2007. Comparision of viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts stored in potassium dichromate solution and chlorinated tap water. Veterinary Parasitology 150 (2007) 13 – 17.
21. Cordero del Campillo M.; F. Rojo-Vásquez. 1999. Parasitología veterinaria. Editorial McGraw-Hill Interamericana. España. p. 213-218.
22. Current W. L.; S.J. Upton; T.B. Haynes. 1986. The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting chickens. *J. Protozool*., 33, 289, 1986.
23. Darabus G. and R. Olariu. 2003. The homologous and interspecies transmission of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium meleagridis*. Pol. J. Vet. Sci. 6, 225 – 228.

24. De Graaf, D. C., E. Vanopdenbosch, L.M. Ortega – Mora, H. Abassi and J.E. Peeters. 1999. A review of the importance of Cryptosporidiosis in farm animals. International Journal for Parasitology 29, 1269 – 1287.
25. Dillingham R.A.; A. A. Lima; R. L. Guerrant. 2002. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes Infect.* 4 (2002), p. 1059-1066.
26. FAO (Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación- Sr. Saúl Fernández-Baca (autor del documento). 2005. Situación actual de los camélidos sudamericanos en el Perú. Proyecto de cooperación técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos sudamericanos en la región andina. Junio del 2005.
27. Faubert G.M. and Litvinsky Y. 2002. Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. J. Parasitol., 86 (3), 2002, p. 495- 500.
28. Fayer R.; C.A. Speer; J.P. Dubey. 1990. General Biology of *Cryptosporidium*, Cryptosporidiosis of man and Animals. CRC Press, Boca Raton, FL.
29. Fayer R. 1994. Effect of high temperature on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water. Appl Environ Microbiol 1994; 60: 2732 – 5.
30. Fayer R. 1997. *Cryptosporidium* and Criptosporidiosis. 1ra ed. Ed. CRC Press LLC. United States of America.
31. Fayer R.; U. Morgan; S.J. Upton. 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. International Journal of Parasitology 30 (2000) 1305 – 1322.
32. Fayer R.; M. Santín; L. Xiao. 2005. *Cryptosporidium bovis* N. sp (Apicomplexa: *Cryptosporidiidae*) in cattle (*Bos taurus*). J. Parasitol, 91 (3), 2005, p. 624 – 629.
33. Fayer R; M Santin; JM Trout and E Greiner. 2006. Prevalence of species and genotypes of *Cryptosporidium* found in 1 – 2 – year old dairy cattle in the eastern United States. Vet. Parasitol. 135, 105 – 112.
34. Feltus DC; CW Gidding; ML Khaitsa and JM McEvoy. 2008. High prevalence of *Cryptosporidium bovis* and the deer – like genotype in calves compared to mature cows in beef cow – calf operations. Veterinary Parasitology 151 (2008) 191 – 195.
35. Fernández M. 1995. Prevalencia de criptosporidiosis en alpacas neonatales en Cuzco- La Raya. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 39p.
36. Foroca, D.; V. Zanabria; J. Málaga; F. Vilca. 2001. Cryptosporidiosis en alpacas crías del centro de investigación y producción La Raya- UNA Puno. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Univ. Nacional del Altiplano. Oficina Universitaria de Investigación. Investigación en Camélidos sudamericanos 1963 - 2003.

