



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina Veterinaria**

**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**

**Prevalencia de *Giardia duodenalis* en cría de alpacas  
(*Vicugna pacos*) del Centro Experimental La Raya de  
la Universidad Nacional del Altiplano-Puno en el 2018**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

**AUTOR**

Jackeline Aurely PEÑA PALACIOS

**ASESOR**

Mg. Luis Antonio GÓMEZ PUERTA

Lima, Perú

2021



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

---

Peña J. Prevalencia de *Giardia duodenalis* en cría de alpacas (*Vicugna pacos*) del Centro Experimental La Raya de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno en el 2018 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2021.

---

## Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Jackeline Aurely Peña Palacios
DNI	74388145
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Luis Antonio Gómez Puerta
DNI	10810335
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0002-7909-979X">https://orcid.org/0000-0002-7909-979X</a>
Datos de investigación	
Línea de investigación	A.1.3.1. Salud Pública
Grupo de investigación	<b>Ateneo abocado a responder amenazas y oportunidades del sector pecuario</b>
Agencia de financiamiento	<b>Sin financiamiento</b>
Ubicación geográfica de la investigación	País: Perú Departamento: Puno Provincia: Puno Distrito: Puno Dirección: Av. Floral 1153, Puno 21001 Latitud: -15.8243402 Longitud: -70.015479  Edificio: Laboratorio de Epidemiología y Economía Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Dirección: Av. Circunvalación 28, San Borja 15021 Latitud: -12.0814566 Longitud: -76.9877077

Año o rango de años en que se realizó la investigación	Febrero 2018-Marzo2018 2018 - 2020
URL de disciplinas OCDE	Medicina Veterinaria <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01</a> Salud Pública <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05</a> Epidemiología <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.09">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.09</a> Parasitología <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.07">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.07</a>



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

**1. FECHA DE LA SUSTENTACIÓN 11/01/2021**

HORA INICIO: 12:00 horas

HORA TÉRMINO:

**MIEMBROS DEL JURADO**

PRESIDENTE: **MV. PhD. Víctor Raúl Leyva Vallejos**

MIEMBRO: **MV. Mg. Rosa Ysabel Pinedo Vicente**

MIEMBRO: **MV. Mg. Faride Vanesa Altamirano Zevallos**

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

**2. DATOS DEL TESISISTA**

APELLIDOS Y NOMBRES: **PEÑA PALACIOS, JACKELINE AURELY**

CÓDIGO: 14080033

R.R. DE GRADO DE TESISISTA NÚMERO: **N° 000018-2020-D-FMV/UNMSM**

TÍTULO DE LA TESIS: **“PREVALENCIA DE *Giardia duodenalis* EN CRÍA DE ALPACAS (*Vicugna pacos*) DEL CENTRO EXPERIMENTAL LA RAYA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO-PUNO EN EL 2018”**

**3. RECOMENDACIONES**

Se adjunta en hoja adicional

---

**Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación:**

ID: yce-vfyn-tbf

Grabación archivada en:

[https://drive.google.com/file/d/1kSfBy\\_z3DiE\\_svgi\\_3aXVPT1\\_bHGElIB/view?usp=sharing](https://drive.google.com/file/d/1kSfBy_z3DiE_svgi_3aXVPT1_bHGElIB/view?usp=sharing)

**NOTA OBTENIDA: Numero (16), letra (Dieciséis)**


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

<b>TESISTA</b>	<b>1</b>	Jackeline Peña Palacios	74388145	jackeline.penalacios@gmail.com
<b>JURADO</b>	<b>2</b>	Victor Leyva Vallejos	24675829	vleyvav@unmsm.edu.pe
	<b>3</b>	Luis Gómez Puerta	10810335	lgomezp@unmsm.edu.pe
	<b>4</b>	Rosa Ysabel Pinedo Vicente	40404904	rpinedov@unmsm.edu.pe
	<b>5</b>	Faride Altamirano Zevallos	43695598	faltamiranoz@unmsm.edu.pe
<b>MODERADOR</b>	<b>6</b>	Luis Cerro Temoche	41341572	lcerrot@unmsm.edu.pe
<b>COMITÉ DE SUSTENTACIONES</b>	<b>7</b>	Luis Hoyos Sifuentes	41175479	luis.hoyos@unmsm.edu.pe
	<b>8</b>	Miryam Quevedo Urday	40064320	mquevedou@unmsm.edu.pe
<b>SOLICITUD DE ASISTENCIA DOCENTES</b>	<b>10</b>	Miguel Ampuero Bustillos	06645903	aampuerob@unmsm.edu.pe
	<b>11</b>	Juan Olazabal Loayza	20050845	jolazaball@unmsm.edu.pe
	<b>12</b>	Eva Casas	9072653	ecasasa@unmsm.edu.pe
	<b>13</b>	José Manuel Angulo Tisoc	44081403	jangulot@unmsm.edu.pe
	<b>14</b>	Francisco Suárez Aranda	10833645	fsuareza@unmsm.edu.pe

	16	Josselyn Escano Lopez	71251311	josselyn.escano@gmail.com
	18	Jenny Gutierrez Sotelo	44613569	jenny.gutierrez@unmsm.edu.pe
	19	María Fernanda Escano Lopez	71251310	maria.escano@unmsm.edu.pe
	20	DiegoValverde Ortega	77211731	diego.valverde2@unmsm.edu.pe

<b>INFORMÁTICA</b>	Andrés Trujillo Peña	informatica.fmv@unmsm.edu.pe
--------------------	----------------------	------------------------------

#### 5. FIRMAS DE LOS MIEMBROS DEL JURADO

 <b>Firma</b>
<b>MV. PhD. Leyva Vallejos Victor Raúl</b>
<b>Apellidos y Nombres</b>
<b>PRESIDENTE</b>

 <b>Firma</b>	 <b>Firma</b>	 <b>Firma</b>
<b>MV. Mg. Gómez Puerta Luis Antonio</b>	<b>MV. Mg. Pinedo Vicente Rosa Ysabel</b>	<b>MV. Mg. Altamirano Zevallos Faride Vanesa</b>
<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Apellidos y Nombres</b>
<b>ASESOR DE LA TESIS</b>	<b>MIEMBRO JURADO</b>	<b>MIEMBRO JURADO</b>



Esta tesis fue realizada gracias a ayuda de diversas instituciones y personas a quien quiero agradecer en las siguientes líneas.

En primer lugar, agradezco al Departamento de Epidemiología y Economía Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Especialmente al Dr. Luis Gómez por su gran paciencia, ayuda y la confianza brindada en la culminación de este trabajo. También agradezco al Dr. Armando González y a la Dra. Teresa López por permitirme ser parte de su grupo de investigación.

Al Centro Experimental La Raya de la Universidad Nacional del Altiplano, por permitirnos usar sus animales.

Agradecer especialmente a Ana Vargas, por su constante ayuda y su disposición a apoyarme siempre. A mis compañeros Martha Salas y Luis Julca por su compañía y ayuda.

También agradecer al Sr. Vicente Mendoza y la Dra. Norma Noé por sus innumerables consejos y apoyo.

Por último, a mi familia por ser una fuente constante de sustento emocional y siempre apoyarme en la culminación de todos mis proyectos.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>TABLA DE CONTENIDO</b> .....	ii
<b>RESUMEN</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	vi
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	vii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	3
<b>1. La alpaca</b> .....	3
1.1. Introducción.....	3
1.2. Taxonomía.....	4
1.3. Biología.....	5
1.4. Distribución geográfica.....	6
1.5. Situación de la alpaca en el Perú.....	6
1.6. Mortalidad y morbilidad en las crías de alpaca.....	7
<b>2. <i>Giardia duodenalis</i></b> .....	11
2.1. Introducción.....	11
2.2. Taxonomía.....	11
2.2.1. Especies.....	12
2.2.2. Ensamblajes o genotipos.....	13
2.3. Biología.....	15
2.3.1. Morfología.....	16
2.3.1.1. Trofozoíto.....	16
2.3.1.2. Quiste.....	17
2.4. Ciclo biológico.....	18
2.5. Diferenciación celular.....	19
2.5.1. Enquistación.....	19
2.5.2. Desenquistación.....	20
2.6. Ciclos de transmisión.....	21
2.6.1. Humanos.....	21
2.6.2. Ganado.....	22
2.6.3. Animales de compañía.....	23
2.6.4. Animales exóticos.....	24

2.6.5.	Transmisión a través del agua y potencial zoonótico.....	24
2.7.	Patogenia.....	26
2.8.	Presentación clínica.....	27
2.8.1.	Humanos .....	27
2.8.2.	Animales .....	28
2.9.	Métodos de diagnóstico.....	29
2.9.1.	Microscopía óptica.....	29
2.9.2.	Pruebas inmunológicas.....	30
2.9.3.	Pruebas moleculares.....	31
2.10.	Tratamiento .....	33
2.10.1.	Humanos .....	33
2.10.1.1.	Metronidazol .....	34
2.10.1.2.	Tinidazol .....	35
2.10.1.3.	Furazolidona.....	35
2.10.1.4.	Bencimidazoles .....	36
2.10.2.	Animales .....	36
2.11.	Prevención y Control.....	38
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
1.	Materiales.....	40
1.1.	Diseño de estudio .....	40
1.2.	Lugar de estudio.....	40
1.3.	Número de muestras.....	41
2.	Métodos.....	41
2.1.	Colecta y conservación de las muestras .....	41
2.2.	Extracción de ADN.....	42
2.3.	Reacción en Cadena de la Polimerasa Anidada (PCR-Anidado).....	42
2.4.	Análisis estadístico.....	44
2.5.	Consideraciones éticas .....	44
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>45</b>
<b>V.</b>	<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>50</b>
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>56</b>
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>57</b>

## RESUMEN

*Giardia duodenalis* es un parásito intestinal, asociado con la aparición de enfermedades diarreicas de animales y humanos en todo el mundo. Su presencia en las crías de animales puede provocar retardo en el desarrollo, crecimiento e importantes pérdidas económicas. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el porcentaje de infección de *G. duodenalis* en crías de alpacas procedentes de la sierra sur del Perú. Las muestras utilizadas en el estudio fueron obtenidas de 394 muestras fecales recolectadas directamente del recto de crías de alpaca durante los meses de febrero y marzo del 2018. El diagnóstico se realizó mediante la técnica molecular de PCR, amplificando parcialmente la secuencia del gen  $\beta$ -giardina. Se obtuvo una prevalencia del 39.1% (154/394) (IC 95% 34.25-43.92) del total de crías positivas a la infección de *G. duodenalis*. Al realizar el análisis bivariado entre la presencia de *G. duodenalis* con las variables diarrea y sexo no se encontraron diferencias significativas ( $p=0.253$  y  $p=0.754$ , respectivamente). En el análisis múltiple se encontró que la prevalencia de *G. duodenalis* en crías de alpaca con diarrea fue 1.49 veces la prevalencia de *G. duodenalis* en crías que no presentaban diarreas ajustado por sexo y agrupados según la procedencia.

**Palabras clave:** Alpacas, cría, *Giardia duodenalis*, diarrea.

## ABSTRACT

*Giardia duodenalis* is an intestinal parasite associated with the apparition of diarrheal disease in animals and humans around the world. Its presence in animals can cause growth retardation and significant economic losses. The aim of this work was to determine the percentage of parasite infection in the alpaca crias of the Peruvian highland. A total of 304 fecal samples of alpacas crias were obtained during the months of February to March 2018. Diagnosis of *Giardia* was determined by PCR molecular technique analysis of the  $\beta$ -giardin gene. We obtained a prevalence of 39.2% (154/394) (IC 95% 34.25-43.92) of the total crias positive for *G. duodenalis* infection. When performing the bivariate analysis between the presence of *G. duodenalis* with the variables diarrhea and sex, no significant differences were found ( $p = 0.253$  and  $p = 0.754$ , respectively). In the multiple analysis it was found that the prevalence of *G. duodenalis* in alpaca crias with diarrhea was 1.49 times the prevalence of *G. duodenalis* in crias that did not present diarrhea adjusted for sex and grouped according to the origin.

**Key words:** Alpaca, crias, *G. duodenalis*, diarrhea.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Morfología del trofozoíto y quiste de <i>Giardia</i> spp. (Ankarklev, 2010). .....	18
<b>Figura 2.</b> Ciclo biológico de <i>Giardia</i> spp. (Ankarklev et al., 2010). .....	19
<b>Figura 3.</b> Principales ciclos de transmisión de <i>G. duodenalis</i> en hospedadores mamíferos (Thompson y Monis, 2012). .....	26
<b>Figura 4.</b> Diagnóstico de <i>Giardia</i> . (A) Técnicas de tinción en microscopía óptica convencional. (B) Inmunocromatografía: (1) Área de la muestra; (2) Anticuerpo de control positivo del ensayo; (3) Anticuerpo para la detección basada en anticuerpos específicos de antígenos <i>Giardia</i> . (C) Inmunoensayo para la detección de antígenos de quiste o trofozoíto: (1) pozo ELISA; (2) anticuerpos (3) antígeno de <i>Giardia</i> ; (4) anticuerpo específico secundario; (5) conjugado marcado con enzima para detección colorimétrica (D) Enfoques de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Adaptado Koehler et al., 2014). .....	33
<b>Figura 5.</b> Diagnóstico molecular de <i>G. duodenalis</i> en heces de crías de alpacas mediante PCR-anidado, amplificando parcialmente el gen $\beta$ -giardina (511 pb). Lectura en el gel de electroforesis, donde la muestra 2 se considera negativa y la muestra 1 y del 3 al 16 se consideran positivas. Además, para cada conjunto de muestras se tienen controles negativos (-1 y -2) y positivo (+). .....	46

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Especies reconocidas dentro del género <i>Giardia</i> 1952-2007* .....	13
<b>Cuadro 2.</b> Grupos genéticos de <i>Giardia duodenalis</i> y especies de <i>Giardia</i> spp.* .....	14
<b>Cuadro 3.</b> Características de crías de alpacas provenientes del Centro de Investigación La Raya. .....	47
<b>Cuadro 4.</b> Factores asociados a la presencia de <i>Giardia duodenalis</i> en análisis bivariado. ....	48
<b>Cuadro 5.</b> Factores asociados a la presencia de <i>Giardia duodenalis</i> en análisis de regresión múltiple. ....	49

## I. INTRODUCCIÓN

La alpaca es una especie de camélido sudamericano que habita en las regiones alto andinas del Perú y su presencia tiene relevancia económica, social y cultural en la población (Lumbreras *et al.*, 1980; FAO, 2005). La crianza de alpacas representa una actividad económica primordial para los pobladores altoandinos, debido que las áreas geográficas en donde habitan presentan condiciones climáticas adversas y el aprovechamiento de otro recurso económico no es posible (FAO, 2005; Quispe *et al.*, 2009; Minagri, 2018).

El Perú es el país con la mayor población de alpacas a nivel mundial (CONACS, 2005; Minagri, 2018). La crianza de alpacas en más del 90% de la población está en manos de pequeños productores que habitan zonas de pobreza o extrema pobreza (Minagri, 2018). Los sistemas de crianza de los pequeños productores se caracterizan por ser poco tecnificadas, con una crianza mixta (alpacas, llamas, ovejas), sin calendarios sanitarios y registros (Ameghino y DeMartini, 1991; FAO, 2005). Adicionalmente la constante degradación de las praderas y la baja tasa de crecimiento de los rebaños, este último a consecuencia de la baja tasa de natalidad y elevada mortalidad principalmente de las crías, convierten a la crianza de alpacas en una actividad económica poco rentable y con muchas limitantes (Ameghino y DeMartini, 1991; FAO, 2005).

La mortalidad en las crías de alpaca es elevada, alcanzando porcentajes superiores al 30% (Quispe *et al.*, 2009). Específicamente en el Centro de Investigación y Producción de La Raya ubicado en la región de Puno, se ha reportado elevadas tasas de mortalidad que van desde 37.72% en caso



de hembras y 40.32% en machos, además de una mortalidad global de 50.63% en las crías de alpaca el año 2003 (Gallegos, 2013). Entre las enfermedades causantes de mortalidad en crías de alpacas se destacan las de origen infeccioso causantes de diarreas y las neumonías (Mamani *et al.*, 2009; Martín *et al.*, 2010). Las diarreas constituyen una importante causa de mortalidad y morbilidad en las crías (Ameghino y DeMartini, 1991; Sharpe *et al.*, 2009; Whitehead, 2009). La aparición de diarreas en las crías están asociadas a factores ambientales, nutricionales, manejo y a diferentes tipos de agentes bacterianos, víricos y parasitarios (Whitehead y Anderson, 2006). Las diarreas pueden ser causadas por un solo tipo de agente o en asociaciones con varios agentes (Lucas *et al.*, 2016).

Los agentes relacionados a la presencia de diarreas son diversos (Rosadio y Ameghino, 1994; Cebra *et al.*, 2003; Whitehead y Anderson, 2006; Whitehead, 2009). En la actualidad aún no se conoce que papel cumplen cada uno de los microorganismos en la aparición de diarreas, de la misma forma aún se desconoce el papel que juega *Giardia duodenalis* en la aparición de las diarreas en las crías de alpacas. *Giardia* es un protozooario comúnmente asociado a procesos diarreicos en el mundo (Lee *et al.*, 2002). Es capaz de infectar una amplia variedad de mamíferos, incluyendo a los seres humanos (Adam, 2001; Thompson, 2004).

Los reportes de la presencia de *G. duodenalis* en crías de alpacas, nos muestran que es un parásito que está presente en un porcentaje importante de las crías. Se han reportado tasas de infección de hasta el 50% en crías (Gómez-Couso *et al.*, 2012). Las diarreas ocasionan en las crías pérdida importante de nutrientes, deshidratación y en consecuencia pérdida de peso (Ameghino y DeMartini, 1991). Como resultado tenemos un retraso en el crecimiento entre los animales, susceptibilidad a infecciones secundarias en las crías que podrían ocasionar en algunos casos la muerte de las crías. Todo ello se traduce como pérdidas económicas de gran importancia para los productores de alpacas (FAO, 2005).

Debido a que el complejo diarreico neonatal en alpacas es de suma importancia para los productores, es necesario conocer la situación epidemiológica actual de los patógenos entéricos. Se ha demostrado que existen fluctuaciones en la prevalencia de diversas enfermedades a causa de factores medioambientales y manejo del hombre, tal como en el caso de la enterotoxemia. Por tal motivo, el presente estudio determinará la prevalencia actual para *G. duodenalis* en crías de alpacas procedentes de la sierra sur del Perú.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1. La alpaca

#### 1.1. Introducción

La alpaca (*Vicugna pacos*) representa un recurso de gran importancia económica y social, es una especie que ha estado estrechamente ligada a la economía e historia del Perú (Lumbreras *et al.*, 1980). Históricamente los camélidos sudamericanos fueron domesticados desde la prehistoria tardía, la presencia de este recurso representaba la riqueza de los estados, además de ser fuente de una amplia variedad de bienes y servicios en los que se incluían los sacrificios religiosos, transporte, medicina y la adivinación (Shimada y Shimada, 1985; Stahl, 2008).

La crianza de camélidos sudamericanos tuvo su mayor auge durante el imperio incaico, donde jugaban un rol importante en la vida cotidiana y religiosa (VanDalen *et al.*, 2015). Sin embargo después de la llegada de los conquistadores españoles la población se redujo considerablemente y se desplazó la crianza a las zonas más remotas de los Andes peruanos (Shimada y Shimada, 1985; Renieri *et al.*, 2009; Wheeler, 2012). Actualmente la crianza de camélidos ha entrado nuevamente en auge, principalmente la crianza de alpacas. La crianza de alpacas se ha popularizado principalmente por la fibra que poseen, la fibra de alpaca es muy cotizada a nivel mundial y posee un elevado valor económico (Aldenderfer, 1999).

## 1.2. Taxonomía

La clasificación taxonómica de los camélidos sudamericanos ha pasado por diversos cambios a lo largo de los años. La primera descripción de la alpaca data del año 1758 donde Linneo en su libro “*System Naturae*” realizó una descripción muy precisa de la alpaca como *Camelus pacos* (*Camelus peruvianus laniger pacos dictus*), posicionándola junto a la llama como *Camelus glama* (*Camelus peruvianus glama dictus*) (Wheeler, 1958, 1995, 2010, 2012).

En 1776 Müller describió al guanaco como *Camelus guanicoe* y en 1872, Molina describió a la vicuña como *Camelus vicugna*. En 1800 el científico francés G. Cuvier clasificó a los camélidos del viejo mundo dentro del género *Camelus* y a los camélidos del nuevo mundo dentro del género *Lama*, propuesta que fue aceptada por la Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica el año 1958. En 1924 Miller separó a la vicuña dentro del género *Vicugna*, postulo que las demás especies (alpaca, llama y guanaco) pertenecían a un grupo con una especie ancestral común (Wheeler, 1958, 1995, 2010, 2012)

No fue hasta el año 2001 cuando Kadwell y colaboradores explicaron el origen de la alpaca, mediante el análisis del gen citocromo b mitocondrial. Se concluyó que el guanaco (*Lama*) y la vicuña (*Vicugna*) corresponden a géneros distintos y hay una relación ancestral entre el guanaco y la llama y entre la vicuña y la alpaca. Actualmente se acepta que el guanaco y la llama son *Lama guanicoe* y *Lama glama* respectivamente, mientras que la vicuña y la alpaca son *Vicugna vicugna* y *Vicugna pacos* (Kadwell *et al.*, 2001; Wheeler, 1958, 1995, 2010, 2012).

Orden	Artiodactyla
Suborden	Tylopoda
Familia	Camelidae
Subfamilia	Camelinae
Géneros	<i>Lama</i> (Cuvier, 1800) <i>Lama glama</i> (Linnaeus, 1758)-llama doméstica <i>Lama guanicoe</i> (Müller, 1776)-guanaco silvestre <i>Vicugna</i> (Miller, 1924) <i>Vicugna vicugna</i> (Molina, 1782)-vicuña silvestre <i>Vicugna pacos</i> (Linnaeus, 1758)-alpaca doméstica

\*Adaptado de Wheeler (2012).

### 1.3. Biología

Los camélidos sudamericanos son especies que se han adaptado al medio ambiente frío y árido de los andes, presentan características anatómicas y fisiológicas propias (Vilá, 2012). Los camélidos sudamericanos no son rumiantes; sin embargo, su forma de alimentarse muestra cierta similitud a los rumiantes. Regurgitan el alimento y vuelven a masticarlo, presentan una digestión anaeróbica, los microorganismos y ácidos volátiles son análogos al de los rumiantes (Vilá, 2012).

