

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Evaluación de la madre positiva A *Cryptosporidium*
parvum como factor de riesgo para la presentación de
Cryptosporidium parvum en cría de alpacas con
diarrea en la provincia de Canchis departamento de
Cusco**

Tesis

para optar el título de Médico Veterinario

AUTOR

Rafael Vladimir Aguilar Jáuregui

Lima – Perú

2009

Agradecimientos:

A mis padres Rafael y Nemia que gracias a su apoyo incondicional nunca hubiese logrado todo lo que soy.

Cristina y Carlita mis dos hermanas que son testigos de toda mi vida y siempre me dieron fuerzas para continuar y nunca desfallecer.

Mis tíos Raúl , Eduardo e Isaías que con su ejemplo consejos y apoyo siempre estuvieron cerca de mí.

A la Doctora Teresa López porque gracias a su apoyo la paciencia y sobre todo por la confianza que usted depositó en mi para poder llevar a cabo el desarrollo y la culminación de la tesis. Así como también al Dr. Armando González por toda la ayuda que me brindó.

A Luis Gómez, Gianina Espinoza mis dos grandes amigos que conocí y siempre me apoyaron, tuvieron paciencia y compartimos muchas experiencias como grandes amigos.

A mis amigos del laboratorio: Rebeca Coronado, Cecilia Villacorta, Gino, Julio que con su apoyo pude lograr desarrollar la tesis en el campo y el laboratorio.

Ivan y Boris dos de mis mejores amigos que me apoyaron en mi carrera,

Luis Cerro por el apoyo y la paciencia

Juan , Pancho, Danilo : por darnos su amistad y apoyo en Maranganí-Cusco.

Johan, Elvis, Toño, Sampallo ,Domesiano amigos que llegamos a conocer en el transcurso del muestreo de la tesis y que nos apoyaron mucho y agradezco haberlos conocido.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE CUADROS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMEN	vi
SUMARY	vii
I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA	3
1. Generalidades	3
2. Especies y características morfológicas	5
3. Ciclo biológico	8
4. Epidemiología	10
4.1 Prevalencia	10
4.2 Fuentes de contagio y vías de transmisión	11
4.3 Factores de riesgo	12
4.4 Parásito	15
4.4.1 Características y resistencia de los ooquistes	15
4.4.2 Características del ciclo biológico	16
4.4.3 Dosis infectante y características de la cepa	16
4.5 Medio ambiente	17
5. Patogénesis	18
6. Signos de la enfermedad	19
7. Lesiones	21
8. Diagnóstico	22
9. Tratamiento y prevención	24
III. MATERIALES Y METODOS	26
1. Diseño de estudio	26
2. Lugar de estudio	26
3. Lugares de muestreo	27
4. Tinción de Ziehl – Neelsen Modificada (ZNM)	29

5. Criterio de diagnóstico	29
6. Análisis de datos	30
IV. RESULTADOS	31
V. DISCUSIÓN	35
VI. CONCLUSIONES	40
VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA	41

Lista de Cuadros

		Pág.
Cuadro 1	Especies de <i>Cryptosporidium</i>	7
Cuadro 2	Prevalencia de <i>C. parvum</i> encontrada en alpacas neonatales por departamento en el Perú.	11
Cuadro 3	Diagnóstico de <i>C. parvum</i> y diarrea en madres alpacas de la provincia de Canchis (2007).	31
Cuadro 4	Diagnóstico de <i>C. parvum</i> y diarrea en crías alpacas de la provincia de Canchis (2007).	32
Cuadro 5	Diagnóstico de <i>C. parvum</i> por comunidad en madres alpacas de la provincia de Canchis (2007).	32
Cuadro 6	Diagnóstico de <i>C. parvum</i> por comunidad en crías alpacas de la provincia de Canchis (2007).	33
Cuadro 7	Presencia de <i>Cryptosporidium</i> sp por sexo alpacas de la provincia de Canchis (2007).	33
Cuadro 8	Diagnóstico de <i>Cryptosporidium</i> en madres y crías con respecto al total diagnosticado madres alpacas de la provincia de Canchis (2007).	34
Cuadro 9	Buscando asociación y el chance para diagnóstico para <i>C. parvum</i> de las crías de alpaca y el diagnóstico de <i>C. parvum</i> de las madres alpacas mediante el modelo de regresión logística en la provincia de Canchis (2007).	34

Lista de Figuras

		Pag.
Fig. 1.	Ciclo biológico del <i>Cryptosporidium parvum</i> . (CDC) Atlanta 2007.	9
Fig. 2.	Microfotografía de ooquistes de <i>Cryptosporidium parvum</i> . Técnica de ZNM a 40X.	23

RESUMEN

La criptosporidiosis es una enfermedad ocasionada por varias especies del género *Cryptosporidium*, se caracteriza por producir diarrea, sobre todo en neonatos y, dependiendo de la especie involucrada, puede ser zoonótica, llegándose a considerar un problema de salud pública. Diversos estudios fueron realizados en el Perú para poder determinar la prevalencia del *Cryptosporidium* sp. encontrándose los mayores casos en los lugares que contaban con la mayor cantidad de animales. El objetivo del presente trabajo fue determinar de manera categórica si la presencia de *Cryptosporidium parvum* en las madres constituye un factor de riesgo para la presentación de *Cryptosporidium parvum* en las crías. La presencia de *Cryptosporidium* sp. en las madres y su asociación con *Cryptosporidium* sp en las crías fue determinada en 1396 animales, entre madres y crías de 0 a 30 días de edad, entre los meses de enero y marzo del 2007, en las localidades de la Raya, Choquecota, Chillihua, Maranganí y Silli, de la provincia de Canchis del departamento del Cuzco. El diagnóstico de *Cryptosporidium* se realizó en muestras de heces tomadas directamente del recto y analizadas empleando la tinción de Ziehl – Neelsen Modificado. Los análisis de riesgo se realizaron mediante una regresión logística. Los resultados mostraron que existe una asociación altamente significativa ($p < 0.05$) y que una cría con madre positiva a *C. parvum* tiene 2.098 veces más riesgo de infectarse con el parásito que una cría con madre negativa a *C. parvum*. Las variables lugar, sexo y presencia de diarrea, también fueron analizadas. Se determinó que existe una asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) para la variable lugar y que esta variable es un factor de riesgo para las crías de la localidad de La Raya (OR = 0.2290).

Palabras claves: alpacas, *Cryptosporidium* sp., Ziehl – Neelsen Modificada, factor de riesgo.

SUMMARY

Cryptosporidiosis is a disease caused by different species of the *Cryptosporidium* genus it overall produces diarrhea in newborns and depending on the specie involved, these can be involved in a problem of public health. Many studies were performed in Peru to determine the prevalence of *Cryptosporidium* and they showed that a major number of cases were in an area with a higher number of animals. The aim of this study was to establish if presence of *Cryptosporidium parvum* in mothers is a risk factor for presentation of *Cryptosporidium parvum* in offsprings. The presence and risk factors associated with *Cryptosporidium sp.* between mothers and newborns alpacas were evaluated in 1396 animals. All offsprings were between 0 and 30 days-old and were sampled since January till March 2007. The study was realized in five localities, La Raya, Choquecota, Chillihua, Maranganí and Silli in Canchis province, Cuzco. The samples of feces were collected directly from the alpaca's rectum, stained using Modified Ziehl-Neelsen stain and observed by microscopy in Parasitology's Laboratory of Veterinary of San Marcos University. Logistic regressions were performed. Results show that an offspring from a positive mother to *Cryptosporidium sp.* was more than 2.098 times as likely to infect with this parasite compared with an offspring from a negative mother, viewing a highly significant association ($p < 0.05$). Likewise, other variables as location, sex and presence of diarrhea were also analyzed. It was determined that location has statistic significativity ($p < 0.05$) and this variable is a risk factor for offsprings from La Raya locality (OR = 0.2290).

Key words: alpacas, *Cryptosporidium sp.*, Modified Ziehl – Neelsen Stain, risk factor.

I. INTRODUCCION

La crianza de camélidos sudamericanos constituye una de las actividades más importantes de generación de recursos para un gran sector de la población altoandina del país. Según el Ministerio de Agricultura, son aproximadamente 170,000 familias las que se dedican a esta actividad. Los camélidos sudamericanos, entre ellos la alpaca, se caracterizan por su adaptación a regiones de gran altitud y se estima que la población de alpacas a nivel nacional es de 3'216,573. Los departamentos de Puno, Cusco y Arequipa son los mayores productores de alpacas, con el 55%, 15% y 10% respectivamente (FAO 2005).

Debido a que los camélidos sudamericanos representan una de las principales fuentes de ingreso para un importante sector de la población altoandina del país, es necesario conocer su sistema de crianza y las enfermedades infecciosas y parasitarias que los afectan. Este conocimiento contribuiría a mejorar la producción y a incrementar los ingresos de los pobladores de esta región. Así, observamos que la diarrea de las alpacas recién nacidas representa una grave enfermedad, que limita en gran medida la productividad de los camélidos sudamericanos, principalmente para aquellos productores que tienen crianza no tecnificada y dedicadas al pastoreo.

Existen diversas entidades etiológicas que participan en la presentación del síndrome diarreico neonatal en las alpacas. Entre los agentes etiológicos más comunes

se encuentra la *Escherichia coli* enteropatógena, rotavirus y coronavirus, *Clostridium perfringens*, *Eimeria* y *Cryptosporidium parvum*. En este sentido, diversos estudios han demostrado que el *Cryptosporidium* sp. puede afectar a los animales jóvenes produciendo una alta morbilidad y mortalidad como se pudo observar en corderos y cabritos, donde la infección es más frecuente entre los 4 a 15 días de edad, produciendo cuadros diarreicos (Angus, 1990; Cármenes *et al.*, 1993).

El desarrollo de la biología molecular para realizar diagnósticos precisos y estudios taxonómicos, han podido ayudar considerablemente a brindar mayor información acerca de la identificación del *Cryptosporidium*, inclusive encontrando en los últimos años nuevas especies. Pero, el análisis coproparasitológico y las tinciones continúan siendo las herramientas para el estudio epidemiológico de los protozoos en animales, por su rapidez, sencillez y bajo costo.

Existen diversos estudios que han ayudado a encontrar el verdadero papel que tiene el *Cryptosporidium* en el complejo entérico neonatal de los rumiantes domésticos. En este contexto, se ha podido determinar su intervención como agente principal o secundario en las presentaciones de enfermedades diarreicas, principalmente en neonatos. El objetivo del presente trabajo fue determinar, de manera definitiva, si las madres que son diagnosticadas positivas a *Cryptosporidium* representan un factor de riesgo para la presentación de *Cryptosporidium* y diarrea en las crías del departamento de Cusco. También se determinaron otros factores de riesgo, como localidad, sexo y el tipo de diarrea.