37. Gibson SV and JE Wagner. 1986. Cryptosporidiosis in guinea pigs, a retrospective study. J. Am. Vet. Med. Assoc. 189, 1033 – 1034.
38. Graczyk TK; R. Fayer; MR Cranfield. 1996. *Cryptosporidium parvum* is not transmissible to fish, amphibians, or reptiles. J. Parasitol. 82, 748 – 751.
39. Graczyk, T.K.; M.R. Cranfield; R. Fayer and H. Bixler. 1999. House flies (*Musca domestica*) as transport hosts of *Cryptosporidium parvum.* American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 61: 500 – 504.
40. Greenberg, B. 1973. Flies and diseases biology and disease transmission. Princeton University Press. Princeton, N.J.
41. Harp JA; Fayer R.; Pesch BA; Jackson GJ. 1996. Effect of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water and milk. Appl Environ Microbiol 1996; 62: 2866 – 8.
42. Heather P; J. Thompson; S James; G Dooley; J Kenny; M McCoy; CJ Lowery; JE Moore and L Xiao. 2007. Genotypes and subtypes of *Cryptosporidium spp.* In neonatal calves in Northern Ireland. Parasitol. Res. (2007) 100: 619 – 624.
43. Henricksen S.A.; J.F.L. Pohlenz. 1981. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. Acta Vet. Scand. 22:594-96.
44. Hoover, D.M.; F.J. Hoerr; W. W. Carlton; E. J. Hinsman; H. W. Ferguson. 1981. Enteric cryptosporidiosis in a naso tang, *Naso Lituratus* Bloch and Schneider. *J. Fish Dis*., 4, 25, 1981.
45. Instituto Geográfico Nacional, 2003. Mapa Físico Político del departamento de Huancavelica año 1998. Tercera edición. Compilado con base en la carta nacional.
46. Iseki, M. 1979. *Cryptosporidium felis* sp. n. (protozoa: Eimeriorina) from domestic cat. *Jpn. J. Parasitol*., 29, 285, 1979.
47. Jenkins M, J Trout, and R. Fayer. 1997. A semi – quantitative method for measuring *Cryptosporidium parvum* infection using polymerase chain reaction. Journal of Microbiological Methods 28: 99 – 107.
48. Kiang, KM; JM Scheftel; FT Leano; CM Taylor; PA Belle – Isle, E Cebelinski; R Danila; E Smith. 2006. Recurrent outbreaks of cryptosporidiosis associated with calves among students at an educational farm programme, Minnesota, 2003. Epidemiol. Infect. 134, 878 – 886.
49. Kuczynska E and DR Shelton. 1999. Method for detection and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in feces, manures, and soils. Applied and Environmental Microbiology 65: 2820 – 2826.

50. Kvac M.; B. Sak; D. Kvetonova; O. Ditrich; L. Hofmannova; D. Modry; J. Vitovec, L. Xiao. 2008. Infectivity, pathogenicity, and genetic characteristics of mammalian gastric *Cryptosporidium spp.* in domestic ruminants. Vet. Parasitol. 2008 Feb 3.
51. Learmonth, J.J., G. Ionas, K.A. Ebbett, E.S. Kwan, 2004. Genetic characterization and transmission cycles of *Cryptosporidium* species isolated from humans in New Zeland. Water Sci. Technol 47, 21 – 26.
52. Leav B.; M. Mackay; H. Ward. 2003. *Cryptosporidium* Species: New insights and Old Challenges. J. Food Safety. CID 2003:36 (1 April).903-908.
53. Leguía G.; E. Casas. 1999. Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. Editorial de Mar EIRL. Perú. p. 35-38.
54. Levine, N. D. 1980. Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. *J. Parasitol*., 66, 830, 1980.
55. López-Urbina, M.T.; A.E. González; L.M. Ortega- Mora; M. Fernández; M.A. Romero; C. Gavidia; F.A. Rojo-Vázquez. 1995. Prevalencia de la criptosporidiosis y de la diarrea neonatal en alpacas. IV Cong. Ibér. Parasitol. Santiago de Compostela. p. 108-109.
56. López-Urbina, M.T 1997. Estudio epidemiológico de la infección por *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatas en Perú. Tesis Doctoral Univ. De León. España.
57. López-Urbina, M.T.; A.E. González; F.A. Rojo-Vázquez. 2001. Infección experimental de alpacas neonatas con *Cryptosporidium parvum*. Rev. Acad. Perú Cienc. Vet.; 2(1):11-17.
58. Lorenzo-Lorenzo, MJ; ME Ares- Masáz; I. Villacorta. 1993. Detection of oocysts and Ig G antibodies to Cryptosporidium parvum in asymptomatic adult cattle. Veterinary Parasitology 47: 9-15.
59. Mackenzie, W.R., N. J. Hoxie, M.E. Proctor, M. S. Gradus, K.A. Blair, D.E. Peterson, J.J. Kazmierczak, D.G. Addiss, K.R. Fox, J.B. Rose, and J.P. Davis. 1994. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. New England Journal of Medicine 331: 161 – 167.
60. Majewska, A.C. 1986. Verification of the theory of the role of synanthropic insects in the transmission of intestinal protozoa. Przegl. Epidemiol. 40: 300 – 303.
61. Majewska, A.C.; A. Werner; P. Sulima and T. Luty. 2000. Prevalence of *Cryptosporidium* in sheep and goats bred on five farms in west – central region of Poland. Veterinary Parasitology 89, 269 – 275.