A diferencia de los rumiantes, los camélidos sudamericanos presentan un estómago compuesto por tres segmentos (C1, C2 y C3), además tiene una forma característica de aprehensión de los alimentos donde con los incisivos inferiores muerden contra la almohadilla superior que está rodeada por un labio partido (Stahl, 2008; Vilá, 2012). Presenta una almohadilla digital cubierta de uñas, evitando el daño a los pastizales y la erosión de los suelos (FAO, 2005; Wheeler, 2012). No presenta cuernos y presenta caninos verdaderos (Wheeler, 2012). Son animales que realizan la deposición de sus excretas en lugares determinados formando letrinas, una característica importante en el control de las enfermedades infecciosas (FAO, 2005)

Poseen una utilización eficiente de oxígeno, lo que les permite adaptarse a altas elevaciones (Stahl, 2008). Los glóbulos rojos tiene forma elíptica lo que podría facilitar el transporte de oxígeno (FAO, 2005; Pinto *et al.*, 2010). La hemoglobina presente en los glóbulos rojos absorbe más oxígeno en comparación a otros mamíferos, además posee una vida útil más larga de aproximadamente 235 días (Larson, 2007).

Las alpacas a diferencia de las llamas son de menor tamaño (Larson, 2007; Stahl, 2008). Son animales que miden aproximadamente de 94 a 104 cm de altura a la cruz y pesan entre 55 y 65 Kg (Stahl, 2008). El peso de las crías al nacimiento es de 7.5 a 8 Kg (FAO, 2005) Tiene una vida productiva de 15 a 25 años, presentan una reproducción estacional, con un periodo de gestación de aproximadamente 11.5 meses (Larson, 2007; Ramos, 2010). No presentan ciclos estrales, la ovulación es inducida por estímulos de la cópula y la gestación es desarrollada en el 90% de los casos en el cuerno uterino izquierdo (FAO, 2005).

Dentro de las alpacas se pueden distinguir dos variedades o también llamadas razas, la variedad Suri (Sury) que se caracteriza por presentar fibras largas y rectas, que caen a cada lado del cuerpo con una disposición casi paralela a la superficie corporal (Bustinza, 2001; Wheeler, 2012). La variedad Suri presenta una menor resistencia a las condiciones climáticas adversas,

debido principalmente a que la parte superior del lomo está descubierta debido a las características propias del vellón que posee (vellón partido) (Calle, 1982). Son animales de contextura fina y tiene apariencia de ser más débiles en comparación a la variedad Huacaya (Bustinza, 2001). La variedad Huacaya (Wacaya), posee fibras rizadas más cortas que la variedad Suri y le dan una apariencia más esponjosa (Wheeler, 2012). Las fibras tienen una disposición casi perpendicular a la superficie corporal. Son animales más grandes y robustos en comparación a la variedad Suri (Bustinza, 2001). Se estima que aproximadamente el 90% de todas las alpacas en el Perú son Huacayas (FAO, 2005; Wheeler, 2012).

#### 1.4. Distribución geográfica

En Sudamérica las alpacas se encuentran generalmente distribuidas en los Andes, a alturas entre 4400 y 4800 msnm de los andes de Perú y Bolivia, con presencia de pequeñas poblaciones en el norte de Chile, al noroeste de Argentina y al sur de Ecuador (Stahl, 2008; Wheeler, 2012).

El Perú concentra aproximadamente el 84% de la población de alpacas a nivel mundial, siendo el país que reúne la mayor población de alpacas (CONACS, 2005; FAO, 2005). El segundo país es Bolivia que concentra el 5% de la población. En la actualidad, ha tomado relevancia la presencia de alpacas en países como Australia y Estados Unidos que superan la población de alpacas presentes en Chile y en conjunto superan el 5% de la población de alpacas a nivel mundial (AVSF, 2012).

#### 1.5. Situación de la alpaca en el Perú.

En el Perú, la población de alpacas según el último Censo Nacional Agropecuario del año 2012 es de 3'685,516 animales. La población de alpacas se concentra principalmente en la sierra. Cerca del 80% de la población total de alpacas se concentra en los departamentos de Puno, Cusco y Arequipa (FAO, 2005; Minagri, 2015). El departamento de Puno concentra el 50.21% de la población, Cusco el 14.02%, Arequipa el 9.61% y Huancavelica 7.42% (FAO, 2008). Paradójicamente los ingresos per-cápita en la mayoría de las regiones mencionadas son las más bajas del país (CONACS, 2005).

Los productos que se puede obtener de la alpaca son la carne y la fibra, la carne contiene un valor de proteína similar o mayor con respecto a otras especies. Sin embargo, su comercialización aún no está muy extendida. La fibra es el principal producto obtenido, es de alto

valor económico debido a sus características de suavidad, durabilidad y sedosidad (FAO, 2005; Quispe *et al.*, 2009; Minagri, 2018).

La crianza de camélidos sudamericanos constituye un medio productivo único para el poblador de las zonas alto andinas del Perú (3800 a más de 5000 msnm), ya que en las zonas altas no es posible el aprovechamiento de otro recurso económico (FAO, 2005; Pinto *et al.*, 2010; Melo, 2012). En el Perú gran porcentaje de los productores agropecuarios están formados por pequeñas unidades agropecuarias, aproximadamente el 81% (CENAGRO, 2012). La crianza de alpacas no es la excepción, cerca del 90% de la población de alpacas está en manos de pequeños productores que viven en situación de pobreza y extrema pobreza (FAO, 2005). La crianza está caracterizada por un manejo precario de animales, crianza de rebaños mixtos (alpacas, llamas, ovinos), sin asistencia técnica, sin medidas para la prevención de enfermedades. Es una actividad económica poco rentable, con altos niveles de morbilidad, mortalidad, baja tasa de natalidad y crecimiento (FAO, 2005).

Entre los principales factores limitantes en la crianza de alpacas se encuentran las bajas tasas de natalidad, altas tasas de mortalidad en crías y el empobrecimiento de las praderas (Ameghino y DeMartini, 1991; FAO, 2005). Las bajas tasas de natalidad que apenas alcanzan el 50%, son agravadas por una elevada tasa de mortalidad embrionaria que puede comprender al 50% de la población y una elevada mortalidad en las crías (Ameghino y DeMartini, 1991; FAO, 2005; Moya y Torres, 2008). El empobrecimiento y desertificación progresiva de las praderas se deben a factores antropogénicos, como el sobrepastoreo (alta carga animal por hectárea), las pocas o nulas prácticas de conservación de pastizales, y ambientales, como fenómenos climáticos (FAO, 2005, 2008; CENEPRED, 2018). El resultado evidente es la presencia de pastos de baja calidad, y teniendo en cuenta que los pastos naturales son la principal fuente de alimento de las alpacas, encontramos bajos índices en la productividad de los animales y en consecuencia se incrementan los problemas en la sanidad de los animales, mayor incidencia de enfermedades, bajas tasas de natalidad, mayor mortalidad de crías y retraso en el crecimiento de los animales (FAO, 2005; Ho, 2017).

## 1.6. Mortalidad y morbilidad en las crías de alpaca

La mortalidad de las crías constituye uno de los primordiales limitantes en la crianza de alpacas (FAO, 2005; Martín *et al.*, 2010). Las tasas de mortalidad reportadas son variables, la tasa reportada fue de 2.1 % en un estudio realizado en llamas y alpacas durante el periodo antes del

destete realizado en Estados Unidos (Sharpe *et al.*, 2009). En Reino Unido la mortalidad en alpacas fue de 3.5 a 6.9 %, las alpacas menores de seis meses y mayores a 10 años presentaron mayores tasas de mortalidad (Davis *et al.*, 1998). En Sudamérica se han reportado tasas de mortalidad más elevadas, las tasas reportadas van desde 16% y pueden llegar a ser mayores del 50% (FAO, 2005; Ampuero *et al.*, 2014; Hurtado y Anchapuri, 2017). Los animales menores de 6 meses tienen tasas de mortalidad más altas (Davis *et al.*, 1998; Sharpe *et al.*, 2009).

Determinar las causas de mortalidad en crías de alpacas ha sido motivo de investigación durante varios años (Rosadio, 2010). La mortalidad de crías por causas infecciosas es de gran preocupación, debido que son un factor limitante en la crianza de ellas (Rosadio, 2010). Dentro de las causas infecciosas de mayor presentación en crías son los procesos entéricos, respiratorios y las septicemias (Ameghino y DeMartini, 1991; Mamani *et al.*, 2009; Martín *et al.*, 2010).

Entre los procesos respiratorios, las neumonías de presentación aguda son de frecuente presentación en los primeros meses de vida de los animales. La mortalidad causada por neumonía en el altiplano peruano se encuentran entre 2 y el 27% (Martín *et al.*, 2010). Pese a su elevada frecuencia, los agentes etiológicos relacionados aun no son descritos, se sospecha de una posible asociación de agentes virales (Virus Respiratorio Sincitial y Parainfluenza tipo 3) y bacterianos (*P. multocida* y *M. haemolytica*) (Cirilo *et al.*, 2012).

Los procesos entéricos están asociados con la aparición de diarreas (Fowler, 1996). La presentación de diarreas representa un alto potencial de mortalidad entre las crías (Zacari y Pacheco, 2005). La diarrea es la morbilidad más común presentada en crías de alpacas (Sharpe *et al.*, 2009; Björklund, 2014). Pueden ser de etiología multifactorial incluyendo factores de manejo, nutricionales y diversos patógenos (Whitehead y Anderson, 2006). En un estudio se encontró que entre los casos fatales ocasionados por diarreas por lo menos un virus, bacteria o parásito están involucrados y en gran porcentaje de animales se presentaban los tres tipos de patógenos (Lucas *et al.*, 2016; Rojas *et al.*, 2016).

La enteritis infecciosa neonatal constituye un conjunto de procesos que cursan con diarreas, deshidratación, emaciación del animal y en ocasiones puede causar la muerte de las crías (Martín *et al.*, 2010). La aparición de la diarrea neonatal está asociada a varios patógenos, entre los principales patógenos se encuentran el rotavirus, coronavirus, *Clostridium* spp., *E. coli*, *Salmonella*, *Giardia* spp., *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. y nemátodos (Rosadio y Ameghino, 1994; Cebra *et al.*, 2003; Whitehead y Anderson, 2006; Whitehead, 2009; Martín *et al.*, 2010; López *et al.*, 2011; Rosadio *et al.*, 2012; Lucas *et al.*, 2016; Rojas *et al.*, 2016).

La enterotoxemia es el proceso entérico de mayor presentación en crías durante la primera semana de vida (Palacios *et al.*, 2005; Moya y Torres, 2008; Mamani *et al.*, 2009; Martín *et al.*, 2010). El agente desencadenante de la enfermedad es *Clostridium perfringens* tipos A y C (Martín *et al.*, 2010; Rosadio *et al.*, 2012). La enterotoxemia es la principal causa de mortalidad en las crías (Rosadio *et al.*, 2012). Afecta la productividad de los rebaños debido a que ocasiona la muerte de gran número de crías, en consecuencia se agudiza el lento crecimiento de la población y disminuye la producción de fibra y carne (DESCO, 2006). La presentación de la enfermedad es cíclica, en un año puede tener tasas de mortalidad de 15% a 20% y al siguiente año la tasa de mortalidad se incrementa a un 40 % o 50% (Martín *et al.*, 2010).

La colibacilosis es frecuentemente encontrado como causa de diarreas y muerte en crías (Lucas *et al.*, 2016). La diarrea presente en la colibacilosis puede ser de naturaleza secretoria o hemorrágicas, dependiendo de la cepa de *E. coli* (Rosadio *et al.*, 2012). Las cepas de *E. coli* asociadas a la infección son cepas potencialmente entero patogénicas (EHEC) con genes productores de toxina shiga (*stx*) y cepas potencialmente entero hemorrágicas (EPEC) con genes productores de las lesiones de A/E adherencia y borrado (*aea*) (Rosadio *et al.*, 2012). Se ha encontrado que *E. coli* y *Salmonella* son causantes de diarreas en crías, solas o en asociación (Carhuapoma *et al.*, 2019).

Las enfermedades parasitarias generalmente no son causa de mortalidad en las crías, sin embargo si causan elevada morbilidad (FAO, 2005). Las crías con enfermedades parasitarias corren más riesgo de desarrollar infecciones de otros agentes patógenos y una infección secundaria podría causar la muerte de las crías (Fowler, 1996). Los parásitos protozoarios son los que infectan con frecuencia los camélidos sudamericanos (Ballweber, 2009).

La eimeriosis afecta a las crías durante los primeros meses de vida, presentándose en más del 30% de las crías (Rodríguez *et al.*, 2012). La presencia de *Eimeria* spp. ha sido reportado en casos de animales que presentan diarreas y también asociado a mortalidad (Palacios *et al.*, 2005; Rosadio *et al.*, 2012). Se han reportado seis especies de *Eimeria*, de ellos cuatro son de presentación común (*E. punoensis*, *E. alpaca*, *E. lamae*, *E. macusaniensis*) y dos se han reportado en menor frecuencia (*E. ivitaensis* y *E. peruviana*) (Ballweber, 2009). Las infecciones con *E. lamae* y *E. macusaniensis* son de presentación más frecuente, también es común la presentación de varias especies de *Eimeria* en un mismo individuo (Palacios *et al.*, 2006; Rodríguez *et al.*, 2012). La presencia de coccidias también puede estar asociado a la presencia de otros agentes infecciosos, se ha encontrado a *Eimeria macusaniensis* en animales muertos con



enterotoxemia, lo que podría representar que la presencia de coccidiosis podría ser un factor que facilita la infección con *Clostridium* u otro patógeno (Rosadio *et al.*, 2012).

Otras infecciones parasitarias cuya importancia aún no está dilucidada son *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp (Rosadio *et al.*, 2012). *Cryptosporidium parvum* puede estar asociado a la presentación de diarreas en crías de alpacas, especialmente en crías menores de 3.5 meses de edad (Ballweber, 2009). Las infecciones con *Cryptosporidium* presentan un amplio rango de signos clínicos, pudiendo ocasionar desde una infección asintomática hasta una diarrea severa y mortalidad principalmente en las crías (Santín, 2013). Las tasas de infección son variables, encontrándose regiones con tasas desde 2% hasta mayores del 25% en crías menores de 4 semanas de edad (Whitehead y Anderson, 2006; Lòpez-Urbina *et al.*, 2009; Santín, 2013).

La importancia de *Giardia* en los camélidos sudamericanos aún se desconoce (Ballweber, 2009). En diversos estudios se han identificado la presencia de quistes de *Giardia* en heces de animales adultos y las crías de alpacas. Un estudio encontró que 3.4% de animales eran positivos a *G. duodenalis*, principalmente en crías entre 1 y 4 meses de edad (Rulofson *et al.*, 2001). Cebra y colaboradores (2003), encontraron que el 18% de las crías de 10 a 120 días de edad eran positivos a *Giardia* spp. En Ohio, de 58 casos clínicos de alpacas con diarrea menores a 4 meses de edad se encontró que el 33% de los animales era positivo a *Giardia* spp. (Whitehead y Anderson, 2006). En Maryland se encontró *Giardia* Ensamblaje A en un 4,9 % de alpacas (3 de 61 animales), y ningún animal con el Ensamblaje E; dicho hallazgo se realizó en animales con y sin diarrea (Trout *et al.*, 2008). En Australia se realizó un estudio de 1421 muestras fecales de alpacas Huacaya que se agruparon en 81 grupos que representaba la granja de origen, donde el número de muestras positivas fueron 6 granjas (7.4%). La baja prevalencia en este estudio se atribuye a la forma de agrupar las muestras, así como diversos factores ambientales tales como la estación del año y la condición de las pasturas (Koehler *et al.*, 2018).

En el Perú el primer estudio realizado fue con 274 muestras fecales, hallándose 50 % de animales positivos a *Giardia* spp., además de encontrarse 67 muestras del ensamblaje A y 24 de ensamblaje E (Gómez-Couso *et al.*, 2012). Otro estudio se realizó en tres regiones geográficas del Perú (Huancavelica, Cuzco y Puno), donde se utilizaron 352 muestras fecales de alpacas hasta 30 días de edad y alpacas madres mayores a 2 años, encontrándose de todas las muestras analizadas, 46 positivas a *Giardia*; también se encontró presencia del ensamblaje A y E (Gómez *et al.*, 2014).

## 2. *Giardia duodenalis*

### 2.1. Introducción

El parásito protozoario *Giardia* spp. es un microorganismo unicelular eucariota comúnmente asociado a enfermedades diarreicas en el mundo (Adam, 1991; 2001; Lee *et al.*, 2002). Infecta el tracto gastrointestinal de una amplia gama de especies de animales silvestres y domésticas, incluyendo a los seres humanos (Cacciò *et al.*, 2018). Se estima que anualmente existen 280 millones de infecciones por *Giardia duodenalis* en humanos (Ali y Hill, 2003). El año 2004 fue incluida como parte de la iniciativa de Enfermedades Desatendidas de la OMS (Savioli *et al.*, 2006; Ankarklev *et al.*, 2010).

Fue descubierto el año de 1681 por el microscopista holandés Antony van Leeuwenhoek, mientras se encontraba analizando sus propias heces diarreicas (Dobell, 1920; Adam, 1991; Adam, 2001). Años más tarde, fue descrita con mayor detalle por Lambl en 1859, quien lo clasificó como una especie del género *Cercomona* denominándola *Cercomonas intestinalis* (Lambl, 1859; Dobell, 1920). La primera vez que se tomó el nombre de *Giardia*, como género, fue durante los años de 1882 y 1883 donde Kunstler describió un organismo presente en renacuajos (Adam, 2001).

Inicialmente *Giardia* recibió muy poca atención, puesto que era considerado como un agente comensal en humanos (Ortega y Adam, 1997). No fue hasta 1914, durante el desarrollo de la primera Guerra Mundial, cuando se descubrió que había un posible pasaje de los quistes de *Giardia* en soldados que presentaban diarrea; además que los síntomas desarrollados eran similares al administrarse en animales de laboratorio. En el año de 1921 se sugirió como un posible agente patógeno y en 1926 Reginal Miller demostró de manera concluyente que algunos niños infectados con el parásito sufrían de problemas de malabsorción, mientras otros no presentaban síntomas. Fue hasta 1954 que el médico Robert Rendtorff vinculó al parásito con la enfermedad (Cox, 2002).

### 2.2. Taxonomía

La clasificación taxonómica de *Giardia* ha sido muy debatida durante muchos años, la clasificación basada únicamente en la morfología, clasificaba a *Giardia* dentro del orden

Diplomonadida, filo Sarcocystophora, clase Zoomastogophora (Adam, 1991). La clasificación actual según Cavalier-Smith (2003) es la siguiente:

Reino: Protista

Sub reino: Archezoa

Filo: Metamonada (Grassé, 1952) (Cavalier-Smith, 2003)

Subfilo: Trichozoa (Cavalier-Smith & Chao, 1996)

Superclase: Eopharyngia (Cavalier-Smith, 1993) (Cavalier-Smith, 2003)

Clase: Trepominadea/Trepomonadae (Cavalier-Smith, 1993) (Cavalier-Smith, 2003)

Subclase: Diplozoa (Dangeard, 1910) (Cavalier-Smith, 2003)

Orden: Giardiida (Cavalier-Smith, 2003).

Familia: Giardiidae (Cavalier-Smith, 2003).

### 2.2.1. Especies

Las primeras descripciones de *Giardia* se basaron en la suposición de una especie diferente para cada hospedador en consecuencia se sobreestimó el número de especies. Las descripciones posteriores basadas en las características morfológicas detectadas por microscopía óptica probablemente hayan subestimado las diferencias entre aislamientos, cepas o especies (Adam, 2001).

Las especies reconocidas dentro del género *Giardia* eran seis, *Giardia muris* (presente en roedores), *Giardia microti* (presente en ratas almizcleras), *G. psittaci* (periquitos), *G. ardeae* (Garzas azules grandes), *G. agilis* (anfibios) y *G. duodenalis* como la única especie que causa infección humana y un amplio rango de mamíferos (Heyworth, 2016) (Cuadro 1).

Actualmente se han descrito dos nuevas especies de *Giardia*, una especie encontrada en marsupiales australianos denominada como *G. peramelis* (Cacciò *et al.*, 2018; Ryan *et al.*, 2019). La especie de *G. peramelis* antes conocida “genotipo quenda” se ha reportado como una especie única, los análisis filogenéticos lo colocaron externo a las especies *G. duodenalis* y *G. microti* (Hillman *et al.*, 2016). En el año 2018 se reportó la presencia de una especie de *Giardia* en hámster, los trofozoítos de esta especie eran más grandes y robustos en comparación a las demás especies y filogenéticamente era distinta a las otras especies pero estaba estrechamente

relacionada a *G. muris*, denominándola *G. cricetidarum* (Lyu *et al.*, 2018; Thompson y Ash, 2019) (Cuadro 2).

**Cuadro 1.** Especies reconocidas dentro del género *Giardia* 1952-2007\*

Espece	Hospedador	Características morfológicas	Dimensiones del trofozoíto (largo/ancho)
<i>G. duodenalis</i>	Mamíferos domésticos y silvestres, incluyendo humanos	Trofozoíto en forma de pera, disco ventral a la mitad del cuerpo	12-15 $\mu\text{m}$ /6-8 $\mu\text{m}$
<i>G. agilis</i>	Anfibios	Trofozoíto alargado	20-30 $\mu\text{m}$ /4-5 $\mu\text{m}$
<i>G. muris</i>	Roedores	Trofozoíto redondo	9-12 $\mu\text{m}$ /5-7 $\mu\text{m}$
<i>G. ardeae</i>	Aves	Trofozoíto redondeado, prominente disco ventral	~10 $\mu\text{m}$ /~6.5 $\mu\text{m}$
<i>G. psittaci</i>	Aves	Trofozoíto en forma de pera, ausencia de flagelo ventro-lateral	~14 $\mu\text{m}$ /~6 $\mu\text{m}$
<i>G. microti</i>	Roedores	Trofozoíto similar a <i>G. duodenalis</i>	~12-15 $\mu\text{m}$ /6-8 $\mu\text{m}$

\*Monis *et al.*, 2009

### 2.2.2. Ensamblajes o genotipos

*G. duodenalis* presenta 8 diferentes ensamblajes o genotipos morfológicamente idénticos (A-H) (Cotton *et al.*, 2011; Heyworth, 2016; Ortega-Pierres *et al.*, 2018). Los ensamblajes A y B tienen un amplio rango de hospedadores, pueden infectar a humanos y otros mamíferos (Xiao y Fayer, 2008). Los otros ensamblajes (C-H) tienen hospedadores específicos (Yaoyu y Xiao, 2011). Los ensamblaje C y D infectan perros, ensamblaje E infecta a los mamíferos ungulados, el ensamblaje F infecta gatos, el ensamblaje G que infecta a roedores (Xiao y Fayer, 2008; Cacciò *et al.*, 2018). El ensamblaje H presente en vertebrados marinos como ballenas, delfines, focas y aves playeras (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2010).