II. REVISION DE LITERATURA

1. GENERALIDADES

La criptosporidiosis es una enfermedad zoonótica parasitaria, causada por un protozoo perteneciente al phylum Apicomplexa, clase Sporozoa, orden Eucoccidiida, familia Cryptosporidiidae y género *Cryptosporidium* (Xiao *et al.*, 2004; Caccio y Pozio, 2006). Así mismo, el género *Cryptosporidium* es de distribución cosmopolita y comprende organismos que se desarrollan y multiplican en las células epiteliales de los sistemas digestivo y respiratorio de vertebrados. Se han descrito infecciones en más de 170 especies de vertebrados entre mamíferos, aves, reptiles y peces (Cordero Del Campillo, 2001).

La enfermedad por *Cryptosporidium* causa una morbilidad de casi el 100% y una mortalidad que es dependiente del nivel de gravedad de la enfermedad, la edad del hospedador y la presencia de otros patógenos, como por ejemplo *Escherichia coli* (Cordero del Campillo, 1999). Hasta la fecha, el *Cryptosporidium* está considerado en el grupo de los principales enteropatógenos causantes de diarrea en el ganado joven. Consecuentemente, el *C. parvum* es responsable de la mayor cantidad de brotes de diarrea, con predilección en rumiantes neonatos (Trotz-Williams *et al.*, 2005; O'Handley *et al.*, 2006).

La criptosporidiosis puede ser autolimitante en individuos inmunocompetentes y fatal en aquellos individuos inmunosuprimidos o en condiciones de estrés (McGavin, 2001). La criptosporidiosis está caracterizada por producir una diarrea prolongada en mamíferos (Quílez *et al.*, 1996). Puede afectar tanto a mamíferos inmunocompetentes como inmunocomprometidos, en los que la diarrea tiende a ser severa y persistente con un alto grado de morbilidad y mortalidad (Vitovee y Koudela, 1992; Majewska *et al.*, 1999).

El *Cryptosporidium* sp. fue descrito por primera vez por Ernest Edward Tyzzer en 1907. En 1910 se identifica al *Cryptosporidium muris*, el cual fue descrito detalladamente, y en 1912 se reporta al *Cryptosporidium parvum*, con estadios de desarrollo sólo en el intestino delgado de ratones y ooquistes pequeños. Por otro lado, Slavin en 1955 reporta al *Cryptosporidium meleagridis* en pavos (Fayer, 2005), en 1971 *Cryptosporidium* spp. fue reportado asociado a diarreas de bovinos por Panciera *et al.* Casi simultáneamente en 1976, Nime *et al.* y Meisel *et al.*, reportan criptosporidiosis en humanos. Luego, en 1977 informan por primera vez en forma completa *Cryptosporidium* en reptiles (Brownstein *et al.*, 1977). Posteriormente son reportados por “Centres for Diseases Control” de EE.UU. los casos de 21 hombres con criptosporidiosis y SIDA en seis ciudades (Goldfarb *et al.*, 1982).

Los aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en humanos se describen en 1990 (Casemore, 1990). Un año después, en 1991, se establece a la criptosporidiosis como una de las infecciones entéricas más comunes en el humano (Current y Garcia, 1991). Por otro lado, en 1993 el *Cryptosporidium* es reconocido en EEUU como problema de salud pública asociado al agua de beber y también le se señala como agente ubicuo en la naturaleza, debido a asociaciones ecológicas y al agua como su principal agente de diseminación (Arcay, 1993).

La presencia de *C. parvum* se describió por primera vez en el ganado ovino (Berg *et al.* 1978). Mas tarde, se reportó en camélidos sudamericanos (Rojas *et al.*, 1988) y sus efectos patógenos se describieron en alpacas neonatas (López *et al.*, 2001).

Por otro lado, los primeros casos en humanos se reportaron en 1976 y estuvieron asociados con una exposición de granja (Janoff, 1987; Meisel *et al.*, 1976; Nime *et al.*, 1976). Posteriormente, la criptosporidiosis fue clasificada como una zoonosis que cursa con diarrea en personas inmunocompetentes e inmunocomprometidas, especialmente en aquellas con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (AIDS) (Current, 1988).

2. ESPECIES Y CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Los ooquistes pequeños del *Cryptosporidium* sp miden de 4 a 6 μm de diámetro, mientras que los ooquistes más grandes miden de 5.6 a 7.4 μm de diámetro, según sea la especie. En ambos casos los ooquistes son de forma esférica, presentan una membrana delgada compuesta de una sola capa de 0.5 μm de grosor y en su interior contiene cuatro esporozoitos desnudos, es decir sin esporoquiste (Gorman, 1987; Atias, 1991; Vásquez *et al.*, 1998).

Dentro de las especies del género *Cryptosporidium* que afectan a los rumiantes encontramos al *C. bovis*, *C. andersoni* y *C. parvum*. El *C. bovis* parasita el intestino de terneros (Fayer *et al.*, 2005). *C. andersoni* afecta sólo a bovinos adultos, se localiza en el cuajar y presenta ooquistes ovoides y el *C. parvum* que afecta a todos los rumiantes, es de localización intestinal y posee ooquistes esféricos u ovoides de menor tamaño (Upton y Current, 1985; O'Donoghue, 1995; Xiao *et al.*, 2004).

Estudios moleculares recientes han demostrado la existencia de una nueva especie, el *Cryptosporidium ryanae* aislada de ciervos, cuyos ooquistes son similares a los de *C. parvum* y *C. bovis*, pero más pequeños (2.94-4.41 μm x 2.94-3.68 μm). Se ha informado que este genotipo existe de manera generalizada en el ganado bovino en todo el mundo. (Fayer *et al.*, 2008).

En estudios realizados en el Reino Unido y Australia, se encontró una alta prevalencia de *Cryptosporidium cervine*, con los ovinos implicados como fuente de infección (Santin, 2007). Así mismo, las evidencias actuales sugieren que este genotipo

tiene una amplia gama de hospedadores y potencial zoonótico(Wong , 2006; Santin, 2007). Por otro lado, se realizó el primer informe de la infección por *Cryptosporidium* en ciervo sika en China reportando *C. cervine* en dos ciervos de 124 muestreados (Wang, 2008).

El *Cryptosporidium macropodum* es una nueva especie que se ha reportado en mamíferos. Esta nueva especie se encuentra en las heces de canguros (*Macropus* sp.) y sus ooquistes son morfológicamente indistinguibles de otros ooquistes encontrados en mamíferos. Por otro lado, esta especie parece ser muy específica, porque hasta la fecha sólo se ha encontrado en marsupiales (Power y Ryan, 2008). La localización de los ooquistes se detalla en el cuadro 1.

Cuadro 1. Especies de *Cryptosporidium*

Especies	Tamaño ooquistes (mm)	Lugar de infección	Hospedador
<i>C. parvum</i>	4,5 X 5,5	Intestino delgado	Mamíferos, humanos
<i>C. bovis</i>	4,76-5,35 X 4,17-4,76	Intestino delgado	Bovinos
<i>C. muris</i>	5,6 X 7,4	Estómago	Roedores, mamíferos
<i>C. andersoni</i>	5,0-6,5 X 6,0-8,1	Estómago	Bovinos, Camellos
<i>C. felis</i>	4,5 X 5,0	Intestino delgado	Gatos
<i>C. canis</i>	4,95 X 4,71	Intestino delgado	Caninos, humanos
<i>C. wrairi</i>	4,0-5,0 X 4,8-5,6	Intestino delgado	Cobayos
<i>C. Bailey</i>	4,6 X 6,2	Tráquea, Bursa de Fabricio y cloaca	Gallináceas, pavos
<i>C. meleagridis</i>	4,0-4,5 X 4,6-5,2	Intestino delgado	Pavos
<i>C. serpentis</i>	4,8-5,6 X 5,6-6,6	Estómago	Serpientes, lagartijas
<i>C. nasorum</i>		Intestino	Peces
<i>C. molnari</i>	4,72 X 4,47	Estómago	Peces
<i>C. saurophilum</i>		Intestino y cloaca	Lagartijas
<i>C. suis</i>	5,05 X 4,41	Intestino delgado	Cerdos, humanos
<i>C. hominis</i>	4,5 X 5,5	Intestino delgado	Humanos, monos
<i>C. fayeri</i>	4,5-5,1 X 3,8-5,0	Epitelio intestinal	Canguro rojo
<i>C. galli</i>	8,5-8,8 X 6,2-6,4	Pro ventrículos	Aves
<i>C. macropodum</i>	no proporcionado	Intestino	Canguro gris
<i>C. scophthalmi</i>	3,7-5,03 X 3,03-4,69	Epitelio y lumen intestinal	Peces
<i>C. bahrain</i>	4,2-5,2 X 4,4-5,6	Intestino y mucosa cloacal	Lagartijas
<i>C. ryanae</i>	2.94-4.41 x 2.94-3.68	Intestino	Bovino

Fuente: Xiao *et al.*, 2004; Fayer *et al.*, 2005; Fayer *et al.*, 2008; Acta Bioquím Clín Latinoam, 2008.

3. CICLO BIOLÓGICO

Los protozoos del género *Cryptosporidium* tienen un ciclo de vida monoxeno, ya que su desarrollo sexual y asexual se completa dentro del tracto gastrointestinal de un único hospedador, en el cual se realiza la fertilización del macrogametocito por el microgametocito (Acha y Szyfres, 2003; Holland, 1990). El ciclo comienza con la ingestión de ooquistes esporulados, cada ooquiste contiene 4 esporozoítos en estado infectivo, los cuales son liberados en presencia de enzimas proteolíticas y sales biliares en el tracto gastrointestinal (Current y García, 1991; Muñoz *et al.*, 1993; Ortega – Mora *et al.*, 1999).