62. Matsui T.; Fujino T.; Kajima J.; Tsuji M. 2001. Infectivity and oocyst excretion patterns of *Cryptosporidium muris* in sligthtly infected mice. J. Vet. Med. Sci. 63 (3): 319- 320, 2001.
63. Meerburg BG; HM Vermeer and A Kijlstra. 2007. Controling risks of transmission by flies on organic pig farms. Outlook on Agriculture Vol 36, No 3.
64. Mehlhorn H.; G. Piekarski. 1993. Fundamentos de parasitología (parásitos del hombre y de los animales domésticos). Editorial Acribia S.A. España. p. 59-64.
65. Mehlhorn H.; D. Düwel; W. Raether. 1993. Manual de parasitología veterinaria.: Editorial Grass-Iatros. p.161-162.
66. Mercado EC, SM Rodríguez, AM Elizondo, et al. Isolation of shiga toxin- producing *Escherichia coli* from a South American camelid (*Lama guanicoe*) with diarrhea. J Clin Microbiol 2004; 42: 4809- 4811.
67. Meutin, D.J., HJ Van Kruiningen, and DH Kein, 1974. Cryptosporidiosis in a calf. Journal of the American Veterinary Medical Association 165: 914- 917.
68. Molina D. 2007. Evolución de *Cryptosporidium parvum* como factor de riesgo en la presentación de diarrea neonatal en alpacas en el departamento de Puno. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 70p.
69. Morales M. 1996. Prevalencia de criptosporidiosis en alpacas neonatas en el departamento de Puno. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 40p.
70. Morin M., S. Lariviére and R. Lallier. 1976. Pathological and microbiological observations made on spontaneous cases of acute neonatal calf diarrhea. Canadian Journal of Comparative Medicine 40: 228- 240.
71. Morgan UM, KD Sargent, P Deplazes, et al. 1998. Molecular characterization of *Cryptosporidium* from various hosts. Parasitology 1998; 117: 31 – 37.
72. Mc Lauchlin, J., C. Amar, S. Pedraza – Diaz, G.L. Nichols. 2000. Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium spp*. in the UK: results of genotyping *Cryptosporium spp.* in 1705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. J. Clin. Microbiol. 38, 3984 – 3990.
73. Nakai Y; K Hikosaka; M Sato; T Sasaki; Y Aneta and N Okazaki. 2004. Detection of *Cryptosporidium muris* type oocysts from Beef Cattle in a Farm and from domestic and wild animals in and around the farm. J. Vet. Med. Sci. 66 (8): 998 – 984, 2004.