Dentro de los ensamblajes A y B se encontró variación intraensamblajes en base al genotipado multilocus de SSU ARNr,  $\beta$ -giardina (bg), triosa fosfato isomerasa (tpi), glutamato deshidrogenasa (gdh) y análisis de polimorfismos de un solo nucleótido (Lalle *et al.*, 2005; Cacciò *et al.*, 2018). Análisis en base a isoenzimas y análisis de la secuencia de ADN, han demostrado la existencia de dos grupos dentro del ensamblaje A (AI y AII) y dos dentro del ensamblaje B (BIII y BIV), está claro que existe más variabilidad entre estos (Cacciò y Ryan, 2008).

Actualmente pese a que *G. duodenalis* es la única especie presente en humanos y otros mamíferos, se considera como un complejo de multiespecies (Cacciò y Ryan, 2008). Se ha propuesto a *G. duodenalis* para el ensamblaje A, *G. enterica* para el ensamblajes B, *G. canis* para los ensamblajes C y D, *G. bovis* para el ensamblaje E, *G. cati* para el ensamblaje F y *G. simondi* para el ensamblaje G (Yaoyu y Xiao, 2011).

**Cuadro 2.** Grupos genéticos de *Giardia duodenalis* y especies de *Giardia* spp.\*

Especie	Ensamblaje	Hospedador
<i>G. duodenalis</i>	A	Humanos y otros primates, perros, gatos, rumiantes, roedores y otros mamíferos silvestres
<i>G. entérica</i>	B	Humanos y otros primates, perros, gatos y otros mamíferos silvestres
<i>G. canis</i>	C/D	Perros y otros canidos
<i>G. bovis</i>	E	Bovinos y otros ganados.
<i>G. cati</i>	F	Gatos
<i>G. simondi</i>	G	Ratas
<i>G. ?</i>	H	Mamíferos marinos
<i>G. peramelis</i> <sup>a</sup>	?	Marsupiales (Quenda, bandicoot)
<i>G. cricetarum</i> <sup>b</sup>		Hámster
<i>G. microti</i>		Roedores
<i>G. psittaci</i>		Aves

<i>G. ardeae</i>	Aves
<i>G. muris</i>	Roedores
<i>G. agilis</i>	Anfibios

\*Modificado de Thompson (2012, 2019).

<sup>a</sup> Propuesto Hillman et al., 2016

<sup>b</sup> Propuesto Lyu et al., 2018

### 2.3. Biología

*Giardia* es descrito como un organismo con características típicas de una célula eucariota, sin embargo, carece de ciertos orgánulos o lo presentan de forma primitiva. Debido a su naturaleza primitiva, así como el análisis realizado a la filogenia de la subunidad menor del ARNr, que se ha propuesto que *Giardia* spp. es uno de los eucariotas más primitivos (Gillin *et al.*, 1996; Adam, 1991, 2000; Adam, 2001).

*Giardia* carece de mitocondrias y los componentes de la fosforilación oxidativa, debido a eso poseen metabolismo principalmente anaeróbico (Adam, 2001). *Giardia* carece de enzimas antioxidantes y utiliza un sistema de transporte de electrones a base de hierro, es muy sensible al estrés oxidativo (Ortega-Pierres *et al.*, 2018). En la actualidad se han descubierto genes mitocondriales como la Chapeonina y la ARN sintetasa de transferencia-valyl lo que llevo a dos teorías, la primera es que poseía mitocondrias o un progenitor endosimbiótico y lo ha perdido con el tiempo. La segunda que nunca tuvo mitocondrias si no tenía endosimbiontes de fuentes alfa-proteobacterianos (Lane y Lloyd, 2002; Ali y Hill, 2003). Otros orgánulos ausentes en *Giardia* son los peroxisomas y los trofozoítos carecen de un complejo de Golgi identificable; sin embargo, durante el procesos de enquistación si se encuentra un complejo (Lane y Lloyd, 2002).

Posee dos núcleos que se ha evidenciado que son casi idénticos en tamaño y cantidad de material genéticos, ambos son transcripcionalmente activos (Lloyd y Wallis, 2001; Cacciò *et al.*, 2018). Durante muchos años se creyó que los núcleos carecían de nucléolos, sin embargo se identificó un compartimiento nucleolar en cada núcleo, además de localizar varios marcadores nucleares (Adam, 2001). El contenido de ADN se organiza en cinco cromosomas por núcleo (Lloyd y Wallis, 2001). El ADN tiene una frecuencia promedio de pares de bases de 49% G+C (McArthur *et al.*, 2000).

### 2.3.1. Morfología

#### 2.3.1.1. Trofozoíto

Los trofozoítos de *Giardia* tienen una forma característica de pera, presentan dos superficies una plana y una redondeada (Gillin *et al.*, 1996). Miden aproximadamente de 12 a 15  $\mu\text{m}$  de longitud, 5 a 9  $\mu\text{m}$  de ancho y de 1 a 2  $\mu\text{m}$  de espesor (Adam, 2001; Carranza y Lujan, 2010).

La superficie dorsal (cóncavo) no presenta estructuras aparentes, mientras la superficie ventral (convexo) está ocupado mayormente por el disco ventral (Gillin *et al.*, 1996). Presenta 4 pares de flagelos con disposición bilateral, que tienen su origen en los cuerpo basales, anteriores a los núcleos y atraviesan el cuerpo celular para emerger de la posición característica anterior, posterior lateral, caudal y ventral (Adam, 1991; Gillin *et al.*, 1996; Adam, 2001). Los flagelos realizan un movimiento característico del parásito, una locomoción anterior en una trayectoria helicoidal distintiva (Gillin *et al.*, 1996).

El citoesqueleto del trofozoíto es complejo, está formado por el cuerpo mediano, flagelos y el disco ventral (Adam, 1991; Adam, 2001). Sirve como sostén para el mantenimiento de la forma parasitaria y la inserción de los flagelos (Carranza y Lujan, 2010).

El disco ventral es característico de la especie y fundamental en la supervivencia del parásito (Gillin *et al.*, 1996). Es encargado de la fijación mecánica en la superficie intestinal del hospedador (Adam, 1991; Adam, 2001). Comprende aproximadamente dos tercios de la superficie del trofozoíto (Thompson *et al.*, 1993). El disco ventral es cóncavo y se estrecha en los bordes para formar una cresta lateral (Gillin *et al.*, 1996). La cresta lateral tiene gran importancia para la fijación, esta estructura se proyecta y se une a la superficie de la mucosa intestinal (Chavez y Martinez-Palomo, 1995).

El disco ventral está constituido por una red de microtúbulos que forman la base de los microcribones (también llamadas cintas dorsales) y estos últimos están formados por conjuntos proteicos entre los que se pueden encontrar las giardinas. Las giardinas constituyen proteínas de hélice en espiral alfa de aproximadamente 29 a 38 kDa de tamaño, constituyen casi el 20% de las

proteínas del citoesqueleto y son específicas de las especies de *Giardia* (Adam, 1991; Gillin *et al.*, 1996; Adam, 2001).

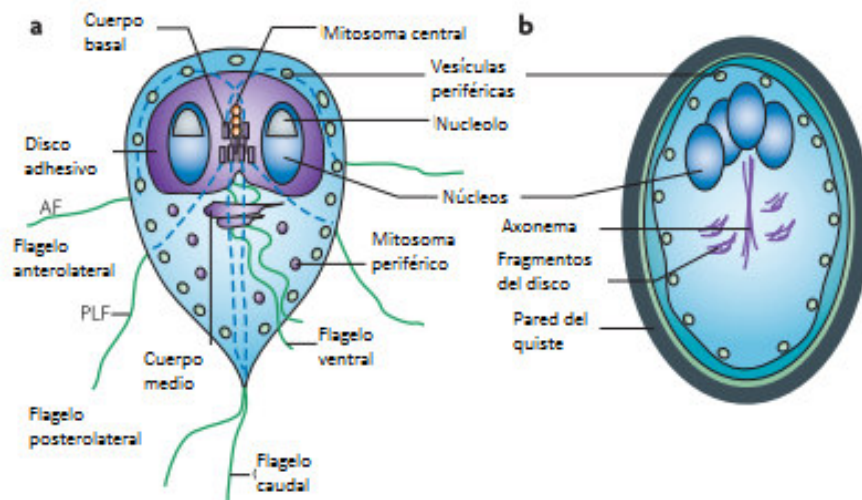
Los flagelos participan en la motilidad parasitaria mas no tienen función en la adhesión. Adicionalmente tiene participación durante el proceso del desenquistamiento (Adam, 1991; Adam, 2001). Los cuerpos medianos son el principal centro organizador de microtúbulos (Gillin *et al.*, 1996). Los cuerpos medianos son exclusivos de las especies de *Giardia*, compuesto en gran parte por microtúbulos, aún no se conoce una función específica (Thompson *et al.*, 1993; Gillin *et al.*, 1996).

#### 2.3.1.2. *Quiste*

Los quistes de *Giardia* son muy resistentes a las condiciones medio ambientales, en condiciones favorables de humedad y temperatura pueden permanecer viables hasta 2 meses (Ortega y Adam, 1997; Thompson y Monis, 2012). Los quistes presentan de forma redondeada a ovalada, miden aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  por 7 a 10  $\mu\text{m}$  de diámetro y están cubiertos por una pared de 0.3 a 0.5  $\mu\text{m}$  de espesor. La pared está compuesta por dos capas, una capa filamentosa externa y una capa membranosa interna (Adam, 2001; Ali y Hill, 2003; Carranza y Lujan, 2010).

La pared del quiste está compuesta de carbohidratos, en forma de polímeros de N-acetilgalactosamina (Jarroll *et al.*, 1989) y proteínas de la pared del quiste (CWP). El citoplasma del quiste contiene dos o cuatro núcleos, dependiendo de la etapa de maduración; los flagelos contraídos y las porciones fragmentadas del disco ventral, así como axonemas y cuerpos medianos (Ortega y Adam, 1997; Carranza y Lujan, 2010).





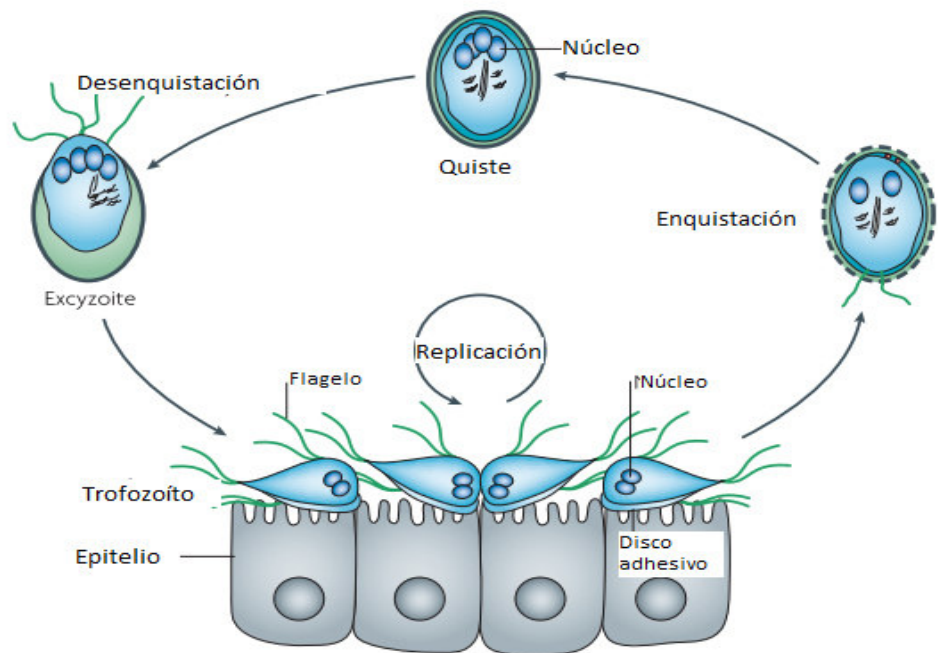
**Figura 1.** Morfología del trofozoíto y quiste de *Giardia* spp. (Ankarklev, 2010).

## 2.4. Ciclo biológico

*Giardia* presenta un ciclo de vida simple que consta de dos etapas, el quiste (forma infectiva) que es capaz de infectar al hospedador y es resistente a factores medioambientales. El trofozoíto (forma vegetativa) responsable de la colonización de la luz intestinal y la aparición de los signos clínicos (Adam, 2001; Eckmann, 2003).

La infección inicia con la ingestión del quiste comúnmente junto con agua contaminada y con menor frecuencia con alimento contaminado y por contacto directo fecal-oral (Guillin *et al.*, 1987; Adam, 2001). Una vez los quistes llegan al estómago del hospedador y en exposición al ácido gástrico se inicia la desenquistación, se postula que el pH estomacal es el estímulo para la diferenciación de quistes a trofozoítos, los trofozoítos no emergen hasta llegar al intestino delgado. La diferenciación celular que se da es muy rápida, y algunos autores plantean la formación de una etapa intermedia denominada excitozoíto. Los trofozoítos emergen y se dividen por fisión binaria rápidamente en trofozoítos que se adhieren y colonizan el intestino delgado, principalmente el duodeno y el yeyuno proximal. Los trofozoítos utilizan sus flagelos para alcanzar la pared intestinal, penetran la capa glandular y se unen a las células epiteliales intestinales a través del disco ventral. Cuando los trofozoítos llegan a nivel de las secciones posteriores del yeyuno se convierten en quiste (Guillin *et al.*, 1987; Ortega y Adam, 1997; Eckmann, 2003a; Sulaiman y Cama, 2006; Ankarklev *et al.*, 2010). Los quistes se eliminan junto

con las heces, y según la mayoría de autores los quistes son inmediatamente infectivos; sin embargo se ha encontrado que algunos quistes pasan por un proceso de maduración de aproximadamente 7 días antes de ser infectivos (Thompson *et al.*, 1993; Thompson y Monis, 2012).



**Figura 2.** Ciclo biológico de *Giardia* spp. (Ankarklev *et al.*, 2010).

## 2.5. Diferenciación celular

### 2.5.1. Enquistación

La enquistación es un proceso en que se da la transformación del trofozoíto en un quiste no móvil (Ankarklev *et al.*, 2010). La enquistación es la formación de una pared resistente para permitir la sobrevivencia del parásito en el medio ambiente y así se garantice la transmisión a un nuevo hospedador (Carranza y Luján, 2010). Los factores desencadenantes para la diferenciación a quiste aún están en debate, sin embargo se ha demostrado que la inanición de colesterol es uno de los factores más importantes para la enquistación (Luján *et al.*, 1996; Adam, 2001; Luján, 2006; Ankarklev *et al.*, 2010; Carranza y Luján, 2010).

El proceso de enquistación consta de dos fases, una temprana y una tardía (Ankarklev *et al.*, 2010). Antes que inicie el proceso es necesario la recepción de estímulos específicos al núcleo celular, para la expresión de genes específicos de la enquistación, entre los estímulos el más importante es la privación de colesterol (Carranza y Luján, 2010). En la fase temprana, los flagelos comienzan a internalizarse, ocurre la fragmentación del disco adhesivo y en consecuencia los trofozoítos pierden la capacidad de adherirse a las células, hay un cambio gradual de la forma del trofozoíto haciéndose redondeados, el parásito ingresa en latencia metabólica (Ankarklev *et al.*, 2010; Carranza y Luján, 2010). El primer cambio estructural de la enquistación es la formación de las Vesículas Específicas de la Enquistación (ESV) presentes en el citoplasma de los trofozoítos enquistados (Carranza y Luján, 2010). Las ESV son las encargadas del transporte de las proteínas de la pared del quiste (Luján *et al.*, 1996; Ankarklev *et al.*, 2010). A nivel nuclear hay replicación del ADN, que luego sale del ciclo celular en la etapa G2, dan células que contienen dos núcleos tetraploides (Ali y Hill, 2003; Ankarklev *et al.*, 2010).

En la etapa tardía los núcleos se dividen en cuatro núcleos diploides y el ADN se replica una vez más, generando así un quiste con cuatro núcleos con ploidía de 16 n (Ali y Hill, 2003; Ankarklev *et al.*, 2010). El ensamblaje de la pared del quiste ocurre en la fase tardía, esto mediante la exocitosis de las ESVs, aún se desconoce el estímulo específico para este proceso (Luján *et al.*, 1996; Carranza y Luján, 2010). Al finalizar el proceso de enquistación se obtiene un quiste inmóvil, cuya porción externa es redondeada y filamentosa. La porción interna incluye dos trofozoítos con cuatro núcleos que aún no han completado la citocinesis (Adam, 2001).

### 2.5.2. Desenquistación

La desenquistación es el proceso mediante el cual ocurre la liberación de los trofozoítos contenidos en los quistes parasitarios (Carranza y Lujan, 2010). Inicia en el estómago, donde la exposición al ácido gástrico (pH ácido) constituye el estímulo inicial para la desenquistación y finaliza en el intestino delgado proximal, donde hay exposición a las proteasas pancreáticas y al pH ligeramente alcalino del intestino, estos estímulos facilitan la liberación de los trofozoítos (Ankarklev *et al.*, 2010; Carranza y Lujan, 2010).

La desenquistación es un proceso rápido y altamente coordinado entre los cambios en el citoesqueleto y el núcleo (Gillin *et al.*, 1996). Los flagelos son los primeros en emerger a través de una abertura ubicada en uno de los polos del quiste (Adam, 2001), luego sale el cuerpo del

excitozoito (Ankarklev *et al.*, 2010; Carranza y Luján, 2010). El excitozoito es una etapa intermedia que tiene forma ovalada y cuatro núcleos, los excitozoitos al ser liberados se dividen rápidamente (de 15 a 30 minutos), luego de eso son sometidos a una división celular completa dando así cuatro trofozoítos binucleados (Ankarklev *et al.*, 2010; Carranza y Luján, 2010).

Los flagelos y el disco ventral juegan un rol importante en el proceso de enquistación. Los 8 flagelos del trofozoíto enquistado permanecen intactos, esto es importante ya que gracias a los movimientos flagelares es que se logra la liberación del trofozoíto. El disco ventral, se encuentra fragmentado dentro del quiste y durante la enquistación se ensambla rápidamente para convertirse en una estructura funcional (Carranza y Luján, 2010).

## 2.6. Ciclos de transmisión

### 2.6.1. Humanos

Las formas comunes de transmisión de *G. duodenalis* en humanos es a través de la ingestión accidental de quistes en agua o alimentos contaminados. Es uno de los patógenos más comúnmente asociados en los brotes de enfermedades diarreicas transmitidos por el agua (Adam, 2001). También se transmite de forma directa fecal-oral, este medio de transmisión es común en centros de cuidado infantil (Ortega y Adam, 1997; Kalyoussef y Goldman, 2010).

La población más susceptible a la infección con *G. duodenalis* son los niños en rango de 1 a 9 años de edad (Adam, 2001; Xiao y Fayer, 2008). Los niños, ancianos e individuos inmunocomprometidos son los más afectados (Cacciò *et al.*, 2018). Las tasas de infección en niños varía dependiendo a diversos factores, se han encontrado tasas de infección hasta del 50% en niños de guarderías, muchos de los niños permanecen asintomáticos y pueden propagar los quistes entre los miembros del hogar (Huang y White, 2006). Los niños dentro de centros de cuidado infantil tienen el doble de incidencia de diarreas en comparación a los niños mantenidos en el hogar (Thompson, 2000).

Los factores de riesgo asociados a la infección con *G. duodenalis* son los viajes a zonas endémicas, natación en aguas superficiales, tener contacto con agua dulce, beber agua del grifo y el consumo de verduras frescas como la lechuga (Jokipii, *et al.*, 1985; Stuart *et al.*, 2003). El tener contacto con niños también constituye un factor de riesgo (Hunter y Thompson, 2005). Se debe resaltar el papel del saneamiento y las prácticas de higiene personal como factores de riesgo

(Hunter y Thompson, 2005; Huang y White, 2006). Otro factor asociado a la infección es la concentración peridomiciliaria de animales domésticos, se ha evidenciado que niños que vivían en hogares con alta concentración peridomiciliaria de animales tenían de dos a cinco veces más posibilidades de infectarse en comparación a los niños que no vivían en esos hogares (Ankarklev *et al.*, 2010).

La infección es más alta en países subdesarrollados, países con deficientes condiciones sanitarias e insuficientes medidas para el tratamiento del agua, las prevalencias presentes en estos países pueden ser mayores del 40%, en comparación a los países desarrollados que tienen prevalencias entre 2-5% (Ortega y Adam, 1997; Lujan, 2006; Thompson y Monis, 2012). La infección con *Giardia* presenta una relación inversa con el estado socioeconómico, los factores de riesgo asociados son una alta contaminación fecal ambiental, falta de agua potable, educación, vivienda inadecuada, hacinamiento, alta densidad poblacional y reservorios de infección animal (Thompson y Monis, 2012).

El ensamblaje B (19.5%-100%) es el más común en humanos en países subdesarrollados (Squire y Ryan, 2017). El porcentaje de infecciones mixtas varía del 2% a 21% y es mayor en países subdesarrollados (Cacciò y Ryan, 2008). Según estudios actuales hay una asociación de la diarrea profunda con pérdida de peso y fatiga con el ensamblaje B, mientras que los síntomas leves se asociaron con el ensamblaje A (Lloyd y Wallis, 2001; Thompson y Monis, 2012). Se informó una fuerte correlación entre la presentación de la diarrea intermitente con el ensamblaje A (específicamente AII) y la diarrea persistente o forma crónica con el ensamblaje B (Ali y Hill, 2003; Cacciò *et al.*, 2018).

### 2.6.2. Ganado

En los animales de granja la principal forma de transmisión es la directa fecal-oral (Underwood *et al.*, 2015). Los animales infectados con *Giardia* tienen más probabilidades de desarrollar diarrea (McAllister y Entz, 2005). La infección de las crías generalmente ocurre después que los terneros son transferidos de corral por primera vez (Lane y Lloyd, 2002). Hay una asociación positiva entre la infección con *G. duodenalis* y la edad de los animales (Coklin *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2017). La prevalencia de *Giardia* en el ganado vacuno es más alta en animales entre los 2 a 6 semanas de edad (McAllister *et al.*, 2005). La infección con *Giardia* es principalmente en animales jóvenes entre 5 y 10 semanas de edad, sin embargo las infecciones pueden ocurrir en animales de hasta 4 días de edad (Thompson, 2000). Los quistes de *Giardia* se

han podido encontrar en las heces de terneros que presentaban diarrea y también en terneros sin presencia de diarrea (Foster y Smith, 2009).