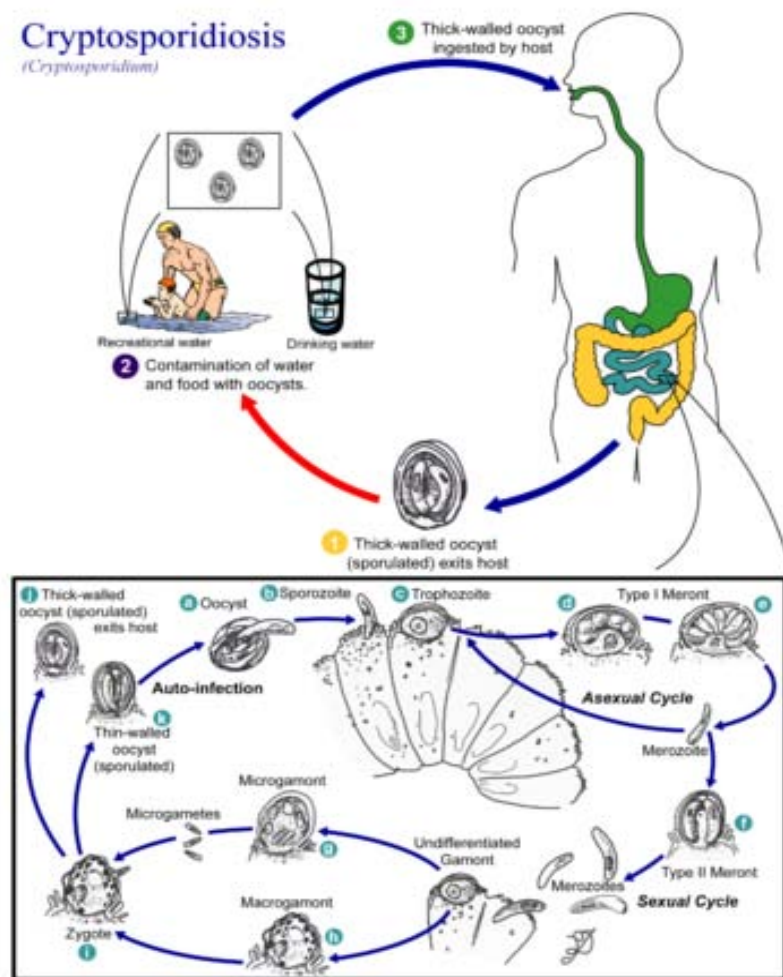
En la etapa asexual del *Cryptosporidium* los esporozoítos alcanzan el borde luminal de los enterocitos mediante movimientos de contracción-extensión y deslizamiento, para invaginarse y ser englobados por las microvellosidades de la célula hospedadora, que encapsula al parásito en su interior, formando una vacuola parasitófora (Holland, 1990). Al romperse el enterocito los merontes tipo I liberan de 6 a 8 merozoítos que invaden las células epiteliales adyacentes madurando nuevamente a merontes tipo I o formar merontes tipo II (Fayer y Ungar, 1986; Kosek *et al.*, 2001).

La etapa sexual del *Cryptosporidium* se inicia cuando los merozoítos II penetran nuevas células y se diferencian en gametos femeninos o microgametos (un gameto por merozoito) y en gameto masculinos o microgametos (14 a 16 por merozoito) (Atías, 1991). Los microgametos fertilizan a los macrogametos, estos evolucionan hasta ooquistes que esporulan *in situ*. Algunos ooquistes se eliminan del organismo por vía fecal o por las secreciones respiratorias, mientras que otros liberan esporozoítos dentro del mismo organismo (auto infección), las cuales pueden volver a repetir el ciclo de merogonia, gametogonia, esporogonia (Ortega – Mora *et al.*, 1999).

Alrededor de un 80% de los cigotos maduros del *Cryptosporidium* desarrolla una cubierta externa resistente, con una pared gruesa y de 2,5 a 5 μm de diámetro, que se transforman en ooquistes infectantes, (Acha y Szyfres, 2003). Estos ooquistes salen del hospedador con las heces y contaminan el medio ambiente, permitiendo la transmisión y diseminación de la enfermedad entre hospedadores. El 20% restante forma los ooquistes de capa delgada que se rompen con facilidad, autoinfectando al hospedador sin abandonar el intestino (Stephen *et al.*, 2001).

El periodo prepatente (PPP) y patente (PP) de la criptosporidiosis en terneros se determinó mediante una infección experimental con oocistos de *C. parvum*. Se observó que el PPP se encuentra entre 3 a 6 días y el periodo patente (PP) de 6 a 9 días (Fayer, 1998). Por otro lado, en infecciones naturales se estima que el PPP oscile entre 3 a 12 días (Anderson, 1981). Esta variación del PPP puede estar relacionada con la disminución de la dosis infectante (Blewett *et al.*, 1993). El PPP y el PP de la criptosporidiosis en alpacas neonatas también se determinaron en un estudio de infección experimental. Se estableció un PPP de 72 – 96 horas y un PP de 11 – 14 días. Además, se observó una eliminación máxima de oocistos entre el día 7 y el día 10 p.i. y a partir del día 18 p.i. no se detectó ningún oocisto en las heces (López *et al.*, 2001).

Fig. 1: Ciclo biológico del *Cryptosporidium parvum*.



Fuente: CDC Atlanta 2007

4. EPIDEMIOLOGÍA

4.1. Prevalencia

En humanos la criptosporidiosis es una infección entérica de considerable incidencia tanto en países desarrollados como en desarrollo. Si bien los primeros casos fueron notificados en 1976, la enfermedad adquirió verdadera importancia a partir de 1993, oportunidad en la que se produjo el brote epidémico más importante a nivel mundial, en Milwaukee, que afectó a más de 400.000 personas (Fayer, 2004, Dillingham 2006). Desde entonces, los casos de criptosporidiosis han sido informados a nivel mundial, tanto en individuos inmunocompetentes como en pacientes inmunocomprometidos (Dillingham, 2006).

En bovinos se demostró que este parásito afecta tanto a razas de carne como de leche (Cordero del Campillo, 1999). Asimismo, se ha demostrado que *Cryptosporidium* sp. no tiene predilección por sexo alguno en bovinos y caprinos (Moore, 1989). Por otro lado, la prevalencia de *C. parvum* hallada en los alpacas puede variar de 10 a más del 20% (ver cuadro 2). Las mayores prevalencias en alpacas se encuentran en los departamentos con el mayor número de animales por rebaño (López, 1997).

Estudios epidemiológicos pioneros de la criptosporidiosis demostraron que en alpacas neonatales existe una mayor frecuencia de *Cryptosporidium* en los animales que presentan diarrea (14.78%) versus los aparentemente sanos (5.55%), lo que sugirió una asociación entre los animales que presentan infección por *C. parvum* y los que desarrollan cuadros de diarrea (Fernández, 1995). Posteriormente, mediante estudios epidemiológicos transversales se demostró que la presencia de *C. parvum* estaba estrechamente relacionada con la presencia de diarrea neonatal (López, 1997).

Cuadro 2. Prevalencia de *C. parvum* encontrada en alpacas neonatales por departamento en el Perú.

Lugar de origen	Prevalencia (%)	Fuente
Puno	26.1 ± 3.3	(Morales, 1996)
Huancavelica	25.2 ± 3.4	(Romero, 1998)
Junín – Cochas	18.9 ± 3.4	(Wanda, 1996)
Pasco	12.03 ± 2.77	(Romero, 1998)
Arequipa – Cailloma	10.5 ± 1.97	(Tribeño, 1997)
Cuzco – Maranganí	10.4 ± 2.66	(Caman, 1996)
Cuzco-La Raya	9.9 ± 3.82	(Fernández, 1995)
Ayacucho	7.8 ± 2.1	(Ramírez, 1997)

Fuente: modificada de Marcelo Rojas C. 2004.

4.2 Fuentes de contagio y vías de transmisión

Cryptosporidium sp. se encuentra en el intestino de muchas aves y mamíferos. También se sabe que es parásito de roedores, aves de corral, monos, bovinos y otros herbívoros (Kim, 1994). En mamíferos la infección se adquiere mediante la ingestión o inhalación del ooquiste infeccioso. La principal fuente de contaminación en los rumiantes domésticos son las heces diarreicas, excretadas por animales positivos a *Cryptosporidium* sp., en especial rumiantes neonatos (De Graaf *et al.*, 1999, Ortega-Mora *et al.*, 1999).

En alpacas, como en otros rumiantes, se encontró que la fuente de infección del *Cryptosporidium* está asociada a la época de parición. Además, las alpacas adultas también podrían ser fuente de diseminación de la enfermedad, estas actuarían como portadores asintomáticos (López, 1997), como se ha evidenciado en otras especies domésticas (Ortega-Mora *et al.*, 1999; Acha y Szyfres, 2003).

La transmisión del *Cryptosporidium* entre humanos ha sido asociada a la interacción entre miembros de familia, pareja sexual (relaciones heterosexuales y homosexuales), pacientes hospitalizados y centros que se dedican al cuidado diario de niños infectados (Alpert *et al.*, 1984; Casemore, 1990, Current y Garcia, 1991). También, se puede transmitir mediante la ingestión de alimentos o agua contaminados con material fecal de individuos infectados o ingestión de lagunas contaminadas con efluentes de alcantarillado o de granjas de bovinos (Regan *et al.*, 1996; Acha y Szyfres, 2003).

Las piscinas pueden ser una fuente de contagio de *Cryptosporidium* para las personas, a pesar que no hayan sucedido accidentes fecales. En este sentido, el agua de las piscinas puede contaminarse con unos pocos ooquistes presentes alrededor del ano de personas que padecieron la enfermedad. Aunque estas personas ya no estén con diarrea, puede que las mismas sigan eliminando ooquistes (Juraneck, 2000).

4.3 Factores de riesgo

En bovinos se demostró que el *Cryptosporidium* afecta tanto a razas de carne como de leche (Cordero del Campillo, 1999). Asimismo, se ha demostrado que este parásito no tiene predilección por sexo alguno en bovinos y caprinos (Moore, 1989).

4.3.1 Especie

La discriminación de especies del género *Cryptosporidium* se basaba en el reservorio afectado, porque se asumía que el parásito tenía especificidad de hospedador. A pesar que la mayoría de estas especies parecen tener algo de esta especificidad, se sabe que esta no es estricta (Fayer, 2004). Hay especies de este parásito que sólo infectan al hombre (especies antropónicas) y otras que infectan al hombre y a animales, como rumiantes, monogástricos y carnívoros (zoonóticas) (Cordero del Campillo 1999). Actualmente, existen evidencias de la existencia de una serie de especies y genotipos del parásito adaptados a determinados hospedadores y sólo 14 de las especies de *Cryptosporidium* descritas tienen validez taxonómica y se reconocen 21 genotipos de *C. parvum* (Thompson, 2005).

El *C. parvum* es una especie zoonótica y la más ampliamente difundida. Afecta a muchas especies de mamíferos recién nacidos y tiene como principal reservorio al

ganado doméstico (Fayer, 2004). En la especie equina se dispone de pocos trabajos relacionados a la presencia de *Cryptosporidium parvum*. No obstante, en estudios epidemiológicos de la criptosporidiosis se encontraron ooquistes compatibles con *C. parvum* en equinos del Norte de Chile (Araya *et al.*, 1987) y en potrillos de Lima (Ocampo *et al.*, 2000). Adicionalmente, se sabe que el *Cryptosporidium* sp. ha sido hallado en potrillos árabes inmunodeficientes (Snyder *et al.*, 1978) y en potrillos aparentemente sanos (Soule *et al.*, 1983).