74. Ng J.; I. Pavlasek; U. Ryan. 2006. Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from avian hosts. Appl. Environ. Microbiol. 2006 Dec; 72 (12): 7548:53. Epub 2006 Oct. 6.
75. Nime, FA; JD Burek; DL Page; MA Holscher and JH Yardley. 1976. Acute enterocolitis in human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*, Gastroenterology, 70, 592, 1976.
76. Nouri, M and R. Touroghi. 1991. Asymptomatic cryptosporidiosis in cattle and humans in Iran. Veterinary Record 128: 358- 359.
77. O´Handley RM, C. Cockwill, TA Mc Allister, M. Jelinski, D. W. Mork, and ME Olson. 1999. Duration of naturally acquired giardiosis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. Journal of the American Veterinary Medical Association 214: 391- 396.
78. Okhuysen PC, Chappell CL, Crabb JH, Sterling CR, Dupont HL. 1990. Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults. J Infect Dis 1999; 180 (1275 – 81): 1990.
79. Olson, M.E; N.J. Guselle; R.M. O´Handley; M.L. Swift; T.A. Mcallister; M.D. Jelinski and D.W. Morck. 1997. *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in British Columbia. Canadian Veterinary Journal 38, 703 – 706.
80. Ortega- Mora, L.M.; J.A. Requejo- Fernández; M. Pilar- Izquierdo, and J. Pereira- Bueno. 1999. Role of adult sheep in transmission of infection by *Cryptosporidium parvum* to lambs: Confirmation of perparturient rise. International Journal of Parasitology 29: 1261- 1268.
81. Palacios C.E.; R. Perales; A. Chavera; T. López. 2005. Caracterización anátomo-histopatológica de enteropatías causantes de mortalidad en crías de alpaca. Rev. investig. vet. Perú. ene/jun v.16 n.1.
82. Palacios CE, RA Perales, AE Chavera, et al. *Eimeria macusaniensis* and *Eimeria ivitaensis* co- infection in fatal cases of diarrea in young alpacas (*Lama pacos*) in Perú. Vet Rec 2006; 158: 344- 345.
83. Palkovic L and V Marousek. 1989. The pathogenicity of *Cryptosporidium parvum* Tyzzer, 1992 and C. baileyi Current, Upton and Haynes 1986 for chickens. Folia Parasitol. (Praha) 36, 209 – 217.
84. Parreno V., V. Constantini, S. Cheetham, et al. First isolation of rotavirus associated with neonatal diarrea in guanacos (*Lama guanicoe*) in the Argentina Patagonia region. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2001; 48: 713- 720.

85. Pedraza – Diaz S.; C. Amar; J. McLauchlin. 2000. The identification and characterisation of an unusual genotype of *Cryptosporidium* from human faeces as *Cryptosporidium meleagridis*. FEMS Microbiol. Lett. 189, 189 – 194.
86. Peeters JE, EA Mazas WJ, Masschelein I, Villacorta – Martinez de Maturana, and E Debacker. 1989. Effect of disinfection of drinking water with ozone or chlorine dioxide on survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts. Applied and Environmental Microbiology 55: 1519 – 1522.
87. Pohlenz, J., H.W. Moon, N.F. Cheville, and W.J. Bemrick. 1978. Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. Journal of the American Veterinary Medicine Association 172: 452 – 457.
88. Pokorny N. J.; Weir S. C.; Carreno R. A.; Trevost J. T.; Lee H. 2002. Influence of temperatura on *Cryptosporidium parvum* oocyst infectivity in river water simples as detected by tissue culture assay. J. Parasitol. 88 (3), 2002, pp. 641- 643.
89. Preiser, G.; L. Preiser; L. Madeo. 2003. An outbreak of cryptosporidiosis among veterinary science students who work with calves. J. Am. Coll. Health 51, 213 – 215.
90. Ramírez G. 1997. Prevalencia de Criptsoporidiosis en alpacas neonatales en la provincia de Lucanas- Ayacucho. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 40p.
91. Región Huancavelica. 2007. [Internet], [02/08/2007]. Disponible en: www.regionhuancavelica.gob.pe
92. Reynolds, G.E. and J.F. Griffin. 1990. Humoral immunity in the ewe. 2. The effect of pregnancy on the primary and secondary antibody response to protein antigen. Veterinary Immunology and Immunopathology 25, 155 – 166.
93. Requejo - Fernández J.A.; J. Pereira-Bueno; M. Pilar-Izquierdo; F.A. Rojo-Vázquez; L.M. Ortega-Mora. 1995. Papel epidemiológico de los animales adultos en la infección por *Cryptosporidium parvum* en la especie ovina: eliminación de ooquistes en el periparto. IV Congr. Ibér. Parasitol., Santiago de Compostela, España, pp. 122-123.
94. Robertson, LJ, AT Campbell, and HV Smith. 1993. In vitro excystation of *Cryptosporidium parvum*. Parasitology 106: 13 – 19.
95. Rojas M.; 1990. Parasitismo de los animales domésticos terapia, prevención y modelos para su aprendizaje. Editorial MAIJOSA. Perú. p. 319-325.
96. Rojas M.; 2003. Nosoparásitos de perros y gatos peruanos. Martegraf EIRL. Perú. p. 42-44.