En el ganado las tasas de infección son muy variables, en varios estudios longitudinales se han observado tasas acumulativas de infección entre el 73% y el 100% (Thompson, 2000; Lane y Lloyd, 2002; Yaoyu y Xiao, 2011). El ganado generalmente está infectado con el ensamblaje específico del ganado, el ensamblaje E (Ey *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2017). También es susceptible a la infección de especies zoonóticas de *G. duodenalis*, hay un importante grupo de animales que se infectan con el ensamblaje A (Thompson, 2000; Ey *et al.*, 2007; Xiao y Fayer, 2008). Hay estudios donde se han encontrado infecciones de ganado vacuno con el ensamblaje B en mayor porcentaje que el ensamblaje E, específico de la especie (Coklin *et al.*, 2007). También se han encontrado infecciones mixtas con el ensamblaje A y B (Lalle *et al.*, 2005).

La infección de *G. duodenalis* en ovejas y cabras también ha sido ampliamente reportada. Se han encontrado prevalencias superiores al 20% en diversas regiones del mundo para ambas especies (Plutzer *et al.*, 2016; Coelho *et al.*, 2017). Los ensamblajes comunes en ovejas y cabras son el ensamblaje A y E, siendo el último más comúnmente encontrado (Xiao y Fayer, 2008; Yaoyu y Xiao, 2011; Li *et al.*, 2017). El ensamblaje B se ha encontrado con menor frecuencia, y su presencia se ha relacionado con signos clínicos entéricos graves en corderos entre 3 y 9 meses de edad (Cacciò y Ryan, 2008).

La infección de *G. duodenalis* en alpacas, ganadería originaria del Perú, ha sido poco estudiada. Las tasas de infección son muy variables, van desde 3% hasta tasas superiores al 30% (Rulofson *et al.*, 2001; Cebra *et al.*, 2003; Whitehead y Anderson, 2006; Trout *et al.*, 2008; Koehler *et al.*, 2018). En el Perú se ha reportado la tasa de infección más elevada, encontrándose en el 50% de los animales evaluados (Gómez-Couso *et al.*, 2012). Los ensamblajes presentes en esta especie son principalmente el ensamblaje A y en menor frecuencia el ensamblaje E (Gómez-Couso *et al.*, 2012, Gómez-Puerta *et al.*, 2014; Trout *et al.*, 2008).

### 2.6.3. Animales de compañía

En animales de compañía, principalmente en perros se han realizado diversos estudios de prevalencia donde se han encontrado tasas de infección muy variables desde 3% hasta tasas mayores del 50% (Yaoyu y Xiao, 2011; Plutzer *et al.*, 2018). Las tasas de infección varían dependiendo a diversos factores como la edad y el tipo de crianza. En perros bien cuidados las

tasas de infección (10%) son menores, en contraste a las tasas encontradas en perros criados en centros de refugio donde las tasas pueden ser de hasta el 100 %. Las tasas en cachorros son elevadas con porcentajes que van de 36% a 50% (Thompson *et al.*, 2008). En general las prevalencias son mayores en animales jóvenes, animales que viven en la calles y en refugios (Monis y Thompson, 2003).

En los perros los principales ensamblajes encontrados son C y D, específico de la especie; sin embargo también se han aislado los ensamblajes A y ocasionalmente el ensamblaje B (Xiao y Fayer, 2008; Ballweber *et al.*, 2010; Coelho *et al.*, 2017). Los sub ensamblajes encontrados son AII a pesar de ser considerado específico de humanos, AI, BIII y BIV (Coelho *et al.*, 2017).

En gatos se han reportado prevalencias que van desde 3.5% a 13.7% (Coelho *et al.*, 2017). Las infecciones en gatos mayormente son con el ensamblaje específico (F), aunque hay casos donde se encuentra el ensamblaje A (Xiao y Fayer, 2008; Ballweber *et al.*, 2010; Coelho *et al.*, 2017). La mono infección por el ensamblaje F de *G. duodenalis* se presenta en mayor porcentaje en los animales (55.8%), el ensamblaje A es el segundo de mayor frecuencia (38.7%). Sin embargo, también se han aislado muestras con el ensamblaje C, D, E y B con porcentajes menor al 3% (Ramírez-Ocampo *et al.*, 2017).

#### 2.6.4. Animales exóticos

En animales silvestres el ensamblaje A se ha encontrado con bastante frecuencia, el ensamblaje B se ha encontrado en un menor rango de hospedadores en las que se encuentran principalmente castores y ratas almizcleras, estas especies históricamente han sido fuente importante de contaminación de las fuentes superficiales de agua con *Giardia* (Andersen y Neumann, 2007; Xiao y Fayer, 2008). En especies marinas, los ensamblajes encontrados son A y B (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2008). La transmisión zoonótica inversa (zooantroponótica) es un factor importante que debe considerarse para comprender la epidemiología de las infecciones con *Giardia*, particularmente en la vida silvestre (Thompson y Ash, 2016).

#### 2.6.5. Transmisión a través del agua y potencial zoonótico

Los brotes de giardiasis transmitidos a través del agua son un importante problema de salud pública. Las aguas residuales humanas son una importante fuente de contaminación de cuartos de *Giardia*, las tasas de contaminación pueden ser mayores del 70% en muestras de agua

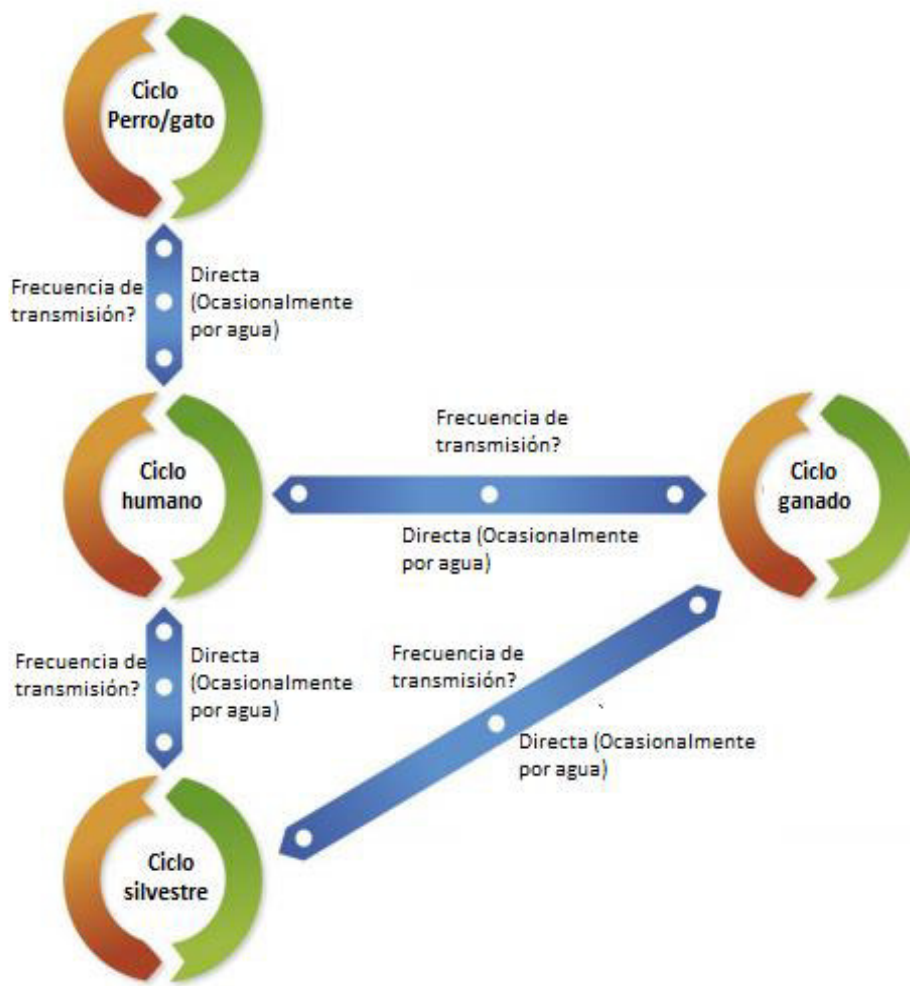
residuales que en agua sin tratar (Sulaiman y Cama, 2006). La transmisión de *Giardia* por el consumo de agua contaminada se puede estimar en un 40% de los casos reportados (Cacciò y Ryan, 2008). *Giardia* es de gran importancia en países subdesarrollados debido a que las aguas residuales a menudo se utilizan en las prácticas agrícolas (Lane y Lloyd, 2002).

Existen numerosos estudios que demuestran la infección de perros y gatos con ensamblajes zoonóticos (A y B) de *G. duodenalis*, pese a ello no hay evidencia que demuestre que haya una transmisión zoonótica (Hillman *et al.*, 2016). Existen pocos estudios que proporcionen datos sobre el posible potencial zoonótico de *G. duodenalis* en perros y gatos (Ballweber *et al.*, 2010). La primera evidencia epidemiológica de una supuesta transmisión zoonótica en *G. duodenalis* se realizó en la India, donde se encontró que los perros infectados con *Giardia* tenían el mismo ensamblaje que los humanos (Ensamblaje A y B) (Thompson y Monis, 2012). La primera vez que se encontró un ensamblaje C en humanos, fue en un paciente adulto sintomático, inmunocomprometido con cáncer de vejiga (Soliman *et al.*, 2011; Squire y Ryan, 2017). Los reportes de infecciones de humanos con el ensamblaje E y F son pocos y los resultados necesitan confirmación (Ballweber *et al.*, 2010). Numerosos estudios demostraron que las poblaciones de perros y gatos están infectados con especies zoonóticas de *Giardia*, pese a ello no se ha podido demostrar que la transmisión esté ocurriendo (Thompson y Ash, 2016).

En el ganado también se ha evidenciado presencia de ensamblajes zoonóticos. Estudios han demostrado que personas en continuo contacto con animales de granja tienen mayor riesgo de infectarse con *G. duodenalis* (Andersen y Neumann, 2007). Sin embargo, en los estudios realizados no hay evidencia de que ocurra una transmisión zoonótica (Ehsan *et al.*, 2015)

La presencia de ensamblajes zoonóticos en especies de vida silvestre ha sido considerada el principal factor para incriminar a *Giardia* como una especie zoonótica. Cada vez hay más evidencia que apoya que las infecciones por *Giardia* en especies de vida silvestres tienen su origen de fuentes domésticas, es decir son eventos zoonóticos inversos (Thompson y Monis, 2012).





**Figura 3.** Principales ciclos de transmisión de *G. duodenalis* en hospedadores mamíferos (Thompson y Monis, 2012).

## 2.7. Patogenia

La patogenia de *Giardia* aún no está totalmente comprendida, hay varias teorías en las que se incluyen el daño directo de los trofozoítos sobre el borde de cepillo de los enterocitos, la inducción de la respuesta inmune del huésped que resulta en la secreción y daño intestinal, y la alteración del contenido de bilis o la flora a nivel duodenal que contribuye con la diarrea (Ali y Hill, 2003).

Los trofozoítos que llegan al duodeno se unen mediante el disco adhesivo a la superficie de los enterocitos, se multiplica y coloniza principalmente a nivel de duodeno y la parte proximal del yeyuno, sin embargo las células intestinales se renuevan cada 3 a 5 días, causa por la que

*Giardia* tiene que adherirse y desprenderse del epitelio para evitar ser atrapado por el moco secretado por las células caliciformes intestinales y eliminado por los movimientos peristálticos (Lopez-Romero *et al.*, 2015). Los trofozoítos al unirse al borde de cepillo de los enterocitos provocan poca o ninguna reacción inflamatoria debido a que no invade la capa epitelial intestinal (Lopez-Romero *et al.*, 2015).

El parásito daña las microvellosidades del borde de cepillo y altera la zona de oclusión de unión estrecha de los enterocitos, como resultado hay un incremento de la permeabilidad intestinal y apoptosis en el epitelio de las células del intestino delgado (Ali y Hill, 2003; Huang y White, 2006; Thompson y Monis, 2012). *Giardia* secuestra nutrientes de la bilis, tales como la arginina y el zinc para sobrevivir, multiplicarse y evadir las defensas de huésped (Bartelt y Sartor, 2015). El gradiente osmótico resultante del incremento de la permeabilidad, la malabsorción de nutrientes y electrolitos atrae agua hacia la luz intestinal, lo que ocasiona distensión de la pared intestinal e incremento del peristaltismo y conduce al desarrollo de diarrea (Cacciò *et al.*, 2018).

En resumen, *Giardia* ocasiona disfunciones en el área de borde de cepillo, atrofia en las vellosidades y microvellosidades, inmadurez de los enterocitos, deficiencias de enzimas lumenales, malabsorción de electrolitos, grasa, D-xilosa, lactosa, vitaminas A y vitamina B12. La deficiencia de lactasa es la más común y ocurre en 20 a 40% de los casos (Ortega y Adam, 1997).

## 2.8. Presentación clínica

### 2.8.1. Humanos

En humanos ocasiona un amplio rango de síntomas, desde infecciones asintomáticas pasando por una enteritis aguda con diarrea hasta una presentación diarreica crónica con malabsorción (Isaac-Renton, 1991; Cotton *et al.*, 2011). La presentación de la enfermedad depende de muchos factores como la susceptibilidad del hospedador, el estado de desarrollo, nutricional e inmunológico del hospedador y la virulencia del patógeno (Huang y White, 2006; Cacciò y Ryan, 2008; Cotton *et al.*, 2011; Lopez-Romero *et al.*, 2015).

De todas las personas infectadas con *G. duodenalis*, se estima que de un 35 a 70% no presentan sintomatología ni muestra alguna evidencia de la infección y de un 5 a 15% de los casos son asintomáticos con presencia de eliminación de quistes (Huang y White, 2006). En personas inmuno competentes las infecciones tienden a ser autolimitantes (Cotton *et al.*, 2011).

La diarrea aguda autolimitante se presenta en 25 a 50% de las personas infectada con *G. duodenalis* (Huang y White, 2006). El periodo de incubación de los casos de giardiasis aguda es de 12 a 19 días, con un rango de 1 a 45 días (Jokipii y Hemilyauml, 1985; Adam, 1991; Ortega y Adam, 1997).

La diarrea es el síntoma que se presenta con mayor frecuencia, las heces suelen ser líquidas, malolientes y grasientas, también se observan flatulencias, calambres abdominales, náuseas, anorexia y pérdida de peso (Ortega y Adam, 1997; Huang y White, 2006; Cotton *et al.*, 2011; Cacciò *et al.*, 2018). Otro síntomas presentes con menor frecuencia son urticaria, estreñimiento, artritis reactiva, infección gástrica y patologías del tracto biliar (Ortega y Adam, 1997). Una de las principales características de la infección con *G. duodenalis* es la presentación de síntomas por tiempo prolongado de 7 a 20 días (Adam, 1991; Ortega y Adam, 1997; Huang y White, 2006).

La giardiasis crónica se presenta con malestar epigástrico y abdominal marcado, malestar profundo, lasitud, dolor de cabeza ocasional y marcada pérdida de peso (Huang y White, 2006). Hay una relación muy estrecha entre la mala absorción y el desarrollo de la giardiasis crónica, se han reportado mala absorción de grasa, vitaminas y D-xilosa en pacientes con diarrea crónica (Eckmann, 2003). Los efectos crónicos asociados a la giardiasis incluyen síndrome del intestino irritable, fatiga crónica, retraso en el crecimiento infantil, deterioro cognitivo y manifestaciones extra intestinales posiblemente relacionados a fenómenos inmunológicos como artritis reactiva, urticaria y manifestaciones inflamatorias oculares (Cotton *et al.*, 2011; Bartelt y Sartor, 2015).

La infección por *Giardia* en infantes está asociado con un deficiente función cognitiva y falta de crecimiento (Savioli *et al.*, 2006; Cacciò *et al.*, 2018). Los niños que están infectados con *Giardia* tiene mayor riesgo de retraso en el crecimiento en comparación a los niños no infectados (Cotton *et al.*, 2011).

### 2.8.2. Animales

*Giardia* en animales generalmente tiene una presentación asintomática; sin embargo se ha asociado a la aparición de diarreas y problemas en el crecimiento en crías de diversos rumiantes, perros y gatos (Yaoyu y Xiao, 2011). La aparición de la enfermedad clínica se asocia principalmente con animales jóvenes y en animales en situación de hacinamiento, el destete o la

deficiencia nutricional que pueden provocar estrés en el animal y exacerbar los efectos de la enfermedad. El signo más común es la aparición de diarreas que son autolimitantes, pueden ser intermitentes o continuas (Thompson *et al.*, 2008).

En los rumiantes la infección con *Giardia* es generalmente asintomática, pero también es asociado a la presentación de diarrea y problemas en el crecimiento (Thompson *et al.*, 2008). La giardiasis en rumiantes puede presentarse como una diarrea pastosa o acuosa, amarilla, en algunas ocasiones con presencia de sangre, con presentación continua o intermitente. Los animales presentan fiebre, deshidratación y depresión. En casos de presentación crónica hay pérdida de peso y debilidad (Underwood *et al.*, 2015). La infección en rumiantes puede ocasionar malabsorción de nutrientes y en consecuencia reducción de la ganancia de peso, la mortalidad es poco frecuente (Plutzer *et al.*, 2018). Ocasiona atrofia de las microvellosidades en terneros infectados (Foster y Smith, 2009). Las consecuencias observadas en los animales son un crecimiento deficiente, pérdida de peso, reducción en la productividad y en ciertos casos puede causar la muerte (Cacciò *et al.*, 2018).

## 2.9. Métodos de diagnóstico

### 2.9.1. Microscopía óptica

El método tradicionalmente usado es la visualización directa de las formas parasitarias en muestras fecales, es considerado el método estándar para el diagnóstico de la giardiasis (Hooshyar *et al.*, 2019). El diagnóstico se realiza mediante la visualización del quiste y con menor frecuencia de trofozoítos en las muestras fecales (Ortega y Adam, 1997).

Los trofozoítos pueden encontrarse en las heces de pacientes con diarrea aguda (Huang y White, 2006). Si se desea realizar la visualización de los trofozoítos, se tiene que preparar montajes húmedos, debido a que son muy frágiles y muy sensibles a los cambios osmóticos (Sulaiman y Cama, 2006).

Los quistes se pueden identificar mediante microscopía directa mediante un montaje húmedo, también hay varias técnicas de tinción que ayuda a una mejor visualización. Tinciones simples como Yodo, hematoxilina de hierro, Giemsa y Tricromo son ampliamente usados (Adeyemo *et al.*, 2018). Se recomiendan el uso de métodos de concentración (flotación y sedimentación) para mejorar la sensibilidad. También se ha demostrado que la técnica de

concentración de formalina-éter llega a detectar el 65.25% de las muestras positivas en comparación con el frotis de montaje húmedo directo que solo se detecta el 34.74% (Hooshyar *et al.*, 2019).

Por la naturaleza de la eliminación intermitente de quistes, es necesario la toma de tres muestras consecutivas, sin embargo se estima que alrededor del 30 % del total de infección no se llegan a identificar (Sulaiman y Cama, 2006). El examen de una sola muestra de heces permitirá el diagnóstico del 60-80% de las infecciones, dos muestras del 80 al 90% y si se examinan tres muestras será más del 90% de las infecciones (Hooshyar *et al.*, 2019). La microscopía directa es un método simple, de bajo costo y de alta especificidad, pero se requiere de personal capacitado de laboratorio (Huang y White, 2006; Sulaiman y Cama, 2006).

### 2.9.2. Pruebas inmunológicas

Actualmente existen diversos métodos de detección de antígenos (Ag) y anticuerpos (Ac). Pruebas de detección de Ag por la técnica de inmunoensayos ligados a enzimas (ELISA) y pruebas de detección de Ac de fluorescencia directa (IFA) están siendo utilizadas como pruebas diagnósticas estándar en los Estados Unidos (Huang y White, 2006). Estas pruebas ofrecen ventajas importantes en relación a la especificidad y sensibilidad en la detección de quistes de *Giardia* (Adeyemo *et al.*, 2018).

Los inmunoensayos ligados a enzimas, son técnicas que requieren poco tiempo y son fáciles de realizar. El uso de este método no excluye la necesidad de las muestras seriadas, además son técnicas más costosas y pueden dar resultados falsos positivos (Adeyemo *et al.*, 2018). La técnica de ELISA para la detección de Ac trabaja específicamente con la Inmunoglobulina A, es bien conocido que *Giardia* induce la formación de Inmunoglobulina A. La sensibilidad de ELISA-GSA65 para una muestra es de 95 a 100% con 100% de especificidad, detecta un 30% más de casos en comparación a la microscopía (Hooshyar *et al.*, 2019).

Las pruebas basadas en Ac y Ag marcados con fluoresceína, técnica de inmunofluorescencia (IFA), que van dirigidos contra los Ag de la pared de los quistes de *Giardia*, permiten la visualización de los parásitos, dando así el diagnóstico definitivo (Sulaiman y Cama, 2006; Adeyemo *et al.*, 2018;). La técnica de IFA posee una especificidad excelente y una alta sensibilidad, ambas encontrándose en un rango del 96-100% (MERIFLUOR DFA) (Adeyemo *et al.*, 2018). La Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), puede usarse para el diagnóstico de *Giardia*

en muestras humanas, sin la necesidad de las tres muestras de heces. Esto debido a que tiene un alto valor predictivo positivo (90.7%) (Adeyemo *et al.*, 2018).

### 2.9.3. Pruebas moleculares

Las pruebas moleculares ofrecen ciertas ventajas, como una identificación sensible del parásito, identificación de la especie de *Giardia*, así como la identificación del ensamblaje o genotipo. El uso de estas técnicas está dirigida a estudios de vigilancia epidemiológica y la identificación de los diferentes genotipos de *Giardia* (Adeyemo *et al.*, 2018).