En aves se ha encontrado al *C. baileyi*, principalmente en la superficie de las células epiteliales que cubren los tractos gastrointestinal (bolsa de Fabricio y cloaca) (Current *et al.*, 1986) y respiratorio (Dhillon *et al.*, 1981), posteriormente han sido encontradas infecciones por *C. baileyi* en pollos y pavos (Goodwin, 1989). Por otro lado, se ha reportado que *C. Meleagridis* (un protozoo observada por primera vez en los pavos) es capaz de infectar células de mamíferos, llegando a la conclusión que es la única especie de *Cryptosporidium* conocido que infecta ambas especies de mamíferos y aves (Akiyoshi, 2003) e inclusive humanos (Xiao, 2001).

Las secuencias genéticas en muestras de heces de cerdos Yorkshire-Landrace demostraron la presencia de *Cryptosporidium parvum* genotipo cerdo, observándose que era diferente al de otras especies encontradas (Guselle 2003). Posteriormente, se reportó la presencia de este *Cryptosporidium* en las explotaciones porcinas. Así mismo, en la República Checa se encontraron ooquistes con medidas diferentes [6,2 (6.0-6.8) × 5,5 (5.3-5.7) μm] a las medidas originalmente descritas [4,6 (4.4-4.9) × 4,2 (4.0-4.3) μm] denominándole *Cryptosporidium suis* (Vítovec, 2006).

En estudios recientes se ha demostrado que los humanos que padecen de criptosporidiosis, por lo general la especie responsable de la infección es la antroponótica *C. hominis*, siendo los humanos los reservorios primarios de esta especie (Cama *et al.*, 2003; Fayer, 2004). Sin embargo, en humanos inmunosuprimidos se han reportado otras especies, no necesariamente zoonóticas, entre ellas: *C. parvum*, *C. muris*, *C. felis*, *C. canis*, *C. baileyi*, *C. meleagridis*, *C. wrairi*, *C. saurophylum*, *C. andersoni* y *C. serpentis* (Hunter, 2002).

4.3.2 Estado inmunitario

En los humanos ya se encuentra establecido que existe una relación entre el estado inmunitario y la evolución de la criptosporidiosis. En individuos con un sistema inmunológico intacto la enfermedad cursa con diarrea pasajera, eliminación de ooquistes e infección. Por otro lado, en individuos inmunocomprometidos la enfermedad cursa con diarrea persistente e infección crónica (Chermette y Boufassa-Ouzrout, 1988).

En rumiantes domésticos, la importancia del estado inmunitario en la criptosporidiosis es difícil de dilucidar con independencia de otros factores, como la edad (Cordero del Campillo, 1999). En terneros de carne, el consumo de leche de la madre puede resultar ser protectora siempre y cuando esta haya tenido exposición previa al parásito. Además, los terneros que ingieren calostro hiperinmune, eliminan menos ooquistes y tienen una diarrea menos intensa, aunque resulten receptivos a la infección (Ortega-Mora, 1996).

Los terneros de leche usualmente consumen leche con bajas concentraciones de anticuerpos o leche de reemplazo sin ningún tipo de anticuerpos, por lo tanto no brindan una protección adecuada contra el parásito. Así pues, los anticuerpos neutralizantes presentes en la leche y calostro de las madres, se cree que reducen la infectividad del parásito. La reducción de la infectividad la realizarían por inmovilización del parásito, inhibición de la adhesión a la célula hospedadora o por actividad citotóxica directa sobre los esporozoitos del *Cryptosporidium* (Olson *et al.*, 2004).

4.3.3 Edad

El *Cryptosporidium parvum* es más prevalente en animales menores de 30 días y está asociado con el síndrome de la diarrea neonatal de los becerros (Naciri *et al.*, 1999). Los reportes de baja prevalencia obtenidos en animales menores de 4 días de edad está asociada a las características de su ciclo biológico, ya que se requieren de 2 a 4 días desde la infección hasta la eliminación del parásito en las heces (Troncoso, 1992).

En Aragón (España), se reportó un 44.4% de terneros infectados con *C. parvum* entre 3-4 días de edad, pero el pico de la tasa de infección fue 76.7% en animales entre

los 6 y 15 días de edad (De Graff *et al.*, 1999a). Así mismo, en estudios realizados en Venezuela se indicó que algunos becerros adquieren la infección con *C. parvum* inmediatamente después del nacimiento, ya que los ooquistes fueron detectados en animales de apenas 3 días de edad y más del 30% de los becerros de ≤ 7 días de edad excretaron ooquistes (Díaz *et al.*, 2004).

En estudios de criptosporidiosis realizados en alpacas menores de 15 días de edad del departamento de Cusco se obtuvo una prevalencia de $9.96 \pm 1.76\%$ (Fernández, 1995) y $10.4 \pm 2.66\%$ (Caman, 1996). En ambos estudios se determinó, al igual que pasa en otros rumiantes, que los animales más jóvenes son los más susceptibles y que el pico de la infección se da en los animales de 15 días de edad.

4.4 Parásito

4.4.1 Características y resistencia de los ooquistes

Los ooquistes pequeños del *Cryptosporidium* sp miden de 4 a 6 μm de diámetro, mientras que los ooquistes más grandes miden de 5.6 a 7.4 μm de diámetro, según sea la especie. En ambos casos los ooquistes son de forma esférica y en su interior contienen cuatro esporozoitos desnudos, es decir sin esporoquiste (Gorman, 1987; Atias, 1991; Vásquez *et al.*, 1998). Estos ooquistes presentan características biológicas trascendentales: tamaño pequeño, dureza extraordinaria, doble pared, resistencia al tratamiento con cloro y con ácidos (Castro-Hermida *et al.*, 2006).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* pueden ser 30 veces más resistentes al ozono y 14 veces más resistentes a la cloración que los quistes de otro enteropatógeno como la *Giardia duodenalis*, expuestos ambos a las mismas condiciones (Ortega-Mora *et al.*, 1999). Adicionalmente, poseen una viabilidad prolongada de hasta varios meses en el ambiente, excreción de estadios ya infectivos, un requerimiento bajo del número de ooquistes (1-10 ooquistes) para infectar a otros organismos y un considerable potencial zoonótico (Dillingham, 2002).

Algunos agentes físicos pueden alterar las características de los ooquistes. La desecación, la congelación y una temperatura de 45 °C durante 5 a 20 minutos producen un descenso en la capacidad infectante del *Cryptosporidium* (Fayer *et al.*, 1991). Para

eliminar 99% a 99.9% de los ooquistes en el agua, se necesita un valor de CT (concentración del desinfectante en miligramos por litro multiplicado por el tiempo de contacto en minutos) de 6 a 10 para el ozono y de 9.600 para el cloro. Así mismo, el 50 a 25 % de los ooquistes mueren después de cuatro semanas en el agua a 25 °C y 8 °C respectivamente (Barriga, 1997).

4.4.2 Características del ciclo biológico

Cryptosporidium tiene la característica de tener ooquistes de pared gruesa que salen al ambiente y ooquistes de pared delgada que no salen al ambiente, ambos totalmente infectivos. La presencia de ooquistes de pared delgada o autoinfectivos y el reciclamiento de merontes tipo I, influyen en el ciclo biológico de *Cryptosporidium*, haciéndolo altamente infectivo entre los hospedadores. Esta situación explicaría el porqué un pequeño número de ooquistes infectivos puede producir una severa infección en el hospedador (Current, 1986; Troncoso, 1992, Juranek 2000).

4.4.3 Dosis infectante y características de la cepa

La dosis infectiva de *Cryptosporidium* spp. en humanos, es aproximadamente de 132 ooquistes, aunque un voluntario fue infectado con tan solo 30. Parece que tanto el hombre como los animales tienen distintos grados de susceptibilidad a este parásito y el inóculo probablemente puede variar de un individuo a otro (Clavel, 1996). Por ejemplo, la dosis infectante del *C. parvum* puede ser de un ooquistes en especies susceptibles como el humano y el cordero (Ortega-Mora, 1996, Ortega-Mora *et al.*, 1999; Tzipori y Ward, 2002) y la ingestión de 10 ooquistes de este parásito es capaz de producir la enfermedad en primates (Zu *et al.*, 1992).

La eliminación de ooquistes al día puede llegar a ser muy alta. En rumiantes neonatos se ha evidenciado que la eliminación de ooquistes puede llegar a ser entre 10^6 y 10^7 ooquistes por gramo de heces (Ortega-Mora, 1999). Además, hay que considerar que la masa fecal excretada por animal por día es de aproximadamente 150 gramos, por esta razón se considera que el potencial infectivo de los ooquistes eliminados en un solo

día es suficiente para infectar a más de 100 millones de animales (Martín-Gómez, 2001).

La dosis infectiva puede variar de acuerdo a la especie de *Cryptosporidium* involucrada. En la década de los 80 se reportó que los criptosporidios aislados de terneros y humanos poseían mayor virulencia para infectar a otras especies hospedadoras, que los aislados de otras especies animales (Moon y Woodmansee, 1986). Actualmente, se conoce que existen distintas especies y genotipos que difieren en su patogenicidad (Cama *et al.*, 2003).

4.5 Medio ambiente

Los brotes de criptosporidiosis en rumiantes se han reportado generalmente durante el invierno y principios de primavera (temporada de parición) y en menor frecuencia en otoño. Con frecuencia el hacinamiento de los animales, conjuntamente con la edad y el frío, constituyen factores que agravan el proceso. Este hecho ayuda a conocer el carácter estacional y la presentación de la criptosporidiosis en estos animales (Martín-Gómez, 1996; Ortega-Mora *et al.*, 1999).

En las explotaciones tecnificadas de ganado ovino y caprino, el mayor número de recién nacidos se produce durante las parideras de otoño-invierno y primavera, en este periodo se produce un gran número de nacimientos, ocasionando con frecuencia el hacinamiento de los animales (Ortega-Mora *et al.*, 1999). Además, si las condiciones higiénicas no son adecuadas, se estarán produciendo todas las condiciones favorables para la presentación de un brote epidémico de la criptosporidiosis (Cármenes *et al.*, 1993).

En alpacas neonatales se ha observado que los factores medioambientales influyen en la presentación de la criptosporidiosis. Entre estos factores está la época de parición (Fernández, 1995; Caman, 1996). En el Perú, la temporada de parición de alpacas se da entre los meses de diciembre a marzo, período en el cual se produce un gran número de nacimientos ocasionando el hacinamiento de los animales que trae como consecuencia el incremento de la infección (López, 1997).