97. Romero M. 1998. Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatales de la sierra central peruana. Tesis de Magister. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 63p.

98. Ryan UM; C Bath; I Robertson; C Read; A. Elliot; L. Mcinnes; R Traub and B Besier. 2005. Sheep may not be an important zoonotic reservoir for *Cryptosporidium* and *Giardia* parasites. Applied and Environmental Microbiology, Sept. 2005, p. 4992 – 4997.

99. Ryan U.; M. Power; L. Xiao. 2008. *Cryptosporidium fayeri* n. sp. (Apicomplexa: Criptosporidiidae) from the Red Kangaroo (*Macropus rufus*). J. Eukaryot. Microbiol. 55(1), 2008 pp.22-26.

100. Santin M; JM Trout; L Xiao; L Zhou; E Greiner and R Fayer. 2004. Prevalence and age – related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. Vet. Parasitol. 122, 103 – 117.

101. Scott, C.A.; H. H. Smith; M.M. A. Mtambo, and H. A. Gibs. 1995. An epidemiological study of *Cryptosporidium parvum* in two herds of adult beef cattle. Veterinary Parasitology 57: 277- 288.

102. Slapeta J. 2006. *Cryptosporidium* species found in cattle: a proposal for a new species. *Trends in Parasitology* Vol 22, Issue 10, October 2006, p. 469-474.

103. Slavin, D., 1955. *Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.). *J. Comp. Pathol*., 65, 262, 1955.

104. Slifko TR, D Friedman, JB Rose, and W Jakubowski. 1997. An in vitro method for detecting infectious *Cryptosporidium* oocysts with cell culture. Applied and Environmental Microbiology 63: 3669 – 3675.

105. Smith HV, A Mc Diarmid, AL Smith, AR Hinson, and RA Gilmour. 1989. An analysis of staining methods for the detection of *Cryptosporidium spp.* oocysts in water – related samples. Parasitology 99: 323 – 327.

106. Smith KE, SA Stenzel, JB Bender, E. Wagstrom, D. Soderlund, F.T. Leano, CM Taylor, PA Belle – Isle, R. Danila. 2004. Outbreaks of enteric infections caused by multiple pathogens associated with calves at a farm day camp. Pediatr. Infect. Dis. J. 23, 1098 – 1104.

107. Snodgrass, D.R., K.W. Angus, E.W. Gray, W.A. Weir, and L.W. Clerihew. 1980. *Cryptosporidia* associated with rotavirus and an *Escherichia coli* in an outbreak of calf scours. Veterinary Record 106: 458 – 459.

108. Soulsby E.; 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª ed. Ed. Nueva Editorial Interamericana S.A. México. p. 602; 673.

109. Starkey S.R.; Johnson A. L.; Ziegler P.E.; Mohammed H. O. 2007. An outbreak of cryptosporidiosis among alpaca crias and their human caregivers. J Am. Vet. Med. Assoc. 2007; 68: 1562- 1567.

110. Subprograma de coproparasitología. 2003. Diagnóstico de *Cryptosporidium parvum*. [Internet], [02/08/2007]. Disponible:http://www.google.com.pe/search?hl=es&q=Diagn%C3%B3stico+de+Cryptosporidium+parvum&btnG=Buscar&meta=lr%3Dlang_es.

111. Thedford TR, LW Johnson. 1989. Infectious diseases of New- World camelids (NWC). Vet Clin North Am Food Anim Pract. 1989; 5: 145- 157.