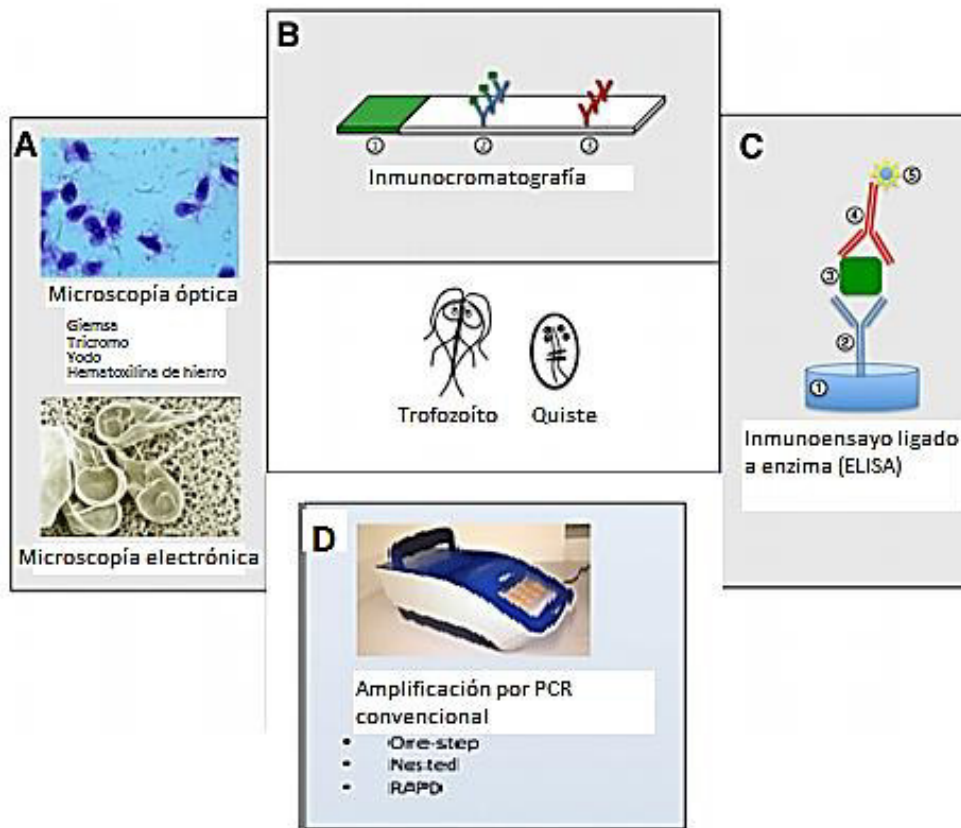
Actualmente en diversos estudios se ha evidenciado que las pruebas moleculares como el PCR poseen una elevada sensibilidad y por esa razón muestra cierta ventaja respecto a los métodos microscópicos (Frickmann *et al.*, 2015; Adeyemo *et al.*, 2018; Ryan *et al.*, 2019). Los métodos microscópicos convencionales tienen un límite de detección de quistes por gramos de heces y sumado a la eliminación intermitente de los quistes de *G. duodenalis* en las heces ofrecen una menor sensibilidad (Coklin *et al.*, 2011; Ryan *et al.*, 2019). Sin embargo, la prueba de PCR también puede tener una sensibilidad limitada en muestras que tienen un número pequeño de quistes, en gran parte debido a los inhibidores de PCR presente en las heces (Coklin *et al.*, 2011). Por ello, se han creado variantes como la PCR anidada que incrementa su sensibilidad gracias al uso de dos conjuntos de cebadores (Adeyemo *et al.*, 2018).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), constituye una potente herramienta molecular de alta sensibilidad y útil para la realización de la genotipificación de *Giardia*. Entre las principales limitaciones de esta técnica están la falta de métodos estandarizados y los elevados costos para su realización (Adeyemo *et al.*, 2018). Este método no es utilizado en los laboratorios médicos de rutina, su uso con frecuencia está limitado a los trabajos de investigación. Las secuencias que se utilizan comúnmente son de los genes que codifican la Subunidad menor del ARN r (*SSU RNAr*), Glutamato deshidrogenasa (*gdh*), triosa fosfato isomerasa (*tpi*) y  $\beta$ -giardina (*bg*) (Hooshyar *et al.*, 2019; Thompson y Ash, 2016). Sin embargo, también han sido usados los genes del factor de elongación 1-alfa (*ef-1*), los genes GLORRF-C4 y recientemente la región espaciadora intergenómica de ARNr (Cacciò y Ryan, 2008).

El gen  $\beta$ -giardina es ampliamente usado en estudios de caracterización molecular, tiene capacidad de discriminar la variabilidad de genotipos y subgenotipos principalmente en los ensamblajes A, B y E, incluso en secuencias relativamente conservadas. Codifica una proteína

estructural de aproximadamente 29-38 kDa que se encuentra en el disco ventral, esta característica lo hace altamente específico en la detección de *G. duodenalis* y excluye la posibilidad de reacciones cruzadas (Cacció *et al.*, 2002; Lalle *et al.*, 2005; Scorza *et al.*, 2012). La ventaja de utilizar genes de giardina como objetivos para la detección moléculas de quistes de *Giardia* es que se consideran exclusivos del parásito (Soliman *et al.*, 2011). La heterogeneidad de la secuencia en el locus del gen  $\beta$ -giardina puede ser extremadamente útil para rastrear la fuente de infección (Lalle *et al.*, 2005).

El gen  $\beta$ -giardina tiene alta capacidad en la discriminación de genotipos y subgenotipos de *G. duodenalis*, incluso en secuencias relativamente conservadas (Cacció *et al.*, 2002). Además, el gen  $\beta$ -giardina es ampliamente usado en estudios de caracterización molecular y tiene una buena correlación con muestras positivas (Coklin *et al.*, 2011). Es un gen altamente específico en la detección de *G. duodenalis* y excluye la posibilidad de reacciones cruzadas (Cacció *et al.*, 2002; Lalle *et al.*, 2005; Soliman *et al.*, 2011; Scorza *et al.*, 2012). La última característica es muy importante, debido a que las muestras de heces contienen gran cantidad de material genético. Tiene capacidad de discriminar la variabilidad de ensamblajes y sub ensamblajes, principalmente en los ensamblajes A, B y E (Feng y Xiao, 2011). Además la heterogeneidad de la secuencia en el locus del gen  $\beta$ -giardina puede ser extremadamente útil para rastrear la fuente de infección (Lalle *et al.*, 2005). Sin embargo, a pesar de la alta sensibilidad del gen  $\beta$ -giardina no se recomienda el uso de un solo marcador genético si se desea saber el genotipo o ensamblaje de *G. duodenalis*. Gran parte de los estudios de genotipado donde se usaron uno o dos marcadores genéticos, obtuvieron errores en la detección de ensamblajes (Xiao y Feng, 2017). Además, con la aparición de reportes de infecciones mixtas, se necesitan estudios en profundidad que se centren en varios loci genéticos y usen cebadores específicos de ensamblajes para dilucidar el problema de la transmisión zoonótica (Lebbad *et al.*, 2011). En la actualidad se sugiere un enfoque de genotipado multilocus (Bonhomme *et al.*, 2011; Lebbad *et al.*, 2011; Cacció *et al.*, 2018).



**Figura 4.** Diagnóstico de *Giardia*. (A) Técnicas de tinción en microscopía óptica convencional. (B) Inmunocromatografía: (1) Área de la muestra; (2) Anticuerpo de control positivo del ensayo; (3) Anticuerpo para la detección basada en anticuerpos específicos de antígenos *Giardia*. (C) Inmunoensayo para la detección de antígenos de quiste o trofozoíto: (1) pozo ELISA; (2) anticuerpos (3) antígeno de *Giardia*; (4) anticuerpo específico secundario; (5) conjugado marcado con enzima para detección colorimétrica (D) Enfoques de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Adaptado Koehler *et al.*, 2014).

## 2.10. Tratamiento

### 2.10.1. Humanos

Existen varios medicamentos efectivos para el tratamiento de la giardiasis, tales como el metronidazol, tinidazol, nitazoxanida, albendazol, furazolidona, acridina sustituida y quinacrina (Wright *et al.*, 2003; Huang y White, 2006). Actualmente se han incrementado los reportes de



fallas en el tratamiento de la giardiasis, evidenciándose resistencia a los medicamentos usados comúnmente (Wright *et al.*, 2003; Carter *et al.*, 2018).

#### 2.10.1.1. *Metronidazol*

El metronidazol es considerado la terapia de primera línea para el tratamiento de la giardiasis (Wright *et al.*, 2003; Chandy y Mccarthy, 2009). Es el medicamento más usado a nivel mundial, reportándose tasas curativas entre el 75% y el 100% de los pacientes en tratamientos de 5 a 10 días (Chandy y Mccarthy, 2009). El metronidazol se absorbe rápida y completamente después de la administración oral, luego se metaboliza en el hígado y se excreta en la orina (Rossignol, 2010). Los niveles séricos que alcanza el metronidazol al administrarse una dosis recomendada es de 70  $\mu\text{M}$  y las cepas normales de *Giardia* no sobreviven a dosis mayores a concentraciones mayores de 6  $\mu\text{M}$  (Wright *et al.*, 2003).

El mecanismo de acción del metronidazol inicia cuando ingresa al trofozoíto, una vez dentro de la célula utiliza las vías metabólicas anaeróbicas presentes en el parásito. Las ferredoxinas de la proteína transportadora de electrones pertenecientes al parásito donan electrones al grupo nitro en la posición-5 del metronidazol, ocurre la reducción del grupo nitro y con ello la activación del fármaco. El metronidazol activado (reducido), sirve como un receptor terminal de electrones que se une covalentemente a las macromoléculas de ADN, ocasionando daños como la pérdida de la forma estructural helicoidal del ADN, función de plantilla deteriorada y rotura de hebras, con la posterior muerte del trofozoíto. Adicionalmente tras la reducción del grupo nitro ocurre un cambio de gradiente lo que favorece el transporte intracelular del metronidazol, y con la reducción del grupo nitro se forman una serie de radicales tóxicos que reaccionan con componentes celulares esenciales. Adicionalmente el metronidazol inhibe la respiración del trofozoíto (Gardner y Hill, 2001; Wright *et al.*, 2003; Huang y White, 2006; Carter *et al.*, 2018).

La dosificación de metronidazol ha sido bastante estudiado, en diversos ensayos clínicos con dosificaciones de dos o tres veces al día, con una dosis de 250 mg/kg durante un periodo de 5 a 10 días, el tratamiento posee una eficacia que varía de 60% a 100%, con una eficacia media de 92% tanto en pacientes adultos, como pediátricos (Gardner y Hill, 2001). Sin embargo, debido a la relación directa entre el tiempo de duración de la terapia y el cumplimiento del paciente, además de la aparición de efectos adversos, se han propuesto programas más simples como la

administración de dosis únicas, evidenciándose una disminución de la eficacia del fármaco (Escobedo *et al.*, 2009).

La presentación de efectos secundarios es considerada la principal limitación para el uso del metronidazol (Rossignol, 2010). Los principales efectos adversos que se presentan son náuseas en un 5 a 15% de pacientes, dolor de cabeza, vértigo, sabor metálico, urticaria (Gardner y Hill, 2001; Wright, 2003). Si se toma junto con alcohol presenta una reacción tipo disulfiram pudiendo causar vómitos, sofocos, dolor de cabeza y dolor gastrointestinal (Rossignol, 2010).

Otros efectos adversos de presentación más rara son pancreatitis, toxicidad del sistema nervioso central a dosis más altas, neutropenia reversible, neuropatía periférica, aplanamiento de la onda T con uso prolongado (Gardner y Hill, 2001). Ha sido de gran preocupación el riesgo de prescribir metronidazol a mujeres embarazadas, pero los estudios no han podido confirmar que el metronidazol represente un riesgo teratogénico importante en humanos (Gardner y Hill, 2001).

#### 2.10.1.2. Tinidazol

Compuesto perteneciente al grupo de 5-nitroimidazol, posee una vida media más larga y gracias a ello se hace posible un horario de dosificación más simple. Además, en comparación al metronidazol posee menos efectos secundarios (Escobedo *et al.*, 2009). Tiene una eficacia entre 72% y 100% con una eficacia media de aproximadamente 89%, con una dosis única (Escobedo *et al.*, 2009). Otros estudios han mostrado que una dosis única de 2 g puede tener una alta eficacia (Rossignol, 2010). Puede alcanzar una eficacia clínica de 80% a 100% con una eficacia media de 92% superando así al metronidazol, mejorando así el programa de dosificación. La dosificación recomendada para la población pediátrica es generalmente de 50 mg/kg para una sola dosis (Gardner y Hill, 2001; Chandy y McCarthy, 2009). Efectos adversos reportados no son tan comunes, entre los cuales se presentan sabor amargo, vértigo y malestar gastrointestinal (Gardner y Hill, 2001). Además, los tratamientos con tinidazol son más económicos en comparación al metronidazol, albendazol y mebendazol. El costo del tinidazol se ha calculado que es \$40 por cada 1000 niños, mientras que el resto es más de \$45 (Chandy y McCarthy, 2009).

#### 2.10.1.3. Furazolidona

La furazolidona es un importante agente terapéutico en el mundo. El mecanismo de acción aún no se explica por completo, el fármaco al igual que el metronidazol sufre activación reductiva

en el interior del trofozoíto de *Giardia*, pero la reducción se produce a través de una NADH oxidasa. Su efecto letal está relacionado con la toxicidad de productos reducidos, que pueden dañar componentes importantes de las células, así como el ADN. Entre los efectos adversos presentes, se ha encontrado que hasta un 10% de pacientes tratados con furazolina pueden presentar signos gastrointestinales como náuseas, vómitos y diarreas. También se presentan otros efectos adversos como la coloración marrón de la orina (Gardner y Hill, 2001).

#### 2.10.1.4. Bencimidazoles

Los bencimidazoles tienen su acción sobre la  $\beta$ -tubulina, componente del citoesqueleto del parásito, la unión causa la inhibición de la polimerización del citoesqueleto ocasionando que los trofozoítos pierdan su capacidad de adhesión (Adam, 2001).

La efectividad de los benzimidazoles es muy variable, el albendazol y mebendazol tienen una efectividad que varían de 50% a 100% y de 58.3% a 100% respectivamente (Chandy y McCarthy, 2009). La dosificación del albendazol en adultos es de 400 mg al día durante 5 días y en niños es de 15 mg/kg por día durante 5 a 7 días. La ventaja que presenta la administración albendazol en niños, es que es un fármaco utilizado con eficacia contra otros helmintos intestinales (Gardner y Hill, 2001). El albendazol ha mostrado tener una buena actividad *in vitro* contra los aislados de *Giardia*, (Ali y Hill, 2003). El albendazol está contraindicada en el embarazo debido a una posible teratogenicidad (Gardner y Hill, 2001).

#### 2.10.2. Animales

En animales de compañía la droga comúnmente utilizada es el metronidazol; sin embargo, su uso en animales de producción está limitado. En animales de producción de alimentos se pueden utilizar los derivados de bencimidazol, como el febendazol a dosis de 5 mg/kg por vía oral durante 3 días (Gardner y Hill, 2001).

En perros las causas de diarrea son muchas; sin embargo, si en el examen fecal se encuentra *Giardia* se debe tratar al animal independientemente si está enfermo o asintomático. Existen varios medicamentos utilizados para el tratamiento de *Giardia* como el metronidazol, furazolidona, quinacrina, albendazol y febendazol. La efectividad del albendazol en perros es buena, pero también puede ocasionar supresión de la médula ósea. El oxfendazol por vía oral a

una dosis única de 11.3 mg/kg o dosis doble de 22.6 mg/kg ha demostrado ser muy eficaz para la eliminación de *Giardia* sin evidencia de toxicidad (Thompson *et al.*, 2008).

En gatos la quinacrina mejora los signos clínicos mas no elimina la infección y se pueden presentar signos como anorexia, letargo y fiebre. El metronidazol oral es usado con frecuencia para el tratamiento de la giardiasis en perros y gatos; sin embargo, se ha asociado a la aparición de efectos secundarios como el desarrollo de anorexia, vómitos y signos de toxicidad a nivel del sistema nervioso central. El metronidazol tiene una efectividad del 67% en la eliminación de *Giardia*, el febendazol es eficaz a una dosis de 50 mg/kg por vía oral una vez al día por 3 días (Thompson *et al.*, 2008)

En la actualidad no existen medicamentos específicos para el tratamiento de la giardiasis en rumiantes, pese a ello aun es cuestionable la necesidad de tratar las infecciones en rumiantes. Existen distintos medicamentos eficaces para el tratamiento de la giardiasis en terneros; sin embargo, el tratamiento solo no es suficiente para el control de la infección debido a la alta cantidad de reinfecciones que ocurren por el alto nivel de contaminación ambiental, lo que haría necesaria la administración diaria del medicamento. El tratamiento se debe acompañar de otras medidas como la rápida eliminación de las heces dentro del ambiente de los animales para minimizar las posibilidades de reinfección y transmisión de *Giardia* (Thompson *et al.*, 2008). La droga más prometedora, según algunos autores, para el tratamiento en animales de compañía y ganado es el febendazol (Savioli *et al.*, 2006). Otros mencionan que el metronidazol es el tratamiento de elección en caso de rumiantes (Underwood *et al.*, 2015).

En un estudio se analizó los efectos del tratamiento con febendazol sobre la función intestinal en terneros lecheros, el tratamiento fue con una dosis de 5 mg/kg una vez al día, durante 3 días. Se tuvo como resultado que en el grupo tratado no se evidenciaron trofozoítos, además la superficie intestinal era mayor (Lane y Lloyd, 2002).

Existe actualmente una vacuna en el mercado, se utiliza como medida de prevención y también se ha usado con fines terapéuticos principalmente en perros con giardiasis crónica que no responden al tratamiento quimioterapéutico, en estos animales la vacunación produjo una disminución de los signos clínicos y un menor desprendimiento de quistes (Thompson *et al.*, 2008). Actualmente la única vacuna autorizada “*Giardia Vax*” presenta una eficacia moderada (Bartelt y Sartor, 2015).

## 2.11. Prevención y Control

La mayor forma de transmisión es por medio del agua, por ello que los esfuerzos de prevención deben centrarse a las rutas de transmisión (Ortega y Adam, 1997; Erickson y Ortega, 2006). Los diferentes métodos de tratamiento del agua generalmente no son efectivos para la eliminación de *Giardia*, la cloración del agua es poco efectiva por lo que no se recomienda como único método de tratamiento (Ortega y Adam, 1997; Erickson y Ortega, 2006).

Los quistes de *Giardia* son altamente estables y resistentes en el medio ambiente, pueden causar infecciones a concentraciones muy bajas (Sánchez *et al.*, 2018). La dosis infecciosa es muy baja, solo 10 quistes son suficientes para desarrollar la infección (Ankarklev *et al.*, 2010). Los quistes son muy resistentes al cloro y al ozono (Lane y Lloyd, 2002). Se ha encontrado *G. duodenalis* en muestras de agua tomadas después del tratamiento fisicoquímico y la desinfección con cloro, a frecuencias muy altas (Sánchez *et al.*, 2018).

El tratamiento convencional de aguas residuales reduce considerablemente los quistes (2 a 3 unidades logarítmicas en el número de quistes de *Giardia* después del tratamiento). Tratamiento adicionales tales como sistema de membranas sistemas de filtración de arena mejoran considerablemente la eliminación de quistes (Savioli *et al.*, 2006). La filtración ha demostrado que es bastante efectiva para la eliminación de quistes de *Giardia* (Ortega y Adam, 1997). Se ha demostrado que la filtración con un tamaño de poro de 2 µm es muy efectiva (Ortega y Adam, 1997).

La transmisión directa fecal-oral es otra forma de transmisión común, principalmente en centros de cuidado infantil, las medidas de prevención que se deben tomar en cuenta para evitar la contaminación son el lavado de manos con frecuencia, especialmente durante el cambio de pañales y después de usar el baño, y tener un sistema adecuado con el desecho de pañales (Ortega y Adam, 1997; Kalyoussef y Goldman, 2010). Las personas positivas deben excluirse del cuidado infantil hasta la resolución del cuadro (Kalyoussef y Goldman, 2010). En las guarderías la prevención requiere la capacitación y educación adecuada (Sulaiman y Cama, 2006).

Entre otras medidas de prevención, se recomienda a las personas con giardiasis evitar las actividades como la natación y otras actividades relacionadas con el agua (Kalyoussef y Goldman, 2010). También se recomienda a los excursionistas y mochileros siempre hervir el agua o filtrarla (Ortega y Adam, 1997).

La dosificación de animales como medida de prevención cobra importancia en dos sentidos, el primero debido al desprendimiento de quistes por el ganado al medio ambiente, que podría contaminar las fuentes de agua y ser motivo de preocupación zoonótica y el impacto económico que significa para el ganadero (Lane y Lloyd, 2002). Actualmente existe una vacuna para perros y gatos, fue producida a partir de trofozoítos de *G. duodenalis* provenientes de ovejas. En ensayos clínicos se observó que los cachorros y gatitos inoculados por vía subcutánea y luego expuestos a la infección no desarrollaron signos clínicos de la enfermedad, mostraron una reducción de trofozoítos a nivel intestinal y una menor excreción de quistes por las heces, también las ganancias de peso eran mayores en comparación a los animales no vacunados (Thompson *et al.*, 2008).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 1. Materiales

##### 1.1. Diseño de estudio

En el presente trabajo se determinó el porcentaje de infección de *G. duodenalis* en muestras de heces de crías de alpacas con edades entre 1 y 3 meses, provenientes de siete diferentes puntas del Centro de Investigación La Raya ubicado en el departamento de Puno. La información recopilada de cada animal fue proporcionada por los registros y el pastor de cada punta de parición. Adicionalmente la edad de los animales fue corroborada por el peso de los animales (nacimiento =  $7.8 \pm 0.9$  kg, 1 mes =  $12.9 \pm 3.1$  kg, 2 meses  $14.9 \pm 3.0$  kg, y 3 meses =  $16.8 \pm 2.9$  kg) (Raggi *et al.* 1997). Se utilizaron muestras fecales obtenidas el año 2018 y el diagnóstico de *G. duodenalis* fue mediante la técnica molecular de PCR.

##### 1.2. Lugar de estudio

Las muestras fecales fueron colectadas en el Centro Experimental La Raya de la Universidad Nacional del Altiplano, ubicada en el departamento de Puno. El periodo de muestreo se realizó durante la temporada de parición de alpacas, ente los meses de febrero y marzo del año

2018. Las muestras colectadas fueron procesadas y almacenadas en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, sección Parasitología Molecular, UNMSM, Lima.

### 1.3. Número de muestras

Se analizaron en total 394 muestras de heces de crías de alpacas de 1 a 3 meses, teniendo como base el número de animales determinado mediante la fórmula del cálculo del tamaño de muestra para una población infinita, donde se obtuvo 385 animales a muestrear.

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q}{i^2}$$

Donde:

n: tamaño muestral.