La presentación de la enfermedad en alpacas neonatales también se ve influenciada por factores como el uso de manejo no tecnificado, el hacinamiento existente en rebaños grandes, la deficiencia de higiene en los corrales y la carencia de rotación de pastizales. La baja prevalencia de *C. parvum* reportada en alpacas, en relación con otros rumiantes, se debe a las condiciones de manejo de esos lugares como la rotación periódica de dormideros, ingestión de calostro después del parto, tratamiento con antibióticos para prevenir la enterotoxemia y la colibacilosis (Fernández, 1995; Caman, 1996).

En humanos, parece haber diferencias estacionales en la infección por *Cryptosporidium* sp., ocurren más infecciones en los meses más calientes y con mayor humedad (Fayer y Ungar, 1986). Por otro lado, en un estudio realizado en 96 muestras de agua del río Vilcanota, adyacente al Distrito de Sicuani, se hallaron 11 muestras (11,5 %) con presencia de *Cryptosporidium* sp. en los meses de Setiembre a Noviembre, mientras que en Diciembre no se detectaron ooquistes, especulando que se debería al aumento estacional del caudal del río (Rojas, 2004).

5. PATOGÉNESIS

La mayoría de los datos que se conocen sobre la patogénesis de la criptosporidiosis en hospedadores inmunocompetentes, han sido obtenidos de estudios del modelo de infección por *Cryptosporidium* spp. en cerdos neonatos (Clavel, 1996), en ileon de conejo (Lawson, 1987) y en hospedadores inmunocomprometidos, destacando los estudios de Bruzual en roedores. A partir de estos estudios se ha postulado que los esporozoítos y merozoítos de *Cryptosporidium* spp. invaden los enterocitos, comprometiendo la absorción. Este hecho desencadena la hiperplasia de las células de la cripta y lleva el balance intestinal de absorción-secreción hacia el extremo secretor (Kelly *et al.*, 1996).

Cuando los esporozoítos son liberados del ooquiste en el tracto intestinal, estos alcanzan la superficie luminal de los enterocitos mediante movimientos de contracción - extensión y deslizamiento, donde se invaginan y son englobados por las microvellosidades de la célula hospedadora, produciendo la invasión y destrucción de

las células absorbentes (Ortega-Mora, 1999). Así, en infecciones prolongadas por *Cryptosporidium* estas alteraciones pueden extenderse hasta el ciego y colon en mamíferos (Chermette y Boufassa-Ouzroat, 1988).

El sistema inmunitario del hospedador, probablemente mediante la producción de citoquinas estimuladas por el *Cryptosporidium*, pudiera producir amplificación de la respuesta secretoria. En ese sentido, los macrófagos del infiltrado inflamatorio mediante la secreción de factor de necrosis tumoral-alfa podrían estimular los fibroblastos y otras células de la lámina propia para secretar prostaglandina E₂, la cual tiene efecto estimulador de la secreción de cloro e inhibe la reabsorción de NaCl, (Clark *et al.*, 1996). Es así que esto favorece la presentación de diarrea, lo cual ha sido demostrado experimentalmente en porcinos (Argenzio *et al.*, 1990)

En la criptosporidiosis, los nutrientes que no son absorbidos incrementan la presión osmótica intraluminal, situación que agrava el cuadro y favorece el paso de fluidos provenientes de la vellosidad hacia el lumen intestinal. Adicionalmente, la permeabilidad del epitelio intestinal se altera por la modificación de los puentes de unión celular. Todo ello conlleva a la ruptura del equilibrio entre absorción y secreción (Cordero del Campillo, 1999).

6. SIGNOS DE LA ENFERMEDAD

Los signos clínicos que se pueden presentar después de la infección, dependiendo de la especie de *Cryptosporidium* involucrada, son diarrea, malestar general, pérdida del apetito, náuseas y vómitos. Precisamente por la presencia de la especie involucrada, los signos clínicos se presentan con mayor frecuencia en rumiantes domésticos y humanos, a diferencia de la infección por *C. wrairi* en roedores, que sólo parece acompañarse de la eliminación de ooquistes sin mostrar alteraciones clínicas (Ortega-Mora *et al.*, 1993; Ortega-Mora 1996).

En humanos las manifestaciones clínicas de la criptosporidiosis intestinal están directamente relacionadas con el estado inmunológico del hospedador (Clark *et al.*, 1996). Así, en el individuo inmunocompetente se presenta como una diarrea autolimitada, que en algunos casos puede ser de gran intensidad, generalmente dura de

una a dos semanas, pero que se resuelve sin tratamiento específico. En este sentido, la diarrea dura en promedio 4 a 12 días con un total de 8 a 19 evacuaciones por día, con una pérdida de peso aproximada de 4.5 Kg. en pacientes inmunocompetentes (Stephen, 2001).

En individuos inmunocomprometidos la criptosporidiosis tiende a la cronicidad, la pérdida de líquidos es de aproximadamente 25 litros de agua por día y la enfermedad puede persistir hasta la muerte del afectado (Ryan, 1994). En estos pacientes se ha encontrado que, en ocasiones, el parásito invade el tracto respiratorio y biliar (Clavel *et al.*, 1996). El material fecal puede contener mucus pero la presencia de sangre y leucocitos es poco frecuente, debido a que se trata de una diarrea no inflamatoria (Fahey, 2003). Sin embargo, ninguno de estos signos es patognomónico, ya que no diferencian ésta enfermedad de procesos causados por otros enteropatógenos (Tzipori, 1985; Angus, 1990).

Los enteropatógenos del complejo de la diarrea neonatal que pueden tener signos clínicos similares a la criptosporidiosis son: rotavirus, coronavirus, *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Campilobacter* sp., *Salmonella* sp., o *Clostridium perfringes*. Algunas observaciones clínicas sugieren que algunos de estos agentes etiológicos pueden actuar sinérgicamente con *C. parvum* para amplificar o prolongar los signos clínicos de la enfermedad (Tzipori, 1985). Además, la morbilidad suele ser alta y la mortalidad baja. Sin embargo, la mortalidad puede ser alta cuando se asocia a uno de los enteropatógenos del complejo de diarrea neonatal (Chermette y Boufassa – Ouzrout, 1988; Angus, 1990; Rojas, 2004).

En alpacas neonatales infectadas experimentalmente con *C. parvum* se observó que todos los animales presentaron diarrea profusa y acuosa, con una duración de 9 – 14 días. La aparición de la diarrea coincidió con la aparición de los primeros ooquistes en las heces. La consistencia de las heces fue líquida, con abundante mucus, color amarillo claro y con un fuerte olor ácido. Adicionalmente, se observaron signos de decaimiento, elevación de la temperatura, dolor abdominal, anorexia, así como signos de emaciación y deshidratación. (López *et al.*, 2001).

El síndrome diarreico neonatal es muy importante en alpacas y llamas, debido a que es una de las causas más frecuente de morbilidad, que afecta al 23% de las crías. La

diarrea en crías menores de 7 días de edad puede estar asociada a factores alimenticios, especialmente en aquellas en que la ingestión de calostro fue inadecuada y raramente está asociada a patógenos virales. Sin embargo, la diarrea en crías de alpaca mayores de 7 días de edad puede estar asociada a *Cryptosporidium* sp. y a *Giardia* sp., presentándose generalmente en granjas grandes y hacinadas. Por otro lado, la diarrea no está asociada a eimerias en crías menores de 2 semanas de edad y la diarrea asociada a parásitos gastrointestinales se presenta en crías mayores de 2 meses de edad (Whitehead y Anderson, 2006).

7. LESIONES

En la necropsia de terneros infectados con *C. parvum* se observa que el intestino delgado y/o grueso pueden estar distendidos con gas o con contenido acuoso amarillento y la enteritis y/o colitis pueden ser notorias (Fayer y Ungar, 1986). Las lesiones en el intestino delgado se localizan generalmente en el ileon y yeyuno, con menor frecuencia en el duodeno. Además, los estadios endógenos de *C. parvum* pueden localizarse a lo largo del intestino grueso, ocasionando otras lesiones (Cordero del Campillo, 1999).

El *C. parvum* se caracteriza por causar daño después de 48 – 72 horas de iniciada la infección, hay alteraciones morfológicas del epitelio intestinal de los individuos infectados que incluyen atrofia de vellosidades, cambios mitocondriales y una actividad lisosomal aumentada en las células infectadas (Bogitsh, 1998). También, en la mucosa intestinal se observa metaplasia, con células epiteliales en forma columnar baja, cuboidal y escamoso (O'Donoghue, 1995). Así mismo, en la lámina propia se observa dilatación de las criptas de Lieberkhün e infiltración de neutrófilos y células mononucleares (Foreyt, 1990).

En crías de alpacas infectadas experimentalmente con *C. parvum* se observó la presencia de edema e hiperemia en los ganglios linfáticos mesentéricos. Además, casi todo el tracto intestinal, en especial el íleon, presentaba congestión marcada, dilatación y presencia de líquido y gases. Así mismo, al corte de las distintas porciones intestinales se observaron alteraciones severas de la mucosa, hiperemia y presencia de abundante mucus (López *et al.*, 2001).

8. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico clínico de la criptosporidiosis intestinal es difícil porque existen pocas características diferenciales con respecto a otras patologías diarreicas. Por esta razón se debe confrontar con otras posibles etiologías de diarrea acuosa. Entre estas etiologías las más frecuentes a considerar tenemos las producidas por: *Giardia intestinalis*, *Isospora belli*, *Ciclospora cayetanensis*, *Microsporidium*, rotavirus, otros virus entéricos y *Escherichia coli* enterotoxigénica (Chacín-Bonilla L. 1995).

Los métodos usuales para el diagnóstico del género *Cryptosporidium* pueden agruparse en tres categorías. Una categoría agrupa a aquellos que permiten visualizar la morfología general. Una segunda categoría agrupa a los que se basan en el empleo de distintos tipos de coloraciones químicas o de inmunofluorescencia. Por último, una categoría que agrupa a las pruebas bioquímicas y de biología molecular (Cordero del Campillo, 1999; Zarlenga *et al.*, 2004).

Los métodos convencionales de detección de ooquistes de *Cryptosporidium* incluyen la concentración de heces por técnicas de centrifugación y flotación y la posterior tinción de las extensiones sobre portaobjetos. Por lo general, se aplican métodos de tinción diferencial: safranina, Ziehl-Neelsen modificado, Kinyoun, dimetil sulfóxido-carbol fucsina (Baxby *et al.*, 1984; Pohjola *et al.*, 1985), que tiñen los ooquistes de rojo y contratiñen el fondo de azul o verde, según se utilice azul de metileno o verde de malaquita (Hanscheid *et al.*, 2008). Las técnicas de tinción negativa, como las de Heine (López, 1997), las que utilizan nigrosina, verde brillante o verde de malaquita, tiñen las levaduras y las bacterias pero no los ooquistes. El empleo de los colorantes fluorogénicos rodamina y auramina puede facilitar la detección de los ooquistes (Hanscheid *et al.*, 2008).