112. Thomaz A.; M. Meireles; R. Soares; H. Pena; S. Gennari. 2007. Molecular identification of *Cryptosporidium spp.* from fecal samples of felines, canines and bovines in the state of Sao Paulo, Brazil. Veterinary Parasitology 150 (2007) 291-296.

113. Thompson R.C.; C. Palmer; R. O'Handley. 2007. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. The Veterinary Journal (2007), doi:10.1016/j.tvjl.2007.09.022.

114. Thrusfield M. 1990. Epidemiología veterinaria. 1ra ed. España: Editorial Acribia S.A. 339p.

115. Traversa D.; R. Lorio; D. Otranto; D. Modry; J. Slapeta. 2008. *Cryptosporidium* from tortoises: Genetic characterisation, phylogeny and zoonotic implications .Mollecular and Cellular Probes. Vol 22, Issue 2, April 2008, p. 122-128.

116. Tribeño D. 1997. Prevalencia de criptosporidiosis en alpacas neonatas en la provincia de Caylloma - Arequipa. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 43p.

117. Tyzzer, E. E. 1910. An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et. sp. Nov.) of the gastric glands of the common mouse. *J. Med. Res*., 23, 487, 1910.

118. Tyzzer, E. E. 1912. *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch. Protistenkd*., 26, 394, 1912.

119. Tzipori, S. 1983. "Cryptosporidiosis in animals and humans". Microbiol Rev 47:84-96.

120. Tzipori S., J.K. Griffiths. 1998. Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum*. Adv. Parasitol. 40 (1998), p. 5-36.

121. Tzipori, S.; G. Widmer. 2008. A hundred-year retrospective on cryptosporidiosis. Trends Parasitol. 2008 Mar 6.

122. Urquhart G.; 2001. Parasitología veterinaria. 2ª Ed. p. 266-267. Editorial Acribia S.A.; España.

123. Vetterling, J. M.; H. R. Jervis; T. G. Merrill; H. Sprinz. 1971. *Cryptosporidium wrairi* sp. n. from the guinea pig *Cavia porcellus* with an emendation of the genus. *J. Protozool.*, 18, 243, 1971.

124. Wanda S. 1996. Tesis de prevalencia de criptosporidiosis en alpacas neonatas en la unidad de producción de Cochas de la SAIS "Túpac Amaru". Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 48p.

125. Whitehead CE, DE Anderson. 2005. Neonatal diarrhea in llamas and alpacas. 2005. Small Rumin Res 2005; 61: 207- 215.

126. Xiao L.; R.P. Herd, D.M. Rings. 1993. Diagnosis of *Cryptosporidium* on a sheep farm with neonatal diarrhea by immunofluorescence assay. Veterinary Parasitology 47, 17 – 23.

127. Xiao L.; R.P. Herd, G. L. Bowman. 1994. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections on two Ohio pig farms with different management systems. Vet. Parasitol. 52 (3-4): 331-6.

128. Xiao L.; C. Bern; J. Limor; I. Sulaiman; J. Roberts; W. Checkley; L. Cabrera; R. H. Gilman; A.A. Lal. 2001. Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children Lima, Peru. J. Infect. Dis. 183, 492 – 497.

129. Xiao L.; R. Fayer; U. Ryan; S.J. Upton. 2004a. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin. Microbiol. Rev*. 17 (2004), pp. 72-97.

130. Xiao L.; U. Ryan; TZ Graczyk; J. Limor; L Li; M. Kombert; R Junge; IM Sulaiman; L Zhou; MJ Arrowood; B Koudela; D Modry; AA Lal. 2004b. Genetic diversity of *Cryptosporidium spp.* in captive reptiles. Appl. Environ. Microbiol. 70, 891 – 899.

131. Xiao L.; V. Cama.; L. Cabrera; Y. Ortega; J. Pearson; R. Gilman. 2007. Possible transmission of Cryptosporidium canis among children and a dog in a household. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 45. p. 2014 – 2016.

132. Xiao L.; R. Fayer. 2008a. Molecular Characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. International Journal for Parasitology (2008) 1-65.