Z: valor correspondiente a la distribución de Gauss  
Z=1.96

p: prevalencia esperada del parámetro a evaluar, se tomara como referencia 50% por un estudio previo realizado por Gomez-Couso y colaboradores el año 2012.

q: 1-p

i: error que se prevee cometer si es del 5%

## 2. Métodos

### 2.1. Colecta y conservación de las muestras

Las muestras fueron obtenidas directamente del recto de cada animal y guardadas en bolsas de polipropileno debidamente rotuladas. Al momento de la colección se evaluó la consistencia de las heces y se clasificó como líquidas y sólidas. Luego fueron pasadas a frascos herméticos debidamente rotulados y se le agregaron una solución de Dicromato de potasio 2.5% en una proporción 1:2. Se guardaron en refrigeración a 4°C hasta el momento de su transporte a la ciudad de Lima, el cual se realizó en cajas de tecnopor conteniendo bolsas de refrigeración. Luego se procedió a almacenar las muestras en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento.



## 2.2. Extracción de ADN

El ADN se extrajo usando el Kit comercial FastDNA SPIN® (Qbiogene Inc.), siguiendo con las instrucciones del fabricante. Todos los ADN extraídos se almacenaron en congelación a -20°C.

## 2.3. Reacción en Cadena de la Polimerasa Anidada (PCR-Anidado)

Las muestras de ADN se analizaron amplificando parcialmente el gen “β-giardina” (*bg*) para *G. duodenalis* usando el protocolo descrito por Lalle *et al.* (2005).

### Reactivos para el PCR-Anidado:

1. Cebadores (*Primers*) para PCR Primario (*Outers*):
  - a. *Giardia* Forward (F1): 5'-GAACGAACGAGATCGAGGTCCG-3'
  - b. *Giardia* Reverse (R1): 5'-CTCGACGAGCTTCGTGTT-3'
  
2. Cebadores (*Primers*) para PCR Secundario (*Inners*):
  - a. *Giardia* Forward (F2): 5'-GAACGAACGAGATCGAGGTCCG-3'
  - b. *Giardia* Reverse (R2): 5'-CTCGACGAGCTTCGTGTT-3'
  
3. GoTaq Green Master Mix 2X (Promega), que contiene ADN Taq polimerasa, dNTP's, MgCl<sub>2</sub> y tampones de reacción a concentraciones óptimas para la amplificación eficiente de plantillas de ADN por PCR. Además, contiene dos colorantes (azul y amarillo) que permiten el monitoreo del progreso durante la electroforesis.
  
4. Agua destilada estéril, libre de ADNasas.

### Protocolo

#### I. PCR Primario:

- A. Preparación de la mezcla de reacción de PCR o “master mix”. Para cada reacción se prepara.

Cebador F1 (25 $\mu$ M)	1.3 $\mu$ L
Cebador R1 (25 $\mu$ M)	1.3 $\mu$ L
Agua destilada	20.4 $\mu$ L
Go Taq® Green Master Mix, 2X	25 $\mu$ L
<hr/>	
Total	48 $\mu$ L

- B. Añadir 48  $\mu$ L de la solución “master mix” en cada tubo de PCR.
- C. Anadir 2  $\mu$ L de la muestra de ADN en cada tubo de PCR.
- D. Usar en Termociclador con las siguientes condiciones térmicas: Inicio a 94°C por 5 minutos, Desnaturalización, Alineamiento y Extensión (94°C por 30 segundos, 65°C por 30 segundos, 72°C por 60 segundos) por 36 ciclos, Elongación final a 72°C por 7 minutos y conservación a 4°C.

## II. PCR Secundario:

- A. Preparación de la mezcla de reacción de PCR o “master mix”. Para cada reacción se prepara:

Cebador F1 (25 $\mu$ M)	1.3 $\mu$ L
Cebador R1 (25 $\mu$ M)	1.3 $\mu$ L
Agua destilada	18.4 $\mu$ L
Go Taq® Green Master Mix, 2X	25 $\mu$ L
<hr/>	
Total	46 $\mu$ L

- B. Añadir 46  $\mu$ L de la solución “master mix” en cada tubo de PCR.
- C. Anadir 4  $\mu$ L de la muestra de ADN en cada tubo de PCR.
- D. Usar en Termociclador con las siguientes condiciones térmicas: Inicio a 94°C por 5 minutos, Desnaturalización, Alineamiento y Extensión (94°C por 30 segundos, 65°C por 30 segundos, 72°C por 60 segundos) por 36 ciclos, Elongación final a 72°C por 7 minutos y conservación a 4°C.
- E. Realizar el corrido por el gel de electroforesis sobre un gel de agarosa al 1.5% con 8  $\mu$ L del producto de PCR.
- F. El resultado positivo dará una banda de 511 pares de bases (pb).

Como muestra blanco se utilizó agua ultra pura libre de ARNasa y ADNasas.

## 2.4. Análisis estadístico.

La prevalencia se obtuvo considerando el número de muestras positivas a *G. duodenalis* en las crías de alpaca, bajo la siguiente fórmula:

$$P = \frac{\text{N}^\circ \text{ de muestras positivas}}{\text{N}^\circ \text{ total de muestras}} \times 100$$

La evaluación de la asociación del diagnóstico de *G. duodenalis* con el sexo del animal, procedencia (7 puntas de alpacas) y presentación de diarreas se realizaron mediante la prueba de Chi Cuadrado ( $\chi^2$ ). Las razones de prevalencia (RP) cruda y ajustada, junto a sus intervalos de confianza del 95% (IC 95%) se estimaron utilizando una ecuación de estimación generalizada asumiendo una familia binomial con enlace logarítmico (Dohoo *et al.*, 2003). Todas las variables se analizaron usando el programa Stata 15.

## 2.5. Consideraciones éticas

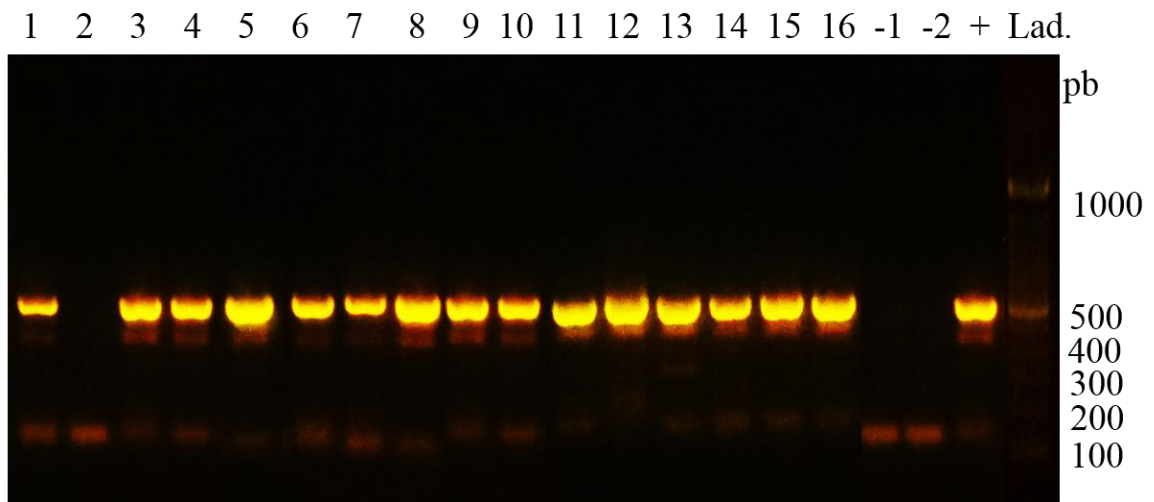
El estudio fue realizado siguiendo las consideraciones éticas de uso de animales en investigación y fue aprobado por el Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (N° 103637).

## IV. RESULTADOS

Se evaluaron 394 crías de alpacas provenientes de siete puntas del Centro Experimental La Raya de la Universidad Nacional del Altiplano, de las cuales el 52.3% fueron hembras y el 47.7% machos . Del total de animales estudiados, el 61.9% (244/394) de las crías presentaban diarreas, mientras que el 38.1% (n= 150) presentaban las heces normales (Cuadro 3). El diagnóstico obtenido amplificando parcialmente el gen  $\beta$ -giardina (Figura 3), obtuvo un resultado del 39.1% (154/394) (IC 95% 34.25-43.92) animales positivos a la infección con *G. duodenalis* (Cuadro 3).

En la evaluación bivariada mediante la prueba de  $\chi^2$ , la prevalencia de *G. duodenalis* fue similar en machos (39.9%, 75/206) que en hembras (38.4%, 79/188); se corroboró al no encontrar diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.754$ ). Además, se encontró que la prevalencia de *G. duodenalis* fue menor en los que presentaban heces diarreicas (36.9%, 90/244) en comparación a los que presentaban heces de consistencia normal (42.7%, 64/150); sin embargo, la diferencia encontrada tampoco fue estadísticamente significativa ( $p=0.253$ ) Los porcentajes de animales positivos a la presencia de *G. duodenalis* eran muy variables entre las diferentes puntas, encontrándose el porcentaje más alto en la punta 1 (58.3%, 21/36) y el más bajo en la punta 2 (5.19%, 8/41), todas las puntas presentaban animales positivos a *G. duodenalis*. Se encontró que hay diferencias marcadas entre los porcentajes de animales positivos a la presencia de *G. duodenalis* en las diferentes puntas y la diferencia es estadísticamente significativa ( $p=0.000$ ) (Cuadro 4).

El análisis bivariado para la determinación de la RP se realizó mediante la ecuación de estimación generalizada (GEE), agrupando según la punta de procedencia. Se encontró que la prevalencia de *G. duodenalis* en animales diarreicos es 1.5 veces la prevalencia de *G. duodenalis* en animales no diarreicos, con un valor p estadísticamente significativo ( $p=0.036$ ) y un IC95% de 1.03 a 2.18. Después del análisis múltiple, donde se incluyó la variable sexo ya que se considera una variable confusora universal, además agrupados por puntas de procedencia. Se encontró que la prevalencia de *G. duodenalis* en animales con diarrea es 1.49 veces la prevalencia de *G. duodenalis* en animales no diarreicos, ajustado por sexo y agrupado según la punta de procedencia ( $p<0.05$ ; IC<sub>95%</sub> 1.03-2.17) (Cuadro 5).



**Figura 5.** Diagnóstico molecular de *G. duodenalis* en heces de crías de alpacas mediante PCR-anidado, amplificando parcialmente el gen  $\beta$ -giardina (511 pb). Lectura en el gel de electroforesis, donde la muestra 2 se considera negativa y la muestra 1 y del 3 al 16 se consideran positivas. Además, para cada conjunto de muestras se tienen controles negativos (-1 y -2) y positivo (+).

**Cuadro 3.** Características de crías de alpacas provenientes del Centro de Investigación La Raya.

Características	N (%)
Sexo	
Hembra	206 (52.3)
Macho	188 (47.7)
Diarrea	
No presenta	150 (38.1)
Si presenta	244 (61.9)
<i>Giardia duodenalis</i>	
Positivo	154 (39.1)
Negativo	240 (60.9)
Procedencia	
Punta 1	36 (9.1)
Punta 2	41 (10.4)
Punta 3	27 (6.9)
Punta 4	116 (29.4)
Punta 5	78 (19.8)
Punta 6	62 (15.7)
Punta 7	34 (8.6)

**Cuadro 4.** Factores asociados a la presencia de *Giardia duodenalis* en análisis bivariado.

Variables	<i>Giardia duodenalis</i>		P
	Negativo (n=242)	Positivo (n=156)	
	n (%)	n (%)	
Sexo			
Hembra	127 (61.7)	79 (38.3)	0.754
Macho	113 (60.1)	75 (39.9)	
Diarrea			
No	86 (57.3)	64 (42.7)	0.253
Si	154 (63.1)	90 (36.9)	
Procedencia			
Punta 1	15 (41.7)	21 (58.3)	0.000*
Punta 2	33 (13.8)	8 (5.19)	
Punta 3	20 (74.1)	7 (25.9)	
Punta 4	50 (80.5)	66 (19.5)	
Punta 5	57 (73.1)	21 (26.9)	
Punta 6	42 (67.7)	20 (32.3)	
Punta 7	23 (67.7)	11 (32.4)	

\*La prueba de  $\chi^2$  mostró asociación significativa.

**Cuadro 5.** Factores asociados a la presencia de *Giardia duodenalis* en análisis de regresión múltiple.

Variables	Crudo			Ajustado*		
	RP	IC 95%	p	RP	IC 95%	p
Diarrea						
No presenta	Ref.			Ref.		
Si presenta	1.50	1.03 - 2.18	0.036	1.49	1.03 - 2.17	0.036
Sexo						
Hembra	Ref.			Ref.		
Macho	1.04	0.81 - 1.34	0.729	1.02	0.81 - 1.31	0.82

\*Ajustado por punta de procedencia y ajustado por sexo

RP razón de prevalencia

Analizando mediante GEE familia binomial, enlace logarítmico.



## V. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó la presencia de *G. duodenalis* en una población de 394 crías de alpacas, realizándose el diagnóstico mediante la técnica molecular de PCR para la identificación de *G. duodenalis*. Este estudio constituye el tercer estudio sobre giardiasis realizado en alpacas en Perú y el primero diseñado específicamente para detectar la prevalencia de *G. duodenalis* en crías de alpaca.

Los estudios de prevalencia de *G. duodenalis* en crías de alpacas son limitados, siendo la mayoría de ellos realizados en Estados Unidos, Perú y Australia (Cebra *et al.*, 2003; Trout *et al.*, 2008; Gómez-Couso *et al.*, 2012; Gómez-Puerta *et al.*, 2014; Koehler *et al.*, 2018). El Perú concentra la mayor población de alpacas en el mundo (CONACS, 2005; FAO, 2005). Pese a ello los estudios realizados evaluando a *G. duodenalis* son escasos.

Las tasas de infección reportados en camélidos sudamericanos son muy variables. En el Perú las prevalencias reportadas son escasas, solo se han realizado dos estudios. En el primer estudio realizado en el país se encontró una prevalencia de 50% y por otro lado en el segundo estudio realizado se encontró una prevalencia de 13% (Gómez-Couso *et al.*, 2012; Gomez-Puerta *et al.*, 2014). Ambos resultados diferentes a los encontrados en el presente trabajo, que encontró una prevalencia del 39.1% (154/394). Sin embargo, todos los estudios fueron realizados en su totalidad o en parte en la región de Puno, lo que evidenciaría una posible endemidad de *G. duodenalis* en la región. Además, los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que *G.*

*duodenalis* es un patógeno frecuente y podría ser considerado como un potencial agente en las crías de alpaca.

Los estudios realizados en Estados Unidos y Australia, también son escasos y con resultados variables. Las tasas reportadas van desde 3% y pueden ser mayores del 30% (Rulofson *et al.*, 2001; Cebra *et al.*, 2003; Whitehead y Anderson, 2006; Trout *et al.*, 2008; Koehler *et al.*, 2018). En gran parte de los estudios en alpacas y llamas el rango de edades de los animales evaluados es bastante amplio, con edades que van desde animales jóvenes de 3 semanas como animales adultos de 26 años o más (Rulofson *et al.*, 2001; Cebra *et al.*, 2003; Whitehead y Anderson, 2006; Trout *et al.*, 2008; Koehler *et al.*, 2018). Debido a que en nuestro estudio se evaluó animales con un rango de edad menor y sumada al tipo del método diagnóstico, hace difícil comparar los resultados encontrados en estos estudios.

La diferencia entre las diversas tasas de infección con *G. duodenalis* pueden deberse a las diversas técnicas de diagnóstico utilizadas, el diseño del estudio o la muestra poblacional examinada (Thompson *et al.*, 2008). La elección de un adecuado método diagnóstico es muy importante ya sea para la actividad clínica diaria como para actividades de investigación. En ese contexto, el uso de técnicas moleculares es de gran importancia para cualquier investigación epidemiológica molecular (Koehler *et al.*, 2018). Entre las consideraciones que se tiene en cuenta en la elección un método de diagnóstico es la eliminación de los quistes de *G. duodenalis* en las heces en alpacas. De forma similar que en otras especies, la eliminación de quistes en las heces es de naturaleza intermitente, lo que hace difícil el diagnóstico en muestras de heces. Por ello se debe realizar un examen parasitológico seriado o utilizar un método diagnóstico con alta sensibilidad (Adeyemo *et al.*, 2018). Actualmente en diversos estudios se ha evidenciado que las pruebas moleculares como el PCR poseen una elevada sensibilidad y por esa razón muestra cierta ventaja respecto a los métodos microscópicos (Frickmann *et al.*, 2015; Adeyemo *et al.*, 2018; Ryan *et al.*, 2019). En el presente estudio se utilizó muestras de heces extraídas directamente del recto de los animales y debido al diseño del estudio no se realizó un examen parasitológico seriado y se buscó realizar el diagnóstico con el uso de técnicas moleculares.

Adicionalmente se ha encontrado que la elección de la población a evaluar es otra consideración de mucha importancia. Las diversas características de la población influyen en el porcentaje de infección de *G. duodenalis*. Características propias de la población como la edad, donde de forma general los animales jóvenes tienen una prevalencia es más alta en comparación a los animales adultos, adicionalmente también hay evidencia que la prevalencia varía según el lugar geográfico (Monis y Thompson, 2003; Thompson *et al.*, 2008; Thompson y Monis, 2012).

En correlación a lo encontrado en la literatura en este estudio se consideró trabajar con animales jóvenes en rango de 1 a 3 meses de edad, provenientes de una región que contiene una población importante de la población de alpacas en el Perú.

La presentación de diarreas en las crías de alpacas en el Perú es bastante frecuente, tal como lo demuestra este estudio. La cantidad de crías con heces diarreicas en el presente trabajo fue del 62%. Este resultado reafirma a la diarrea como una de las morbilidades de mayor presentación en las crías de alpacas (Whitehead & Anderson, 2006; Sharpe *et al.*, 2009; Björklund, 2014). La diarrea en crías de alpaca es una morbilidad muy importante principalmente en el periodo pre destete, afectando hasta al 23% de las crías (Whitehead & Anderson, 2006; Sharpe *et al.*, 2009; Whitehead, 2009). En diversos estudios realizados en crías de alpacas se han encontrado que más del 50% de los animales presenta diarrea (Morales *et al.*, 2017; Gomez-Puerta *et al.*, 2020). Sin embargo, las diarreas tienen origen multifactorial (Rosadio y Ameghino, 1994; Cebra *et al.*, 2003; Whitehead y Anderson, 2006; Whitehead, 2009; Martín *et al.*, 2010; Lucas *et al.*, 2016; Rojas *et al.*, 2016; López *et al.*, 2011; Rosadio *et al.*, 2012). Por lo que la evaluación de los diferentes agentes involucrados, así como los distintos factores asociados con la aparición de diarreas en crías de alpacas constituyen un verdadero reto para los investigadores.

La infección por *G. duodenalis* en diversas especies de animales siempre está asociada con diversos factores como sexo, edad, raza, entre otros (Stuart *et al.*, 2003; Ankarklev *et al.*, 2010; Thompson y Monis, 2012; Li *et al.*, 2017). En los pocos estudios realizados en alpacas no se ha encontrado asociación significativa entre la presencia del parásito y el sexo de los animales (Gómez-Couso *et al.*, 2012; Gomez-Puerta *et al.*, 2014). De la misma forma en el presente estudio no se encontró esta asociación. Es importante recalcar que esto mismo se ha demostrado en otras especies como en bovinos. Un estudio realizado en ganado lechero en Etiopía Central, no encontró evidencia estadística que relacionaba la infección de *G. duodenalis* respecto al sexo, edad y raza (Wegayehu *et al.*, 2016). De la misma forma estudios realizados en Bangladesh y Nepal muestran que no hay asociación entre la infección de *Giardia* y el sexo de los animales (Mahato *et al.*, 2018; Suman *et al.*, 2013). Sin embargo, en un estudio realizado en Iraq si se encontró asociación significativa entre la presencia del parásito y el sexo del animal, en el estudio se encontró que las hembras tenían mayor infección con *Giardia* en comparación con los machos. Una posible explicación que se da en el estudio es que las hembras pueden estar más expuestas a la infección debido a la inmunosupresión causada por la preñez (Al-difaie, 2016). Sin embargo, también puede deberse a la poca cantidad de muestras con que se realizó el estudio, siendo evaluados 22 machos y 28 hembras para el estudio.

En el análisis a nivel de rebaños, el porcentaje de infección en alpacas en la mayoría de estudios es mayor del 40%. En un estudio realizado al norte de Estados Unidos-Indiana, se encontró una prevalencia de 45.4% para *G. duodenalis* en los rebaños (Johnson, 2010). En el estudio realizado por Cebra y colaboradores el nivel de infección de *G. duodenalis* a nivel de rebaño era del 60% (Cebra *et al.*, 2003). En el caso de los dos estudios previos realizados en el Perú, el análisis del nivel de infección de rebaños era superior al 90% (Gómez-Couso *et al.*, 2012; Gomez-Puerta *et al.*, 2014). De forma similar, en el presente estudio se encontró que todos los rebaños evaluados presentaban crías infectadas con *G. duodenalis*, siendo la prevalencia del 100%. Es decir, las siete puntas evaluadas tenían crías positivas a infección con *G. duodenalis*; sin embargo, el porcentaje de infección dentro de cada punta era diferente. Esto puede deberse a las características propias de cada rebaño.

El lugar de procedencia de los animales es un factor asociado a considerar. Pocos estudios toman en cuenta el lugar de procedencia de los animales como factor de riesgo. En un estudio realizado en llamas donde se analizó algunos factores asociados al lugar de procedencia y se observó que una mayor cantidad de crías en la propiedad, así como el número de crías nacidas el año anterior y la densidad de los animales respecto a las pasturas fueron factores que incrementaron el riesgo de infectarse con *G. duodenalis* (Rulofson *et al.*, 2001). En estudios en otros animales como en bovinos se hallan que no hay relación entre la presencia de *G. duodenalis* y las prácticas de manejo (Becher *et al.*, 2004; Gow y Waldner, 2006; Mahato *et al.*, 2018). En otros estudios se encuentra que si existe relación con las prácticas de manejos (Geurden *et al.*, 2012; Hernández y Cortés, 2012). Con respecto a factores físicos, se encontró que existe relación entre la prevalencia de *G. duodenalis* en vacunos y la presencia de quistes en el suelo. Además, la posibilidad de encontrar quistes en el suelo se incrementaba con la humedad del suelo y el estado de conservación de las pasturas (Barwick *et al.*, 2003). Como se observa en los distintos estudios, al referirse a la procedencia de los animales se toman en cuenta otros factores relacionados como factores físicos, de manejo o en algunos casos factores meteorológicos. En consecuencia a pesar que en nuestro estudio se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el origen de los animales y la presencia de *G. duodenalis*, se debe considerar todos los demás factores relacionados para su análisis.