La técnica de tinción de Ziehl-Neelsen modificado ha demostrado tener una alta sensibilidad (86.9%) y especificidad (100%) para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. (Weitz y Astorga, 1993). Asimismo, se observa que los ooquistes maduros contienen 4 esporozoitos desnudos (sin esporoquiste), presentan un cuerpo residual oscuro y los esporozoitos presentan una marcada refringencia (Ortega-Mora *et al.*, 1999). Adicionalmente es una técnica sencilla, segura, confiable, fácil de leer,

ofreciendo buen contraste de coloración entre el ooquiste, levaduras y material fecal (Chermette y Boufassa-Ouzrout, 1988).

El diagnóstico de *Cryptosporidium* también se ha estudiado mediante el desarrollo de diversas técnicas inmunológicas. Estas técnicas abarcan desde simples reacciones de aglutinación de partículas de látex o hemoaglutinación reversa pasiva a pruebas más complejas. Entre las pruebas más complejas se tiene el uso de anticuerpos policlonales o monoclonales marcados con sustancias fluorescentes para la detección de ooquistes por microscopía de fluorescencia. También, se usan pruebas de inmunocromatografía en fase sólida para la detección de antígenos en materia fecal o enzimoimmunoensayos para la detección de anticuerpos específicos circulantes. (Fayer. *et al* 2000).

Las técnicas moleculares han provisto información sobre la variabilidad genética de *Cryptosporidium*. Este hecho permitió demostrar que *C. parvum* no es una especie uniforme sino que abarca distintos genotipos o especies crípticas (Fayer *et al.*, 2000; Xiao *et al.*, 2008). Por otro lado, en comparación con la microscopía, cada determinación individual consume más tiempo de manipulación, el costo es mayor, son necesarios controles internos adecuados y deben eliminarse los inhibidores enzimáticos presentes en las muestras (Morgan *et al.* 1998; Zarlenga *et al.*, 2004). Adicionalmente, los falsos positivos que resultan de la detección de ácidos nucleicos desnudos de microorganismos no viables o de contaminantes del laboratorio, limitan su empleo a los laboratorios de investigación (Fayer *et al.*, 2000).

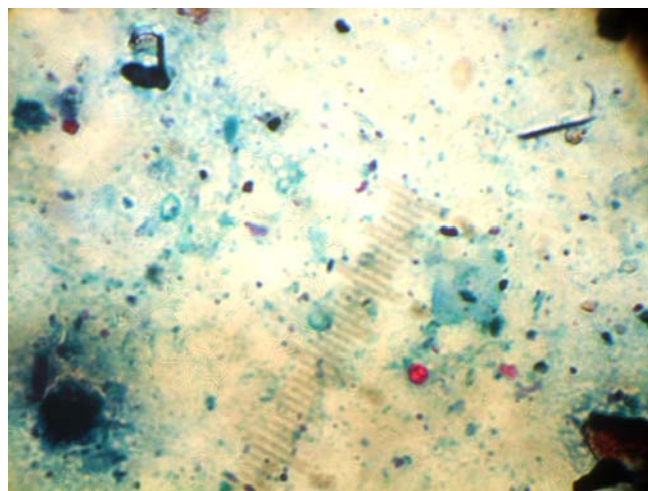


Fig. 2. Microfotografía de ooquistes de *Cryptosporidium parvum*. Técnica de ZNM, a 40X

9. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

A pesar de décadas de investigación y uso de distintos agentes inmuno y quimioterapéuticos, *in vitro* e *in vivo*, en modelos animales y en ensayos clínicos, aún no se cuenta con un tratamiento curativo confiable para la criptosporidiosis (Tzipori *et al.*, 2002). Es probable que la localización intracelular del parásito y la naturaleza dual de la separación del lumen intestinal y del citoplasma celular sean la causa de la resistencia a diferentes drogas. (Zanaro, 2008).

En rumiantes recién nacidos y de hasta 90 días de edad, tan sólo el lactato de halofuginona, la paromomicina y el decoquinato han demostrado ser parcialmente eficaces en la prevención y en el tratamiento de la criptosporidiosis, al disminuir el periodo de excreción de ooquistes y la gravedad de la diarrea, cuando se administran durante periodos que oscilan entre 3 y 21 días e incluso hasta 8 semanas. Así mismo, en algunos casos, ciertos autores comprobaron la aparición de reinfecciones asintomáticas una vez suspendido el tratamiento (Villacorta, 1991).

El uso de la paromomicina en pacientes con criptosporidiosis intestinal y SIDA, demostró su eficacia para reducir la sintomatología y la excreción de ooquistes (Valdez, 1997). Por otro lado, un estudio en ovinos reveló que la administración de paromomicina con una dosis de 200 mg/kg/día durante dos días o 100 mg/kg/día durante tres días consecutivos, disminuye claramente la diarrea y la eliminación de ooquistes. Así, se demostró que la paromomicina posee actividad contra el parásito (Blagburn y Soave, 1997).

La Nitazoxanida es un nuevo compuesto con amplio espectro de actividad frente a numerosos protozoos intestinales, helmintos y bacterias anaerobias. Su uso está aprobado para el tratamiento de enfermedades causadas por *Cryptosporidium* y *Giardia intestinalis* (Aslam y Musher, 2007). En modelos animales se pudo observar que la droga nitazoxanida presenta eficacia parcial, reduce la eliminación de ooquistes pero induce la diarrea (Ramírez *et al.*, 2004). No obstante, se ha demostrado que el tratamiento durante 3 días con nitazoxanida, es eficaz en el tratamiento de diarrea y enteritis causada por *Cryptosporidium* en pacientes inmunocompetentes mayores de 12 años de edad (Rossignol *et al.*, 2006).

Los efectos profiláctico y terapéutico del antiinflamatorio Bobel-24 (2,4,6 triiodophenol) fue evaluado en una infección experimental en corderos recién nacidos. La droga se administró al grupo de tratamiento por vía oral a razón de 50 y 500 mg/kg de peso corporal. En el grupo de animales tratados con 50 mg/kg de peso corporal, el periodo de prepatencia fue más largo, el periodo de patencia fue más corto y se redujo la intensidad de excreción de ooquistes. En el grupo tratado con 500 mg/kg la duración de la diarrea se redujo significativamente ($p < 0.05$) en comparación con el grupo control (Castro-Hermida *et al*, 2008).

La acción de la alfa-ciclodextrina contra la criptosporidiosis se probó en cabritos recién nacidos infectados experimentalmente con ooquistes de *C. parvum*. La droga se utilizó como comprimidos (500 mg/kg peso corporal) y se le administró a cabritos recién nacidos durante 6 días consecutivos. A la necropsia no se observaron anomalías ni lesiones anatomopatológicas. Por el contrario, todos los órganos presentaban un aspecto normal y los análisis parasitológicos fueron negativos. Este trabajo concluyó que la alfa-ciclodextrina posee un efecto profiláctico contra la criptosporidiosis (Castro-Hermida *et al.*, 2004).

Se ha demostrado que en el campo la inmunidad pasiva no protege a los terneros ni corderos contra la infección natural por *Cryptosporidium* (Peeters *et al.*, 1992). En este sentido, en ausencia de un tratamiento específico en el rebaño, el tratamiento sintomático toma vital importancia para evitar la deshidratación y el aumento de la tasa de morbilidad y mortalidad producida por la enfermedad. La primera medida es la administración oral o parenteral de soluciones de electrolitos isotónicas y agradables al paladar de los animales. Las soluciones deben estar compuestas principalmente de sodio, junto con cantidades suficientes de glucosa, aminoácidos, potasio y cloruro (Cordero del Campillo, 1999).

Para reducir la contaminación ambiental con ooquistes de *Cryptosporidium*, es recomendable tomar medidas de control higiénico-sanitarias correctamente (De Graaf *et al.*, 1999). Las estrategias de control mediante desinfección física y química neutralizan la resistencia del *Cryptosporidium*. La acción del hidróxido de amonio al 5% o la formalina al 10% durante 18–24 horas, el vapor caliente, el peróxido de hidrógeno y la lejía comercial sin diluir destruyen al parásito (Xiao y Herd, 1994; Fayer *et al.*, 1997).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Diseño de estudio

La presente tesis evaluó el papel de la alpaca madre positiva a *Cryptosporidium* como factor de riesgo para la presentación de *Cryptosporidium* en las crías con y sin diarrea en la provincia de Canchis departamento de Cusco. Con este fin, se diseñó un estudio caso control en los que la presencia de *Cryptosporidium* en la alpaca madre se evaluó como factor de riesgo de presencia de *Cryptosporidium* en las crías. Para el caso, se definió que las crías con diarrea representaban *casos* y que las crías sin diarrea representaban *controles*. En este contexto, se recolectaron muestras de heces de alpacas tanto de madres como de sus respectivas crías. Estas crías, entre hembras y machos, tuvieron como máximo 30 días de edad. Los animales estaban en un sistema de crianza al pastoreo, alimentados con pasto natural, en algunos casos con pasto cultivado.

2. Lugar de estudio

El presente trabajo se realizó en el departamento de Cusco situado en la sierra sur del Perú, las muestras fueron procesadas en la estación experimental IVITA ubicada en el distrito de Maranganí, en la provincia de Canchis. Se muestrearon animales de 5 localidades: La Raya, Choquecota, Chillihua, Maranganí y Silli. En *Chillihua* se

muestrearon 2 sectores, entre ellos: Chiaraje, Piti; en *La Raya* se muestrearon 2 sectores, entre ellos: La Raya IVITA (Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura) y la Raya UNSAAC (Universidad Nacional de San Antonio de Abad del Cuzco). El periodo de muestreo fue durante la temporada de parición de alpacas, entre los meses de enero y marzo del 2007.

Estas comunidades están ubicadas aproximadamente sobre los 4.300 m.s.n.m en el sur del Perú y forma parte de la vertiente del Atlántico. Sus coordenadas geográficas están comprendidas entre los paralelos 13°44' y 15°20' latitud sur y los meridianos 70°48' y 72°30' longitud oeste. La región se caracteriza topográficamente por ser accidentada, abarca vertientes muy escarpadas y colinas irregulares. Presenta dos periodos estacionales marcados, uno seco entre los meses de Abril a Setiembre y otro de lluvias entre Octubre a Marzo, con una precipitación anual que varía entre los 600 a 1000 mm. La temperatura anual promedio oscila entre los 10.3° C y los 13° C, con una temperatura máxima de hasta 20° C y mínima de menos 0° C (CONAM, 1999).