133. Xiao L., UM Ryan. 2008b. Molecular epidemiology. En: Fayer, Yoder J.S.; M.J. Beach; CDC. 2007. Cryptosporidiosis surveillance- United States, 2003-2005. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 2007 Nov 2; 56 (43):1141.

Apéndices

Apéndice 1. Técnica de coloración para *Cryptosporidium sp.*: Ziehl-Neelsen Modificada (ZNM) (Henricksen y Pohlenz, 1981)

Reactivos

a) Fucsina Básica Fenicada: se disuelven 8 gramos de fucsina en 345 ml de agua destilada caliente. Luego se agrega 30 ml. de fenol puro y se homogeniza; a esta solución posteriormente se le añade 40 ml de alcohol 96º y luego se homogeniza, filtrándose antes de su uso. Esta solución es comprobada con una lámina patrón.

b) Verde de Malaquita: se disuelven 5 gramos de verde malaquita en 100 ml de agua destilada fría. Esta solución se filtra antes de su uso y se evalúa por comparación con una lámina patrón.

c) Ácido sulfúrico al 2%: se diluyen 2 ml de ácido sulfúrico en 98 ml de agua destilada.

Técnica de Coloración de Ziehl-Neelsen Modificada (ZNM) (Henricksen y Pohlenz, 1981)

a) El frotis se cubre con fucsina fenicada durante 20 minutos.

b) Luego se lava con agua corriente hasta eliminar el exceso de fucsina básica fenicada.

c) Se decolora con ácido sulfúrico al 2% durante 20 segundos aproximadamente.

d) Se lava nuevamente con agua corriente.

e) Se deja secar la lámina al medio ambiente.

f) El frotis se contracolorea con verde malaquita al 5% por 5 minutos.

g) Después se lava con agua corriente y se deja secar.

h) Posteriormente se examina al microscopio colocándole aceite de inmersión y un cubreobjetos. Se utiliza el ocular de 10x ó 15x y el objetivo de 40x; si es necesario para identificación de detalles se utiliza el objetivo de 100x.

i) Se registran todos los ooquistes encontrados, además son medidos en ancho y largo con un ocular de 16x que tiene una regla.

Apéndice 2. Zonas alpaqueras en el departamento de Huancavelica y sus poblaciones (Fuente: Dirección de promoción agraria de Huancavelica año 2005) – Provincia de Huancavelica

Distrito	Comunidad	Sectores	Población de Alpacas	Familias Beneficiadas
Huancavelica	Santa Bárbara	Parionaccocha	3200	29
		Carhuarazo	2800	19
		Huamanrazo	2550	21
		Cceullacocha	2780	18
		Muela	1800	15
		Pallccapampa	2000	17
		Yanacancha	1400	19
		Yanaslla	1320	17
		Miguel pata	700	17
		Huaraccopata	420	15
		Tucucucho	2500	20
		Carnicería	1200	11
		Santa Bárbara antigua	700	15
	Sacsamarca	Pillone	552	10
		Cochabamba	758	6
		Jundia	650	5
		Ranracancha	725	5
		Uyrurumi	1650	12
		Chumbes	690	6
		Cruz Pata	570	10
		Occopata	150	5
		Putika	400	4
		Balcón	300	8
		Chupapata	1500	6
		Congospata	1200	12
	Lachocc	Paccocuri	750	5
		Cuncacucho	650	5
		Piculluyoq	500	2
		Toqyasqa	400	3
		Tamboccasa	500	5
		Baticola	500	10
		Tucumachay	1800	15