*Giardia duodenalis* como patógeno asociado a la aparición de diarreas principalmente en crías y niños, es una cuestión ampliamente estudiada; sin embargo, en la actualidad aún no hay evidencia clara de esta asociación. Entre los patógenos asociados a la presentación de diarreas en crías de alpaca, se encuentra *G. duodenalis*, cuya presentación se ha evidenciado en el estudio realizado por Cebra y colaboradores, donde forma parte de los 39 patógenos potenciales en llamas

y alpacas no destetadas con presentación de diarreas (Cebra *et al.*, 2003). Los patógenos asociados con la presentación de diarreas en crías de alpaca pueden ser bacterias, parásitos y virus (Pinto *et al.*, 2010; Rojas *et al.*, 2016). Es por eso que la enfermedad es conocida actualmente como el complejo diarreico neonatal de las alpacas (Rosadio *et al.*, 2012; Lucas *et al.*, 2016). En el presente estudio el 36.9% de los animales que presentaban diarrea eran positivos a la presencia del parásito, lo que podría revelar un probable papel que cumple *G. duodenalis* con la aparición de diarreas. Sin embargo, también se encontró que el 42.7% de animales infectados con *G. duodenalis* no presentaba diarrea. Este último hallazgo también se ha encontrado en el estudio realizado por Gómez-Couso y colaboradores (2012), donde los animales infectados con *G. duodenalis* que presentaban diarreas eran 58% a comparación a los infectados que no presentaban diarreas que era el 46%. Es decir, *G. duodenalis* es un microorganismo que se ha encontrado en animales que presentan diarreas como en los que no presentan diarreas.

En estudios realizados en bovinos los resultados encontrados son similares, en Colombia en un estudio con 308 terneros se observó que el 43.5% de los animales infectados con *Giardia* spp. no presentaban diarreas, adicionalmente en este estudio relacionaron la presentación de diarreas con la carga parasitaria, encontrándose que el 100% de los animales que tenían alta carga parasitaria presentaba diarrea (Hernández y Cortés, 2012). Otro estudio encontró una mayor prevalencia de *G. duodenalis* en animales diarreicos en comparación a los animales aparentemente sanos (Mahato *et al.*, 2018). Un estudio en Suecia encontró 29% de muestras positivas a *G. duodenalis* en muestras diarreicas y 23% en muestras de terneros sanos (Björkman *et al.*, 2003). Generalmente los animales infectados con *G. duodenalis* presentan diarreas en mayor porcentaje, sin embargo hay estudios donde las tasas de infección fueron más altas en los terneros no diarreicos que en los diarreicos (Quílez *et al.*, 1996).

Debido a la disparidad de los resultados de la infección con *Giardia* y la presentación de diarreas en los diversos estudios realizados, aún no es bien reconocido al parásito como un agente causante de diarreas. Los resultados reportados hasta ahora son contradictorios con respecto a la asociación entre la infección con *G. duodenalis* y la presentación de diarreas (O'Handley y Olson, 2006). En el presente estudio si se evidenció una asociación significativa, se encontró que la prevalencia de animales infectados con *G. duodenalis* con diarrea es 1.49 veces mayor a la prevalencia de crías infectadas con *G. duodenalis* que no presentan diarrea ( $p=0.036$ ;  $IC_{95\%}$  1.03-2.17). Este resultado difiere con lo encontrado con Gómez-Couso y colaboradores (2012) donde no encontraron diferencia significativa entre la prevalencia con relación a la existencia de procesos diarreicos. De igual manera en el estudio realizado por Gómez-Puerta y colaboradores (2014) que no lograron mostrar una asociación de infección con *G. duodenalis* con las diarreas.

En estudios realizados en bovinos ocurre algo similar, no se encuentra asociación entre la infección parasitaria y la presentación de diarreas (Melo *et al.*, 2008).

## VI. CONCLUSIONES

- En el presente estudio se determinó la prevalencia de *G. duodenalis* en cría de alpacas procedentes de la sierra sur del Perú, determinando una frecuencia de 39.1% ( IC 95% 34.25-43.92)
- Se determinó que *G. duodenalis* estuvo asociado con la presentación de diarreas en crías de alpacas

## **VII. RECOMENDACIONES**

- Realizar el secuenciamiento de las muestras positivas a la presencia de *G. duodenalis* para determinar los ensamblajes específicos presentes en la población.
- Realizar estudios donde se evalúen los posibles factores de riesgo asociados a la infección de *G. duodenalis*.



## Referencia bibliográfica

1. **[AVSF] *Agronomes Vétérinaires Sans Frontières*. 2012.** Comportamiento del Mercado Mundial De La Fibra De Alpaca : Proyecto Binacional Alpaca. La Paz, Bolivia: AVSF-Bolivia. 15 p.
2. **[CENAGRO] *Censo Nacional Agropecuario*. 2012.** IV Censo Nacional Agropecuario. Lima: Instituto Nacional de Estadística e Informática. 62 p.
3. **[CENEPRED] *Centro Nacional de Estimación, Prevención y Reducción del Riesgo de Desastres*. 2018.** Escenarios de riesgo por heladas y friajes en el marco del plan multisectorial multianual 2019-2021. Lima, Perú: Ministerio de Defensa. 32 p.
4. **[CONACS] *Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos*. 2005.** Estrategia Nacional de Desarrollo Los Camélidos Domésticos en el Perú. Lima, Perú: Ministerio de Agricultura. 46 p.
5. **[DESCO] *Centro de Estudio y promoción del Desarrollo*. 2006.** Informe de la Convención para el desarrollo sostenible del sector de los Camélidos Sudamericanos. Arequipa, Perú: DESCO. 70 p.
6. **[FAO] *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. 2005.** Situación actual de los Camélidos sudamericanos en Perú. Lima, Perú: FAO. 429 p.
7. **[FAO] *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. 2008.** Análisis del impacto de los eventos fríos (friaje) del 2008 en la agricultura y ganadería alto andina en el Perú. Lima, Perú: FAO. 73 p.
8. **[Minagri] *Ministerio de Agricultura y Riego*. 2018.** Situación de la alpaca en el Perú. [Internet]. Disponible en: <https://www.gob.pe/minagri>.
9. **[Minagri] *Portal Agrario*. 2015.** “Día Nacional de la alpaca” Producto Bandera del Perú. [Internet], [20 noviembre 2019]. Disponible en: <https://www.minagri.gob.pe/portal/especial-iv-cenagro/495-dn-alpaca/11180-p-alpaca>.
10. **Adam RD. 1991.** The Biology of *Giardia* spp. *Microbiological Reviews* 55 (4): 706-732. Doi: 0146-0749/91/040706-27\$02.00/0.
11. **Adam RD. 2000.** The *Giardia lamblia* genome. *International Journal for Parasitology* 30(4): 475-484. Doi: 10.1016/s0020-7519(99)00191-5.
12. **Adam RD. 2001.** Biology of *Giardia lamblia*. *Clinical Microbiology Reviews* 14: 447-475. Doi: 10.1128/CMR.14.3.447-475.2001.
13. **Adeyemo FE, Singh G, Reddy P, Stenström TA. 2018.** Methods for the detection of

*Cryptosporidium* and *Giardia*: From microscopy to nucleic acid based tools in clinical and environmental regimes. *Acta Tropica* 184: 15-28. Doi: 10.1016/j.actatropica.2018.01.011.

14. **Aldenderfer M. 1999.** The Pleistocene/Holocene transition in Perú and its effects upon human use of the landscape. *Quaternary International* 53-54(1): 11-19. Doi: 10.1016/S1040-6182(98)00004-4.
15. **Al-difaire RS. 2016.** Molecular Study to Detect Genotyping of *Giardia lamblia* from Human and Cattle Feces in Al-Qadisiya. *Ibn Al-Haitham J. for Pure & Appl. Sci.*, 29(3), 1–13.
16. **Ali SA, Hill DR. 2003.** *Giardia intestinalis*. *Current Opinion in Infectious Diseases* 16: 453-460. Doi: 10.1097/00001432-200310000-00012.
17. **Ameghino E, DeMartini J. 1991.** Mortalidad en crías de alpacas. 1era Ed. Lima: MARTEGRAF. 128 p.
18. **Ampuero E, Cucho H, Ordóñez C, Alarcón V, Maza A. 2014.** Parámetros productivos de alpacas del CICAS-La Raya. *Memorias XXXVII Reunión Científica Anual De La Asociación Peruana De Producción Animal*. 188-191. Abancay.
19. **Andersen MD, Neumann NF. 2007.** *Giardia intestinalis*: New insights on an old pathogen. *Reviews in Medical Microbiology* 18: 35-42. Doi: 10.1097/MRM.0b013e3282f16c1c.
20. **Ankarklev J, Jerlström-Hultqvist J, Ringqvist E, Troell K, Svärd SG. 2010.** Behind the smile: Cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nature Reviews Microbiology* 8: 413-422. Doi: 10.1038/nrmicro2317.
21. **Ballweber LR, Xiao L, Bowman DD, Kahn G, Cama VA. 2010.** Giardiasis in dogs and cats: update on epidemiology and public health significance. *Trends in Parasitology* 26: 180-189. Doi: 10.1016/j.pt.2010.02.005.
22. **Ballweber LR. 2009.** Ecto- and Endoparasites of New World Camelids. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* 25: 295-310. Doi: 10.1016/j.cvfa.2009.02.003.
23. **Bartelt LA, Sartor RB. 2015.** Advances in understanding *Giardia*: Determinants and mechanisms of chronic sequelae. *F1000Prime Reports* 7: 62. Doi: 10.12703/P7-62.
24. **Barwick RS, Mohamed HO, White ME, Bryant RB. 2003.** Factors Associated with the Likelihood of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in Soil from Dairy Farms. *American Dairy Science Association* 86: 784-791. Doi: 10.3168 / jds.S0022-0302 (03) 73660-1.
25. **Becher KA, Robertson ID, Fraser DM, Palmer DG, Thompson RCA. 2004.** Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating

- from three sources in Western Australia. *Veterinary Parasitology* 123: 1-9. Doi: 10.1016/j.vetpar.2004.05.020
26. **Björklund C. 2014.** Diseases and causes of death among camelids in Sweden - a retrospective study of necropsy cases 2001-2013. Tesis de Medico Veterinario. Uppsala, Suecia: Swedish University of Agricultural Science. 59 p.
  27. **Björkman C, Svensson C, Christensson B, De Verdier K. 2003.** *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in Calf diarrhoea in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica* 44: 145-152. Doi: 10.1186/1751-0147-44-145.
  28. **Bonhomme J, Le Goff L, Lemée V, Gargala G, Ballet JJ, Favennec L. 2011.** Limitations of tpi and bg genes sub-genotyping for characterization of human *Giardia duodenalis* isolates. *Parasitology International*, 60(3), 327–330. doi:10.1016/j.parint.2011.05.004.
  29. **Bustinza A. 2001.** La Alpaca: Conocimiento del gran potencial andino. 1er Ed. Puno: Universidad Nacional del Altiplano. 496 p.
  30. **Cacciò SM, De Giacomo M, Pozio E. 2002.** Sequence analysis of the  $\beta$ -giardin gene and development of a polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. *International Journal for Parasitology* 32(8): 1023–1030. Doi: 10.1016/s0020-7519(02)00068-1.
  31. **Cacciò SM, Lalle M, Svärd SG. 2018.** Host specificity in the *Giardia duodenalis* species complex. *Infection, Genetics and Evolution* 66: 335-345. Doi: 10.1016/j.meegid.2017.12.001.
  32. **Cacciò SM, Ryan U. 2008.** Molecular epidemiology of giardiasis. *Molecular and Biochemical Parasitology* 160: 75-80. Doi: 10.1016/j.molbiopara.2008.04.006.
  33. **Calle R. 1982.** Producción y Mejoramiento de la alpaca. Lima: ABRIL editores &Impresiones. Fondo del Libro del Banco Agrario del Perú. 334p.
  34. **Cama VA, Mathison BA. 2015.** Infections by Intestinal Coccidia and *Giardia duodeanlis*. *Clinics in Laboratory Medicine* 35(2): 423-444. Doi: 10.1016/j.cll.2015.02.010.
  35. **Carhuapoma V, Valencia N, Paucar R, Mayhua PH, Huamán R, Lizana-Hilario E. 2019.** Effect of *E. Coli* and *Salmonella* spp on the growth and mortality of baby alpacas (*Vicugna pacos*). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 30: 946-953. Doi: 10.15381/rivep.v30i2.16068.
  36. **Carranza PG, Lujan HD. 2010.** New insights regarding the biology of *Giardia lamblia*. *Microbes and Infection* 12: 71-80. Doi: 10.1016/j.micinf.2009.09.008.
  37. **Carter ER, Nabarro LE, Hedley L, Chiodini PL. 2018.** Nitroimidazole-refractory

- giardiasis: a growing problem requiring rational solutions. *Clinical Microbiology and Infection* 24: 37-42. Doi: 10.1016/j.cmi.2017.05.028.
38. **Cavalier-Smith T, Chao EE. 1996.** Molecular phylogeny of the free-living archezoan *Trepomonas agilis* and the nature of the first eukaryote. *Journal of Molecular Evolution* 43: 551-562. Doi: 10.1007/BF02202103.
  39. **Cavalier-Smith T. 2003.** Protist phylogeny and the high-level classification of Protozoa. *European Journal of Protistology* 39: 338-348. Doi: 10.1078/0932-4739-00002.
  40. **Cebra CK, Mattson DE, Baker RJ, Sonn RJ, Dearing PL. 2003.** Potential pathogens in feces from unweaned llamas and alpacas with diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 223: 1806-1808. Doi: 10.2460/javma.2003.223.1806.
  41. **Chandy E, McCarthy J. 2009.** Evidence behind the WHO guidelines: Hospital care for children: What is the most appropriate treatment for giardiasis? *Journal of Tropical Pediatrics* 55: 5-7. Doi: 10.1093/tropej/fmn073.
  42. **Chavez B, Martinez-Palomo A. 1995.** *Giardia lamblia*: Freeze-fracture Ultrastructure of the Ventral Disc Plasma Membrane. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 42: 136-141. Doi: 10.1111/j.1550-7408.1995.tb01554.x.
  43. **Cirilo CE, Manchego SA, Rivera HH, Rosadio AR. 2012.** Coexistencia de virus y bacterias en neumonías agudas en alpacas neonatas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 23: 317-335. Doi: 10.15381/rivep.v23i3.914.
  44. **Clement JC, King ME, Salman MD, Wittum TE, Casper HH, Odde KG. 1995.** Use of epidemiologic principles to identify risk factors associated with the development of diarrhea in calves in five beef herds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 207(10): 1334-8.
  45. **Coelho CH, Durigan M, Leal DA, Schneider A, Franco RM, Singer SM. 2017.** Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years of publications. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 11(10): e0006005. Doi: 10.1371/journal.pntd.0006005.
  46. **Coklin T, Farber J, Parrington L, Dixon B. 2007.** Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in Ontario, Canada. *Veterinary Parasitology* 150: 297-305. Doi: 10.1016/j.vetpar.2007.09.014.
  47. **Coklin T, Farber JM, Parrington LJ, Bin CI, Ross WH, Dixon BR. 2011.** Immunomagnetic Separation Significantly Improves the Sensitivity of Polymerase Chain Reaction in Detecting *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in Dairy Cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 23: 260-267. Doi: 10.1177/104063871102300210.

48. **Cotton JA, Beatty JK, Buret AG. 2011.** Host parasite interactions and pathophysiology in *Giardia* infections. *International Journal for Parasitology* 41: 925-933. Doi: 10.1016/j.ijpara.2011.05.002.
49. **Cox FE. 2002.** History of human parasitology. *Clinical Microbiology Reviews* 15: 595-612. Doi: 10.1128/CMR.15.4.595-612.2002.
50. **Davis R, Keeble E, Wright A, Morgan KL. 1998.** South American camelids in the United Kingdom: Population statistics, mortality rates and causes of death. *Veterinary Record* 142: 162-166. Doi: 10.1136/vr.142.7.162.
51. **Dobell C. 1920.** The Discovery of the Intestinal Protozoa of Man. *Proceedings of the Royal Society of Medicine* 13: 1-15. Doi: 10.1177/003591572001301601.
52. **Dohoo I, Martin W, Stryhn H. 2003.** *Veterinary Epidemiologic Research*. 1era Edición. Charlottetown: University of the Prince Edward Island. 727 p.
53. **Eckmann L. 2003.** Mucosal defences against *Giardia*. *Parasite Immunology* 25: 259-270. Doi: 10.1046/j.1365-3024.2003.00634.x.
54. **Ehsan AM, Geurden T, Casaert S, Parvin SM, Islam TM, Ahmed UM, Claerebout E. 2015.** Assessment of zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium* between cattle and humans in rural villages in Bangladesh. *PLoS ONE* 10(2): 1-12. Doi: 10.1371/journal.pone.0118239.
55. **Erickson MC, Ortega YR. 2006.** Inactivation of Protozoan Parasites in Food, Water, and Environmental Systems. *Journal of Food Protection* 69: 2786-2808. Doi: 10.4315/0362-028X-69.11.2786.
56. **Escobedo AA, Almirall P, Alfonso M, Cimerman S, Rey S, Terry SL. 2009.** Treatment of intestinal protozoan infections in children. *Archives of Disease in Childhood* 94: 478-482. Doi: 10.1136/adc.2008.151852.
57. **Ey PL, Mansouri M, Kulda J, Nohyonkova E, Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G. 2007.** Genetic Analysis of *Giardia* from Hoofed Farm Animals Reveals Artiodactyl-Specific and Potentially Zoonotic Genotypes. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 44: 626-635. Doi: 10.1111/j.1550-7408.1997.tb05970.x.
58. **Foster DM, Smith GW. 2009.** Pathophysiology of Diarrhea in Calves. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* 25: 13-36. Doi: 10.1016/j.cvfa.2008.10.013.
59. **Fowler ME. 1996.** Husbandry and diseases of camelids. *OIE Revue Scientifique et Technique* 15: 155-169. Doi: 10.20506/rst.15.1.912.
60. **Frickmann H, Schwarz NG, Rakotozandrindrainy R, May J, Hagen R M. 2015.** PCR for enteric pathogens in high-prevalence settings. What does a positive signal tell us? *Infectious Diseases* 47: 491-498. Doi:10.3109/23744235.2015.1022212.
61. **Gallegos RF, 2013.** Índices productivos de alpacas del Centro de Investigación y

Producción “La Raya”. Revista de Investigaciones Altoandinas 15: 255-262.

62. **Gardner TB, Hill DR. 2001.** Treatment of giardiasis. Current Treatment Options in Gastroenterology 14: 114-128. Doi: 10.1128/CMR.14.1.114–128.2001.
63. **Geurden T, Vanderstichel R, Pohle H, von Samson-Himmelstjerna G, Morgan ER, Camuset P, Capelli G, Vercruyse J, Claerebout E. 2012.** A multicentre prevalence study in Europe on *Giardia duodenalis* on calves, with molecular identification and risk factor analysis. Veterinary Parasitology 190: 383-390. Doi: 10.1016/j.vetpar.2012.06.039
64. **Gillin FD, Reiner DS, Gault MJ, Douglas H, Das S, Wunderlich A, Sauch JF. 1987.** Encystation and Expression of Cyst Antigens by *Giardia lamblia* in Vitro. Science 235: 1040-1043. Doi: 10.1126/science.3547646.
65. **Gillin FD, Reiner DS, McCaffery JM. 1996.** Cell Biology of the Primitive Eukaryote *Giardia lamblia*. Annual Review of Microbiology 50: 679-705. Doi: 10.1146/annurev.micro.50.1.679.
66. **Gómez-Couso H, Ortega-Mora LM, Aguado-Martínez A, Rosadio-Alcántara R, Maturrano-Hernández L, Luna LE, Zanabria VH, Pedraza SD. 2012.** Presence and molecular characterisation of *Giardia* and *Cryptosporidium* in alpacas (*Vicugna pacos*) from Peru. Veterinary Parasitology 187: 414-420. Doi: 10.1016/j.vetpar.2012.01.025.
67. **Gómez-Puerta LA, Gonzales AE, Vargas-Calla A, López-Urbina MT, Cama V, Xiao L. 2020.** *Cryptosporidium parvum* as a risk factor of diarrhea occurrence in neonatal alpacas in Peru. Parasitology Research 119: 243-248. Doi: 10.1007/s00436-019-06468-7.
68. **Gómez-Puerta LA, Lopez-Urbina MT, Alarcon V, Cama V, Gonzales AE, Xiao L. 2014.** Ocurrance of *Giardia duodenalis* assemblages in alpacas in the Andean región. Parasitology International 63: 31-34. Doi: 10.1016/j.parint.2013.10.003.
69. **Gow S, Waldner C. 2006.** An examination of the prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in cows and calves from western Canadian cow-calf herds. Veterinary Parasitology 137: 50-61. Doi: 10.1016/j.vetpar.2005.05.071.
70. **Hernández-Gallo N, Cortés-Vecino J. 2012.** Prevalencia y factores de riesgo de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en terneros de ganado lechero de la zona noroccidental de la Sabana de Bogotá. Revista de Salud Pública 14: 169-181.
71. **Heyworth MF. 2016.** *Giardia duodenalis* genetic assemblages and hosts. Parasite 23: 13. Doi: 10.1051/parasite/2016013.
72. **Hillman A, Ash A, Elliot A, Lynbery A, Perez C, Thompson RCA. 2016.** Confirmation of a unique species of *Giardia*, parasitic in the quenda (*Isoodon obesulus*). International

- Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife 5: 110-115. Doi: 10.1016/j.ijppaw.2016.01.002.
- 73. Ho CR. 2017.** Agricultura familiar y desarrollo alpaquero en el sur del Perú: Auditoría Técnica de las experiencias de Soluciones Prácticas (2005-2015). 1era Ed. Lima: S. Prácticas. 116 p.
- 74. Hooshyar H, Rostamkhani P, Arbabi M, Delavari M. 2019.** *Giardia lamblia* infection: Review of current diagnostic strategies. Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench 12: 3-12. Doi: 10.22037/ghfbb.v0i0.1414.
- 75. Huang FD, White AC. 2006.** An Updated Review on *Cryptosporidium* and *Giardia*. Gastroenterology Clinics of North America 35: 291-314. Doi: 10.1016/j.gtc.2006.03.006.
- 76. Hunter PR, Thompson RCA. 2005.** The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. International Journal for Parasitology 35: 1181-1190. Doi: 10.1016/j.ijpara.2005.07.009.
- 77. Hurtado C, Anchapuri CC. 2017.** Mortalidad de Alpacas en época de estiaje y su efecto Económico en los productores en la comunidad de Huaytire Provincia de Candarave - Tacna. Ciencia & Desarrollo 11: 31-34. Doi: 10.33326/26176033.2007.11.220.
- 78. Isaac-Renton JL. 1991.** Immunological methods of diagnosis in giardiasis: An overview. Annals of Clinical and Laboratory Science 21: 116-122. Doi: 0091-7370/91/0300-0116 \$01.20.
- 79. Jarroll EL, Manning P, Lindmark DG, Coggins JR, Erlandsen SL. 1989.** *Giardia* cyst wall-specific carbohydrate: evidence for the presence of galactosamine. Molecular and Biochemical Parasitology 32: 121-131. Doi: 10.1016/0166-6851(89)90063-7.
- 80. Johnson K. 2010.** Investigation of the seasonal prevalence of gastorintestinal nematodes and protozoal parasites of naturally infected alpacas, *Lama pacos*, in the Midwest (Purdue University). Doi: 10.1145/1198467.1198470.
- 81. Jokipii A, Hemilä M, Jokipii L. 1985.** Prospective study of acquisition of *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia*, and gastrointestinal illnes. The Lancet 326: 487-489. Doi: 10.1016/S0140-6736(85)90412-X.
- 82. Jokipii L, Pohjola S, Jokipii AMM. 1985.** Cryptosporidiosis Associated With Traveling and Giardiasis. Gastroenterology 89: 838-842. Doi: 10.1016/0016-5085(85)90581-5.
- 83. Kadwell M, Fernandez M, Stanley HF, Baldi R, Wheler JC, Rosadio R, Bruford MW. 2001.** Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 268: 2575-2584. Doi: 10.1098/rspb.2001.1774.
- 84. Kalyossef S, Goldman D. 2010.** Giardiasis and cryptosporidiosis. Pediatrics in Review

31: 81-82. Doi: 10.1542/pir.31-2-81.