LUGARES DE MUESTREO

a) Localidad de Chillihua

El muestreo se realizó en los siguientes sectores: Chiaraje y Piti. Esta localidad se caracterizó por tener una crianza tradicional y mixta, con presencia de otras especies animales como bovinos, caninos, y aves. La alimentación era a base de pasto natural y cultivado. Se realizaban dos pastoreos al día, a las 8 a.m. y a las 5 p.m. Además, se practicaba la rotación periódica de los dormideros.

b) Localidad de La Raya

La región se caracteriza topográficamente por ser accidentada, en su mayor extensión puede ser considerada como una llanura elevada donde predominan las gramíneas nativas. La Raya cuenta con dos centros de investigación, La Raya IVITA y La Raya UNSAAC, ambos centros se encuentran básicamente orientados a la investigación y experimentación ganadera, con mayor énfasis en camélidos sudamericanos. La crianza alpaquera es de tipo extensiva y tecnificada, cuenta con asesoramiento técnico y profesional (Médicos Veterinarios e Ingenieros Zootecnistas).

La alimentación es a base de pasto natural, se realizan dos pastoreos por día a las 8 a.m. y a las 5 p.m. y rotación periódica de los corrales. No hay crianza mixta.

c) Localidad de Choquecota, perteneciente al distrito de Maranganí

d) Localidad de Silli, perteneciente al distrito de Maranganí

3. Tamaño Muestral

El cálculo del tamaño muestral se realizó considerando la siguiente fórmula para estudios de caso control no pareado (Rothman y Greenland, 1998).

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

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

Donde:

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

m = Número mínimo de pares discordantes requeridos.

Z(a) = Nivel de confianza.

Z(b) = Poder de la prueba.

p0 = Proporción esperada en el grupo control expuesto

p1 = Proporción calculada en el grupo caso expuesto.

OR = Odds Ratio.

Se utilizaron los siguientes datos:

Z (a) : 95%

Z (b) : 90%

p0 : 14.02% (Foroca *et al.*, 2001)

OR : 2.38 (López, 1997)

El cálculo del tamaño muestral determinó que el número mínimo de muestras requeridas para obtener un resultado confiable era de 163 (163 madres y 163 crías). Debido a la disponibilidad de animales, se colectaron 1396 muestras fecales, distribuidos en 698 madres y 698 crías.

Las muestras fueron recolectadas directamente del recto mediante bolsas plásticas debidamente rotuladas. Todas las crías de alpacas no excedieron los 30 días de edad. De acuerdo a la consistencia de las heces se clasificaron en diarreicas (líquidas y pastosas) y en normales. Posteriormente, las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Parasitología de IVITA Marangani para preparar su conservación y fijación, dentro de las 24 horas de su colecta, con metanol absoluto durante 5 minutos en un vaso koplíng. Adicionalmente, se conservó cada una de las muestras en una solución de Dicromato de Potasio al 2%.

Se realizó la extensión de las muestras sobre portaobjetos debidamente identificados y se dejaron secar al ambiente. Posteriormente, se procedió a la fijación de las muestras en un vaso koplíng con metanol absoluto durante 5 minutos y luego se dejaron secar al ambiente. Las muestras así fijadas se remitieron al Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria (Sección Parasitología) de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

4. Tinción de Ziehl – Neelsen Modificado (ZNM)

Las láminas ya fijadas fueron teñidas empleando la tinción de ZNM (Henricksen y Pohlenz, 1981): el frotis se cubrió con fucsina básica fenicada durante 20 minutos. Luego se lavó con agua corriente y se decoloró con ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 2 % durante 20 segundos agitando las láminas. Nuevamente se lavó con agua corriente y se dejó secar. El frotis se recubrió con verde malaquita al 5% durante 5 minutos. Posteriormente se realizó un último lavado y se dejó secar. Se añadió una gota de aceite de inmersión, se colocó encima una laminilla cubreobjeto de 22 mm. x 40 mm. y se observó al microscopio a 40X y para confirmar a 100X.

5. Criterio de diagnóstico

Las muestras fueron consideradas positivas por la presencia de al menos un ooquistes de *Cryptosporidium*, los cuales se observan como organismos esféricos u ovalados de 4 – 6 μm de diámetro aproximadamente (Muñoz *et al.*, 1993; Fayer *et al.*, 2000) de color rojo fucsia con algunas granulaciones oscuras en su interior, que contrastan con un fondo verde (Henricksen y Pohlenz, 1981; Casemore *et al.*, 1985).

6. Análisis de datos

La evaluación de la presencia de *Cryptosporidium* como factor de riesgo para la presencia de *Cryptosporidium* en crías de alpaca se evaluó calculando la razón de riesgos (odds ratio) empleando una regresión logística múltiple. Los datos se ingresaron a una planilla electrónica Excel 2007 (Microsoft Corp.) para luego analizar la base utilizando el paquete estadístico STATA 10.0[®]. Del mismo modo, la presencia de *Cryptosporidium* sp en la madre y otras variables con efectos potenciales en la presencia de diarreas se evaluaron empleando una regresión logística múltiple. Las razones de riesgo se calcularon con intervalos de confianza del 95%. Las regresiones consideraron variables potencialmente confundentes como edad, sexo, raza y el lugar de origen de las alpacas muestreadas.

Regresión Logística Múltiple:

$$g(x) = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3$$

Donde:

$$g(x) : \log\left(\frac{p}{1-p}\right)$$

β_0 : Constante
 β_1 : Coeficiente
 X_1 : Variable

(Wayne W, 2008)

IV. RESULTADOS

Se procesó un total de 1396 muestras. De ellas, 698 eran de madres con crías menores a 30 días y 698 a crías. Las muestras se fijaron en campo y fueron coloreadas y diagnosticadas mediante la técnica de Ziehl Neelsen Modificado para el diagnóstico de *Cryptosporidium* en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, Sección Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

De las 698 madres muestreadas, 34% (239/698) fueron positivas y 66% (459/698) negativas a la presencia de *Cryptosporidium*. Asimismo, se observó diarrea en 88 madres 13% (88/698). Sólo se diagnosticó *Cryptosporidium* en 8 de las 88 alpacas con diarrea (Cuadro 3).

Cuadro 3: Diagnóstico de *Cryptosporidium parvum* y diarrea en madres alpacas de la provincia de Canchis (2007).

Diarrea	<i>Cryptosporidium</i>		Total
	Negativos	Positivos	
Ausencia	379	231	610
Presencia	80	8	88
Total	459	239	698

De las 698 crías muestreadas, 6% (39/698) fueron positivas y 94% (659/698) negativas a la presencia de *Cryptosporidium*. Además, se observó diarrea en 272 crías 39% (272/698), se diagnosticó *Cryptosporidium* en 12 de las 39 crías de alpacas con diarrea. También, un total de 260 crías tuvieron diarrea pero fueron negativas a *Cryptosporidium* (Cuadro 4).

Cuadro 4: Diagnóstico de *Cryptosporidium parvum* y diarrea en crías alpacas de la provincia de Canchis (2007).

<i>Cryptosporidium</i>			
Diarrea	Negativos	Positivos	Total
Ausencia	399	27	426
Presencia	260	12	272
Total	659	39	698

Al diagnosticar *Cryptosporidium* en las madres no se encontraron positivos en la comunidad de UNSAAC (Viscanchi). Las comunidades de Chillihua (Chiriaje), IVITA (LA Raya) e IVITA (Fundo Marangani) tuvieron prevalencias de entre 1% y 6%. Mientras que las comunidades de Chillihua (Piti), UNSAAC (Yanamayo) y Silli tuvieron prevalencias moderadas a regulares, entre 16% y 48%. Finalmente, la comunidad de Choquecota tuvo el 75% (190/255) positivos (Cuadro 5).

Cuadro 5: Diagnóstico de *Cryptosporidium parvum* por comunidad en madres alpacas de la provincia de Canchis (2007).

Comunidad	Madres			
	Total	Negativos	Positivos	%
UNSAAC (Viscanchi)	125	125	0	0
CHILLIHUA(Chiaraje)	85	84	1	1
IVITA(La Raya)	40	38	2	5
IVITA (Fundo)	16	15	1	6
CHILLIHUA (Piti)	45	38	7	16
UNSAAC (Yanamayo)	90	72	18	20
SILLI	42	22	20	48
CHOQUECOTA	255	65	190	75
Total	698	459	239	34

Al analizar la presencia de *Cryptosporidium* en las crías no se encontró positivos en las comunidades de IVITA (Fundo Marangani), Silli, Chillihua (Piti) y Chillihua (Chiriaje). Las comunidades de UNSSAAC (Viscachani) y UNSAAC (Yanamayo) tuvieron pocos positivos, 2% y 4% respectivamente. Finalmente, las comunidades de Choquecota e IVITA (La Raya) tuvieron prevalencias moderadas de 11% y 13 % respectivamente (Cuadro 6).

Cuadro 6: Diagnóstico de *Cryptosporidium parvum* por comunidad en crías alpacas de la provincia de Canchis (2007).

Comunidad	Crías			
	Total	Negativo	Positivos	%
IVITA (Fundo)	16	16	0	0
SILLI	42	42	0	0
CHILLIHUA (Piti)	45	45	0	0
CHILLIHUA(Chiaraje)	85	85	0	0
UNSAAC (Viscanchi)	125	122	3	2
UNSAAC (Yanamayo)	90	86	4	4
CHOQUECOTA	255	228	27	11
IVITA(La Raya)	40	35	5	13
Total	698	459	239	30

Sólo se pudo registrar el sexo en 573 crías. De ellas, 350 fueron hembras y 223 machos. Se identificó *Cryptosporidium* en 7% (23/350) y 6% (13/223) de los hembras y machos, respectivamente (Cuadro 7).

Cuadro 7: Presencia de *Cryptosporidium parvum* por sexo en alpacas de la provincia de Canchis (2007).

	Total	Negativos	Positivos	Porcentaje
Hembra	350	327	23	7
Macho	223	210	13	6
Total	573	537	36	6

Al analizar los diagnósticos de las madres con sus respectivas crías se obtuvo que de las 459 madres con diagnóstico negativo a *Cryptosporidium*, el 96% y 4% de las crías fueron negativas y positivas a *Cryptosporidium* respectivamente. Por otro lado, de

las madres con diagnóstico positivo a *Cryptosporidium*, el 91% y el 9% de las crías fueron negativas y positivas a *Cryptosporidium* respectivamente (Cuadro 8).

Cuadro 8: Diagnóstico de *Cryptosporidium parvum* en madres y crías con respecto al total diagnosticado en madres alpacas de la provincia de Canchis (2007).