	Pampachacra	Pampachacra	420	20
Ascensión	Cachimayo	Cachimayo	5500	45
	Yauricocha	Yauricocha	12000	60
	Pastales Huando	Pastales Huando	4500	40
	Alto andino	Alto andino	2771	40
	Pucarumi	Pucarumi	1800	30
Huachocolpa	Huachocolpa	Huachocolpa	700	10
		Corralpampa	1900	15
		Atoccmarca	2300	18
		Totorapampa	1800	18
		Pallccahuaycco	1600	20
		Yanaututo	400	15
Nuevo Occoro	Tansiri	Tansiri	4700	25
	Orccobamba	Orccobamba	1945	30
	Rio de la Virgen	Rio de la Virgen	2100	50
	Tambopata	Tambopata	2200	30
Acobambilla	Acobambilla	Acobambilla	4500	50
	Telapacccha	Telapacccha	9846	40
Palca	Palca	Palca	50	10
	Ñuñunccayocc	Ñuñunccayocc	300	15
	Conaiccasa	Conaiccasa	600	15
Huando	Tinyacclla	Tinyacclla	4500	30
	Incañan	Incañan	882	5
Yauli	Pachacclla	Pachacclla	1000	40
	Antacancha	Antacancha	1794	25

Continuación Apéndice 2. Zonas alpaqueras en el departamento de Huancavelica y sus poblaciones (Fuente: Dirección de promoción agraria de Huancavelica año 2005) – Provincia de Huaytará

Distrito	Comunidad	Anexos	Población de alpacas	Familias Beneficiadas
Pilpichaca	Pilpichaca	Pilpichaca	5400	50
	Carhuancho	Carhuancho	12000	60
	Llillinta	Llillinta	8174	60
	Santa Inés	Santa Inés	2500	40
	Pichccahuasi	Pichccahuasi	4000	30
	Inccahuasi	Inccahuasi	4000	45

Continuación Anexo 2. Zonas alpaqueras en el departamento de Huancavelica y sus poblaciones (Fuente: Dirección de promoción agraria de Huancavelica año 2005) – Provincia de Castrovirreina

Distrito	Comunidad	Anexos	Población de alpacas	Familias Beneficiadas
Santa Ana	Sallccasanta Ana	Santa Ana centro	6300	40
		Choclococha	4572	35
		Santa Rosa	3500	30
		Caudalosa	2000	20

		grande		
		San Genaro	2000	20
		Pucapampa	3500	30
		Astobamba	3000	20
		Libertad	1500	35
Castrovirreina	Castrovirreina	Castrovirreina	300	50
	Pacococha	Pacococha	1275	30
	Ccahuiña	Ccahuiña	1800	30
Villa de Arma	Callanca	Callanca	1550	35
	Cotas	Cotas	1150	40
	Bellavista	Bellavista	450	15
	Casacancha	Casacancha	550	15
	Ccerrana	Ccerrana	511	30
Aurahua	Chocoro	Chocoro	2100	15
	Cochamarca	Cochamarca	1436	20
	Antacancha	Antacancha	780	10
Chupamarca	Cancahuasi	Cancahuasi	700	10
	Huichincca	Huichincca	1600	15
	Tipicocha	Tipicocha	1219	15

Apéndice 2. Zonas alpaqueras en el departamento de Huancavelica y sus poblaciones (Fuente: Dirección de promoción agraria de Huancavelica año 2005) – Provincia de Angaraes

Distrito	Comunidad	Anexos	Población de alpacas	Familias Beneficiadas
Lircay	Carhuapata	Llulluchayocc	800	20
		Peruruyocc	700	22
		Talladucho	600	26
		Llamahuasi	800	25
		Huayllacruz	1000	15
		Pucamayo	981	15
	Soccllabamba	Laccia	800	15
		Chipana	800	20
		Yoracc caballo	600	15
		Pimienta	1700	15
		Curirumi	800	25
	Chahuarma	Tupac Amaru	1000	25
	Buenavista	Nueva Jerusalén	1000	25
		Paria	600	10
		Ranrapampa	500	15
	Mesaccocha	Antamachay	500	25
		Rupascca	500	20
	Ccochatay	Quispicancha	1500	30
		Buenavista	700	30
Ccochaccasa	Ccochaccasa	Ccasccabamba	600	50
		San Pedro	200	30
		Tablapampa	153	20
Secclla	Secclla	Secclla	300	25
	Quispicancha	Quispicancha	1600	35

	Ccochatay	Ccochatay	235	10