85. **Koehler AV, Jex AR, Haydon SR, Stevens MA, Gasser RB.** 2014. *Giardia*/giardiasis — A perspective on diagnostic and analytical tools. *Biotechnology Advances* 32: 280-289. Doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.10.009.
86. **Koehler AV, Rashid MH, Zhang Y, Vaughan JL, Gasser RB, Jabbar A.** 2018. First cross-sectional, molecular epidemiological survey of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Enterocytozoon* in alpaca (*Vicugna pacos*) in Australia. *Parasites and Vectors* 11: 1-8. Doi: 10.1186/s13071-018-3055-6.
87. **Lalle M, Pozio E, Capelli G, Bruschi F, Crotti D, Cacciò SM.** 2005. Genetic heterogeneity at the  $\beta$ -giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *International Journal for Parasitology* 35: 207-213. Doi: 10.1016/j.ijpara.2004.10.022.
88. **Lamb W.** 1859. Mikroskopische untersuchungen der Darmexcrete. *Vierteljahrsschr. Prakst. Heilkunde* 61:1–58.
89. **Lane S, Lloyd D.** 2002. Current trends in research into the waterborne parasite *Giardia*. *Critical Reviews in Microbiology* 28: 123-147. Doi: 10.1080/1040-840291046713.
90. **Larson J, Ho J.** 2007. Information Resources on the South American Camelids: llamas, alpacas, guanacos, and vicunas 1967-2003. Beltsville: United States Department of Agriculture. 160 p.
91. **Lasek-Nesselquist E, Bogomolni AL, Gast RJ, Welch DM, Ellis JC, Sogin ML, Moore MJ.** 2008. Molecular characterization of *Giardia intestinalis* haplotypes in marine animals: Variation and zoonotic potential. *Diseases of Aquatic Organisms* 81: 39-51. Doi: 10.3354/dao01931.
92. **Lasek-Nesselquist E, Welch DM, Sogin ML.** 2010. The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marine systems. *International Journal for Parasitology* 40: 1063-1074. Doi: 10.1016/j.ijpara.2010.02.015.
93. **Lebbad M, Petersson I, Karlsson L, Botero-Kleiven S, Andersson JO, Svenungsson B, Svård SG.** 2011. Multilocus Genotyping of Human *Giardia* Isolates Suggests Limited Zoonotic Transmission and Association between Assemblage B and Flatulence in Children. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 5: e1262. Doi: 10.1371/journal.pntd.0001262.
94. **Lee S, Levy D, Craun G, Beach M, Calderon R.** 2002. Surveillance for Waterborne-Disease Outbreaks-United States, 1999-2000. *Center for Disease Control and Prevention* 51: 1-48.
95. **Li J, Wang H, Wang R, Zhang L.** 2017. *Giardia duodenalis* infections in humans and



- other animals in China. *Frontiers in Microbiology* 8: 2004. Doi: 10.3389/fmicb.2017.02004.
96. **Lloyd D, Wallis P. 2001.** A *Giardia* feast. *Trends in Parasitology* 17: 115-117. Doi: 10.1016/S1471-4922(00)01873-0.
97. **López WP, Chamorro ML, Garmendia AEB. 2011.** Detección rápida de rotavirus y coronavirus en crías de alpaca (*Vicugna pacos*) con diarrea en la región del Cusco, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 22: 407-411.
98. **Lopez-Romero G, Quintero J, Astiazarán-García H, Velázquez C. 2015.** Host defences against *Giardia lamblia*. *Parasite Immunology* 37: 394-406. Doi: 10.1111/pim.12210.
99. **López-Urbina MT, Gonzáles AE, Gomez-Puerta LA, Romero-Arbizu MA, Perales-Camacho RA, Rojo-Vázquez FA, Xiao L, Cama V. 2009.** Prevalence on Neonatal Cryptosporidiosis in Andean Alpacas (*Vicugna pacos*) in Perú. *The Open Parasitology Journal* 3: 9-13. Doi: 1874-4214/09.
100. **Lucas JR, Siever MC, Barrios MA, Rodríguez JG, Vásquez MC, Lira BM, Espinoza J. 2016.** Patógenos Involucrados en Casos Fatales de Diarrea en Crías de Alpaca de la Sierra Central del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 27: 169-175. Doi: 10.15381/rivep.v27i1.11465.
101. **Luján HD, Mowatt MR, Byrd LG, Nash TE. 1996.** Cholesterol starvation induces differentiation of the intestinal parasite *Giardia lamblia*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 7628-7633. Doi: 10.1073/pnas.93.15.7628.
102. **Luján HD. 2006.** *Giardia* y giardiasis. *Medicina* 66: 70-74.
103. **Lumbreras LG, Bonilla H, Burga M, Cotler J, Espinoza SW, Flores GA, López SJ, López JS, Yepes E. 1980.** Nueva Historia General del Perú. Lima: Mosca Azul Editores. 263 p.
104. **Lyu Z, Shao J, Xue M, Ye Q, Chen B, Quin Y, Wen J. 2018.** A new species of *Giardia* Künstler, 1882 (Sarcomastigophora: Hexamitidae) in hamsters. *Parasites and Vectors* 11: 1-8. Doi: 10.1186/s13071-018-2786-8.
105. **Mahato MK, Singh DK, Rana HB, Acharya KP. 2018.** Prevalence and risk factors associated with *Giardia duodenalis* infection in dairy cattle of Chitwan, Nepal. *Journal of Parasitic Diseases* 42: 122-126. Doi: 10.1007/s12639-017-0975-6.
106. **Mamani J, Condemayta Z, Calle L. 2009.** Causas de mortalidad de alpacas en tres principales centros de producción ubicados en puna seca y húmeda del departamento de Puno. *Redvet Revista Electrónica de Veterinaria* 10(8): 1-13.
107. **Martín EC, Pinto CE, Cid VMD. 2010.** Camélidos Sudamericanos: estado sanitario de sus crías. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 4: 37-50. Doi:

10.5209/RCCV.23494.

- 108. McAllister TA, Olson ME, Fletch A, Wetzstein M, Entz T. 2005.** Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in beef cows in southern Ontario and in beef calves in southern British Columbia. *Canadian Veterinary Journal* 46: 47-55.
- 109. McArthur AG, Morrison HG, Nixon JE, Passamaneck NQ, Kim U, Hinkle G, Crocker MK, Holder ME, Farr R, Reich CI, Olsen GE, Aley SB, Adam RD, Gillin FD, Sogin ML. 2000.** The *Giardia* genome project database. *FEMS Microbiology Letters* 189: 271-273. Doi: 10.1016/S0378-1097(00)00299-8.
- 110. Melo M. 2012.** Guía Técnica “Asistencia Técnica Dirigida en Mejoramiento Genético De Alpacas”. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. 40 p.
- 111. Melo T, Santis MJ, Arantes VM, Correa da Costa F, Goiabeira LA, Marques ES, Cury MC. 2008.** Prevalência e fatores de risco relacionados à infecção por *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. em diferentes espécies de animais. XII Seminário de Iniciação Científica. Universidad Federal de Uberlândia. 1-10 p.
- 112. Monis PT, Thompson RCA. 2003.** *Cryptosporidium* and *Giardia*-zoonoses: Fact or fiction? *Infection, Genetics and Evolution* 3: 233-244. Doi: 10.1016/j.meegid.2003.08.003.
- 113. Morales CS, Siu CE, Ramírez PR, Navarro OA. 2017.** Determinación de Serotipos de *Escherichia coli* aisladas de crías de alpacas (*Vicugna pacos*) con y sin diarrea en Huancavelica. *Revista Electronica de Veterinaria* 18(9).
- 114. Moya E, Torres J. 2008.** Familias alpaqueras enfrentando al cambio climático. 1ra Ed. Lima: Soluciones Prácticas. 110 p.
- 115. O’Handley RM, Olson ME. 2006.** Giardiasis and Cryptosporidiosis in Ruminants. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* 22: 623-643. Doi: 10.1016/j.cvfa.2006.07.002.
- 116. Ortega YR, Adam RD. 1997.** *Giardia*: Overview and Update. *Clinical Infectious Diseases* 25: 545-549. Doi: 10.1086/513745.
- 117. Ortega-Pierres MG, Jex AR, Ansell BR, Svärd SG. 2018.** Recent advances in the genomic and molecular biology of *Giardia*. *Acta Tropica* 184: 67-72. Doi: 0.1016/j.actatropica.2017.09.004.
- 118. Palacios C, Perales R, Chaveraa A, López T. 2005.** Caracterización anátomo-histopatológica de enteropatías causantes de mortalidad en crías de alpaca. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 16: 34-40. Doi: 10.15381/rivep.v16i1.1527.
- 119. Palacios CA, Perales RA, Chavera AE, López MT, Braga WU, Moro M. 2006.** *Eimeria macusaniensis* and *Eimeria ivitaensis* co-infection in fatal cases of diarrhoea in young alpacas (*Lama pacos*) in Peru. *Veterinary Record* 158: 344-345. Doi:

10.1136/vr.158.10.344.

120. **Pinto CE, Martín EC, Cid VMD. 2010.** Camélidos sudamericanos: clasificación, origen y características. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 4: 23-26.
121. **Plutzer J, Lassen B, Jokelainen P, Djurković-Djaković O, Kucsera I, Dorbek-Kolin E, Soba B, Sréter T, Imre K, Omeragic J, Nikolić A, Bobic B, Živičnjak T, Lučinger S, Lazarić L, Kučina R J, Srika J, Deksne G, Keidāne D, Kváč M, Hůzová Z, Karanis P. 2018.** Review of *Cryptosporidium* and *Giardia* in the eastern part of Europe, 2016. *Euro Surveill* 23 (4). Doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.4.16-00825.
122. **Quílez J, Sánchez-Acedo C, Del Cancho E, Clavel A, Caucapé AC. 1996.** Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragon (northeastern Spain). *Veterinary Parasitology* 66: 139-146. Doi: 10.1016/S0304-4017(96)01015-1.
123. **Quispe EC, Rodríguez TC, Iñiguez LR, Mueller JP. 2009.** Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamérica. *Animal Genetic Resources Information* 45:1-14. Doi: 10.1017/S1014233909990277.
124. **Raggi LA, MacNiven V, Rojas R, Castellaro G, Zolezzi M, Latorre E, Parraguez VH, Ferrando G. 1997.** Caracterización de la ganancia de peso corporal de alpacas (*Lama pacos*) desde el nacimiento y hasta los seis meses de edad en cuatro regiones de Chile. *Agro sur* 25: 1-10.
125. **Ramírez-Ocampo S, Cotte-Alzate JD, Escobedo AA, Rodríguez-Morales AJ. 2017.** Prevalence of zoonotic and non-zoonotic genotypes of *Giardia intestinalis* in cats: A systematic review and meta-analysis. *Le Infezioni in Medicina* 25: 326-328.
126. **Ramos V. 2010.** Manual de crianza y manejo de alpacas y llamas. 1era Ed. La Paz: Suyana Fundación. 60 p.
127. **Renieri C, Frank EN, Rosati AY, Antonini M. 2009.** Definición de razas en llamas y alpacas. *Animal Genetic Resources Information* 45: 45-54. Doi: 10.1017/s1014233909990319.
128. **Rodríguez HA, Casas AE, Luna EL, Gavidia CC, Zanabria HV, Rosadio AR. 2012.** Eimeriosis in Young Alpacas: Prevalence and Risk Factors. *Rev Inv Vet Perú* 23(3): 289-298.
129. **Rojas M, Manchego A, Rocha CB, Fornells LA, Silva RC, Mendes GS, Dias HG, Sandoval N, Pezo D, Santos N. 2016.** Outbreak of diarrhea among preweaning alpacas (*Vicugna pacos*) in the southern Peruvian highland. *Journal of Infection in Developing Countries* 10: 269-274. Doi: 10.3855/jidc.7398.
130. **Rosadio AR, Maturrano HL, Pérez JD, Luna EL. 2012.** El complejo entérico neonatal en alpacas andinas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 23: 261-271. Doi: 10.15381/rivep.v23i3.908.

131. **Rosadio R, Ameghino E. 1994.** Coccidial infections in neonatal Peruvian alpacas. *Veterinary Record* 135: 459-460. Doi: 10.1136/vr.135.19.459.
132. **Rosadio R. 2010.** Mortalidad neonatal en alpacas. En: *Sanidad de alpacas en la etapa neonatal*. 1era Ed. Madrid: Editorial Complutense S. A. p. 77-87
133. **Rosignol JF. 2010.** *Cryptosporidium* and *Giardia*: Treatment options and prospects for new drugs. *Experimental Parasitology* 124: 45-53. Doi: 10.1016/j.exppara.2009.07.005.
134. **Rulofson FC, Atwill ER, Holmberg CA. 2001.** Fecal shedding of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Salmonella* organisms, and *Escherichia coli* O157:H7 from llamas in California. *American Journal of Veterinary Research* 62: 637-642. Doi: 10.2460/ajvr.2001.62.637.
135. **Ryan U, Hijjawi N, Feng Y, Xiao L. 2019.** *Giardia*: an under-represents foodborne parasite. *International Journal for Parasitology* 49: 1-11. Doi: 10.1016/j.ijpara.2018.07.003.
136. **Sánchez C, López MC, Galeano LA, Qvarnstrom Y, Houghton K, Ramírez JD. 2018.** Molecular detection and genotyping of pathogenic protozoan parasites in raw and treated water samples from southwest Colombia. *Parasites and Vectors* 11: 563. Doi: 10.1186/s13071-018-3147-3.
137. **Santín M. 2013.** Clinical and subclinical infections with *Cryptosporidium* in animals. *New Zealand Veterinary Journal*, 61(1), 1–10. doi:10.1080/00480169.2012.731681.
138. **Savioli L, Smith H, Thompson A. 2006.** *Giardia* and *Cryptosporidium* join the “Neglected Diseases Initiative.” *Trends in Parasitology* 22: 203-208. Doi: 10.1016/j.pt.2006.02.015.
139. **Scorza AV, Ballweber AV, Tangtrongsup S, Panuska C, Lappin MR. 2012.** Comparisons of mammalian *Giardia duodenalis* assemblages based on the  $\beta$ -giardin, glutamate dehydrogenase and triose phosphate isomerase genes. *Veterinary Parasitology* 189: 182-188. Doi: 10.1016/j.vetpar.2012.04.032.
140. **Sharpe MS, Lord LK, Wittum TE, Anderson DE. 2009.** Pre-weaning morbidity and mortality of llamas and alpacas. *Australian Veterinary Journal* 87: 56-60. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2008.00377.x>.
141. **Shimada M, Shimada I. 1985.** Prehistoric Llama Breeding and Herding on the North Coast of Peru. *American Antiquity* 50: 3-60. Doi: 10.2307/280631.
142. **Soliman RH, Fuentes I, Rubio JM. 2011.** Identification of a novel Assemblage B subgenotype and a zoonotic Assemblage C in human isolates of *Giardia intestinalis* in Egypt. *Parasitology International* 60: 507-511. Doi: 10.1016/j.parint.2011.09.006.
143. **Squire SA, Ryan U. 2017.** *Cryptosporidium* and *Giardia* in Africa: current and future

- challenges. *Parasites and Vectors* 10: 195. Doi: 10.1186/s13071-017-2111-y.
144. **Stahl PW. 2008.** Animal Domestication in South America. En: *The Handbook of South American Archaeology*. 1era Ed. New York: Springer. 121-130 p. doi: 10.1007/978-0-387-74907-5\_8.
  145. **Stuart JM, Orr HJ, Warburton FG, Jeyahanth S, Pugh C, Morris I, Sarangi J, Nichols G. 2003.** Risk factors for sporadic giardiasis: A case-control study in Southwestern England. *Emerging Infectious Diseases* 9: 229-233. Doi: 10.3201/eid0902.010488.
  146. **Sulaiman IM, Cama V. 2006.** The Biology of *Giardia* Parasites. En: *Foodborne Parasites. Food Microbiology And Food Safety Series*. Boston: Springer. 15-32 p. Doi: 10.1007/0-387-31197-1\_2.
  147. **Suman M, Alam M, Pun S, Khair A, Ahmed S, Uchida R. 2013.** Prevalence of *Giardia lamblia* Infection in Children and Calves in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine* 9: 177-182. Doi: 10.3329/bjvm.v9i2.13474.
  148. **Thompson RCA, Ash A. 2016.** Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections. *Infection, Genetics and Evolution* 40: 315-323. Doi: 10.1016/j.meegid.2015.09.028.
  149. **Thompson RCA, Ash A. 2019.** Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections – What’s new? *Infection, Genetics and Evolution* 75: 103951. Doi: 10.1016/j.meegid.2019.103951.
  150. **Thompson RCA, Monis P. 2012.** *Giardia*-From Genome to Proteome. *Advances in Parasitology* 78: 57-95. Doi: 10.1016/B978-0-12-394303-3.00003-7.
  151. **Thompson RCA, Palmer CS, O’Handley R. 2008.** The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *Veterinary Journal* 177: 18-25. Doi: 10.1016/j.tvjl.2007.09.022.
  152. **Thompson RCA, Reynolson JA, Mendis AHW. 1993.** *Giardia* and giardiasis. En: *Advances in Parasitology* 32: 71-160. Doi: 10.1016/S0065-308X(08)60207-9.
  153. **Thompson RCA. 2000.** Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *International Journal for Parasitology* 30: 1259-1267. Doi: 10.1016/S0020-7519(00)00127-2.
  154. **Thompson RCA. 2004.** The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Veterinary Parasitology* 126: 15-35. Doi: 10.1016/j.vetpar.2004.09.008.
  155. **Trout JM, Santín M, Fayer R. 2008.** Detection of Assemblage A, *Giardia duodenalis* and *Eimeria* spp. in alpacas on two Maryland farms. *Veterinary Parasitology* 153: 203-208. Doi: 10.1016/j.vetpar.2008.02.006.

- 156. Underwood WJ, Blauwiekel R, Delano ML, Gillesby R, Mischler SA, Schoell A. 2015.** Biology and Diseases of Ruminants (Sheep, Goats, and Cattle). En: Laboratory Animal Medicine. 3era Ed. Londres: Elsevier. 623-694 p. Doi: 10.1016/B978-0-12-409527-4.00015-8.
- 157. VanDalen LP, Altamirano EA, Grados RH, Castillo VR. 2015.** Los camélidos de Lumbra, valle medio del río Chancay, Perú. Investigaciones Sociales 18: 87-104. Doi: 10.15381/is.v18i33.10982.
- 158. Vilá B. 2012.** Camélidos Sudamericanos. 1era Ed. Buenos Aires: Editorial Universitaria de Buenos Aires (Eudeba).
- 159. Wegayehu T, Karim MR, Erko B, Zhang L, Tilahun G. 2016.** Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* isolates from calves in Oromia Special Zone, Central Ethiopia. Infection, Genetics and Evolution 43: 281-288. Doi: 10.1016/j.meegid.2016.06.005.
- 160. Wheeler J. 2010.** Clasificación de las alpacas (*Vicugna pacos*) dentro de los camélidos sudamericanos. En: Sanidad de alpacas en la etapa neonatal. 1era Ed. Madrid: Editorial Complutense S. A. p. 19-26
- 161. Wheeler JC. 1958.** Taxonomía de los Camélidos Sudamericanos. Lima: Instituto de Investigación y Desarrollo de Camélidos Sudamericanos. 5 p.
- 162. Wheeler JC. 1995.** Evolution and present situation of the South American Camelidae. Biological Journal of the Linnean Society 54: 271-295. Doi: 10.1111/j.1095-8312.1995.tb01037.x.
- 163. Wheeler JC. 2012.** South American camelids - past, present and future. Journal of Camelid Science 5: 1-24.
- 164. Whitehead CE, Anderson DE. 2006.** Neonatal diarrhea in llamas and alpacas. Small Ruminant Research 61: 207-215. Doi: 10.1016/j.smallrumres.2005.07.012.
- 165. Whitehead CE. 2009.** Management of Neonatal Llamas and Alpacas. Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice 25: 353-366. Doi: 10.1016/j.cvfa.2009.03.006.
- 166. Wright JM, Dunn LA, Upcroft P, Upcroft JA. 2003.** Efficacy of anti-giardial drugs. Expert Opinion on Drug Safety 2: 529-541. Doi: 10.1517/14740338.2.6.529.
- 167. Xiao L, Fayer R. 2008.** Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. International Journal for Parasitology 38: 1239-1255. Doi: 10.1016/j.ijpara.2008.03.006.
- 168. Xiao L, Feng Y. 2017.** Molecular epidemiologic tolos waterborne pathogens *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis*. Food Waterborne Parasitology 8-9: 14-32. Doi: 10.1016/j.fawpar.2017.09.002.
- 169. Yaoyu F, Xiao L. 2011.** Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia*

species and giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews* 24: 110-140. Doi: 10.1128/CMR.00033-10.

170. **Zacari M, Pacheco L. 2005.** Depredación vs problemas sanitarios como causas de mortalidad de ganado camélido en el Parque Nacional Sajama. *Ecología en Bolivia: Revista del Instituto de Ecología* 40: 58-61.