		Presencia de <i>Cryptosporidium</i> en la madre		
		Negativo	Positivo	Total
Presencia de <i>Cryptosporidium</i> en la cría	Negativo	442 (96%)	217 (91%)	659 (94%)
	Positivo	17 (4%)	22 (9%)	39 (6%)
Total		459(100%)	239(100%)	698(100%)

Cuadro 9: Buscando asociación y la chance para diagnóstico para *Cryptosporidium parvum* de las crías de alpaca mediante el modelo de regresión logística (2007).

Diagnóstico en la Cría	OR	IC menor	IC mayor	Valor de p
Diagnóstico en madres	2.0981	1.0292	4.2773	0.041
Diarrea en madres	1.5008	0.4233	5.3206	0.53
Sexo en crías	0.5608	0.2694	1.1673	0.122
Lugar	0.229	0.0763	0.6876	0.009

V. DISCUSION

Los trabajos epidemiológicos realizados en la década de los 90 determinaron la prevalencia de la criptosporidiosis en alpacas neonatales (López, 1997; Romero, 1998) y su papel como factor de riesgo en la presentación de diarreas en alpacas neonatales (López, 1997). Así mismo, los trabajos de Caso Control (Molina, 2007; Villacorta, 2007) confirmaron definitivamente que el *Cryptosporidium* es un factor de riesgo para la presentación de diarrea en alpacas neonatales. Quedaban por determinar las fuentes de infección y su papel como factores de riesgo para la presentación de la criptosporidiosis en alpacas neonatales.

Comprender la epidemiología de la enfermedad era y es crucial para proponer medidas de control adecuadas. En el caso de las alpacas, las fuentes de infección podrían ser otras especies domésticas, roedores y felinos silvestres e incluso el hombre (Fayer y Ungar, 1986; Mtambo y col., 1991). Tampoco se podía descartar que otras alpacas adultas mantuviesen la infección de año a año, como se describió en otras especies domésticas (Ortega-Mora & Wright, 1994). El presente estudio confirma que la presencia de *Cryptosporidium* sp. en la madre alpaca es factor de riesgo para la presentación de *Cryptosporidium* sp. en sus respectivas crías. Diversas variables confundentes fueron analizadas como: presencia de diarrea en las madres, influencia del sexo en las crías y la variable lugar, ninguno de ellos afectó el resultado.

Al analizar los datos de las madres y de las crías mediante una regresión logística se obtuvo un OR de 2.098. Así mismo, permite inferir que una cría con madre positiva a *Cryptosporidium* sp. tiene 2 veces más riesgo de infectarse con el parásito que una cría con madre negativa a *Cryptosporidium* sp. Este resultado es ajustado por otras variables como diarrea en madres, sexo en crías y lugar. Además, es estadísticamente significativo por presentar un valor de $p < 0.05$. Estos resultados podrían deberse a la permanencia de la madre con la cría, a la falla de transferencia de anticuerpos calostrales, al manejo de madres y crías, entre otros. Así, estudios de criptosporidiosis en bovinos indican que los terneros que permanecen con sus madres por un tiempo mayor a una hora tienen más probabilidades de presentar diarrea y mayor cantidad de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. que aquellos que fueron separados de sus madres una hora después del parto (Trotz-Williams, 2007).

Una condición que podría estar involucrada en el papel de la madre como factor de riesgo para la cría es la falla en la transferencia de anticuerpos calostrales. Estudios realizados en terneros han demostrado que una concentración -24 horas después del nacimiento- de gama-globulina sérica de al menos 0,6 g/100 ml, indica una adecuada ingestión de calostro. Sin embargo, la transferencia pasiva puede fallar en el 10 a 30% de los terneros, aún en condiciones ideales de manejo y el 25% de los terneros pueden permanecer hipogamaglobulinémicos, a pesar de la ingestión de 4 l de calostro entre las 12 horas después del nacimiento. El hecho de que los terneros infectados con *Cryptosporidium* sp. eliminen ooquistes cuando las concentraciones séricas de gama-globulina están bajas, podría indicar que el parásito es un patógeno oportunista (López *et al.*, 1988).

En alpacas se ha demostrado que las inmunoglobulinas maternas se transfieren al neonato por medio del calostro y que el paso de anticuerpos transplacentarios no ocurre debido al tipo de placentación epitelio-corial (Steven *et al.*, 1980). También, se ha demostrado que la concentración de proteína total en el suero de alpacas preñadas es de 6,9g/100 ml y que la concentración en alpacas no preñadas no difiere significativamente (7g/100 ml) (Vallenas, 1958). En llamas, la concentración de proteína total en el calostro, hasta las 96 horas es aproximadamente el doble del contenido de la leche. Las crías nacen con una cantidad ligeramente baja de proteína total del suero (6,4g/100 ml), luego disminuye durante las 2 primeras semanas de edad

(5,7 a 5,8g/100 ml), para aumentar posteriormente de forma progresiva con la edad (6,1 \pm 1,2g/100 ml) (Ramírez *et al.*, 1981).

En alpacas la fracción gamaglobulina del suero al nacimiento es de 1,4g/100 ml, luego desciende a 0,98g/100 ml a los 8 días, a los 15 días es de 0,76g/100 ml y a los 22 días se encuentran niveles de 0,79g/100 ml (Vallenas, 1958). Otros estudios han demostrado que las crías nacen virtualmente agamaglobulinémicas con 0,3 \pm 0,1mg/ml. La concentración de la IgG se incrementa en forma lineal durante las 24 horas después del nacimiento, alcanzando un valor medio de 30,01 \pm 8,1mg/ml y la IgM alcanza un valor de 4,2mg/ml \pm 2,2. Tanto la IgG como la IgM son absorbidas, pero el 90% de la proteína total absorbida corresponde a la IgG que se encuentra presente en el suero a las 24 horas después del nacimiento. Las concentraciones iniciales de IgG e IgM decaen a la mitad de su máxima concentración a los 9 y 3 días respectivamente (Garmendia y McGuire, 1987a).

Existe una transferencia inadecuada de anticuerpos calostrales de la madre a su cría y esta falla determina el porcentaje elevado de mortalidad en crías de alpacas. Además, debido a causas infecciosas, existe una mortalidad del 88% en crías con menos de 9mg/ml de IgG. Sin embargo, la mortalidad es menos drástica en crías con concentraciones de 9-15 o más de 15mg/ml de IgG. De acuerdo a estos hallazgos, se concluye que las concentraciones menores de 9mg/ml de IgG deben considerarse un fallo en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas y concentraciones de 10 a 15mg/ml, como falla parcial. Por último, las concentraciones mayores de 15mg/ml se pueden considerar como transferencias normales (Garmendia y McGuire, 1987b).

En ovinos el número de ooquistes eliminado por los adultos es mayor durante las primeras semanas del periodo post-parto, aumentando el riesgo de infección en las crías. Así, las madres preñadas preparturientas inician la inmunosupresión que las hace susceptibles a reiniciar el ciclo endógeno del *Cryptosporidium* en estudio, la diarrea puede o no estar presente, como ocurre en las personas (Carvalho-Almeida, 2006). El mayor número de casos puede estar influenciado por el mayor número de nacimiento y hacinamiento de animales (Ortega-Mora, 1999).

Al analizar la presencia *Cryptosporidium* sp. en las crías con la variable “Diarrea en las madres” se encontró un OR =1.5 y su intervalo de confianza nos indica que la presencia de diarrea en las madres no es un factor de riesgo ni de protección para la presencia de *Cryptosporidium* sp. en las crías. Además, se encontró un valor de $p>0.05$, esto nos indica que no hay diferencia estadística significativa. En la mayoría de los casos no siempre se presenta la criptosporidiosis con diarrea en animales adultos. Muchas veces la diarrea está asociada a otros agentes tales como parásitos, bacterias, virus, entre otros (Ramírez, 2004). No obstante, a pesar que hay infecciones concurrentes con otros enteropatógenos, así como los factores ambientales, de manejo y nutricionales pueden influir en el curso de la criptosporidiosis, varios autores coinciden en reconocer la importancia que tiene el *Cryptosporidium* sp. como patógeno primario, causante de diarrea aguda (Moore y Zeman, 1991).

Al enfrentar las crías hembras con las crías machos obtuvimos un OR de 0.5 y su intervalo de confianza nos indica que el sexo no es un factor de riesgo ni de protección para la presentación de *Cryptosporidium* sp. esto es similar a lo hallado por Arellano (2005) en estudios hechos en becerros hasta 90 días de edad. De la misma forma, estudios hechos por Caman, (1996) y Tribeño, (1997) en crías de alpacas, reportan que la diarrea neonatal no tiene predilección por sexo alguno.

El análisis con respecto al lugar se realizó clasificando los lugares en 2 categorías: explotaciones que están dirigidas por las universidades: UNSAAC (Viscanchi, Yanamayo), IVITA (La Raya, fundo) y en explotaciones que están dirigidas por las comunidades Silli, Choquecota, Chillihua (Piti, Chiaraje), donde se encontró un OR = 0.22 y su respectivo intervalo de confianza (0.07 - 0.68), lo que nos indica que una cría alpaca que pertenece al de las universidades tiene 22% más probabilidad de tener *Cryptosporidium* que una cría que pertenece al de las comunidades. Por otro lado, su intervalo de confianza nos indica que la variable lugar es un factor de protección para las crías pertenecientes a las comunidades. Además, este resultado es estadísticamente significativo (Cuadro 9). Por decirlo de otra manera, si tomamos a las comunidades como referencia (1/0.22) obtenemos 4.54, lo que significa que una cría que pertenece a las universidades tiene 4.54 más riesgo de presentar *Cryptosporidium* sp. que una cría que pertenece a las comunidades.

Algunos autores indican que en algunos sistemas de manejo donde se reduce el contacto entre los animales el riesgo de infección disminuye (Garber et al., 1994; Mohammed et al., 1999). En este caso, a pesar que las universidades tienen un mejor conocimiento y manejo técnico de las enfermedades, influye mucho el hecho de albergar muchos animales por área, sobre todo en las épocas de parideras, mientras que en las comunidades las alpacas poseen grandes extensiones de terreno, presencia de pendientes que en muchos casos funciona como drenaje. Entonces, el hacinamiento de las alpacas ayuda a la diseminación de la enfermedad, ya que las alpacas adultas actuarían como portadores asintomáticos, así lo demostró López en 1997, y como se ha evidenciado en otras especies domésticas (Ortega-Mora *et al.*, 1999; Acha y Szyfres, 2003). Por otro lado, en alpacas se ha reportado bajas prevalencias en comparación con otros rumiantes, y esto es debido a múltiples factores como: rotación de dormideros, ingestión del calostro después del parto, el uso de antibióticos para prevenir la enterotoxemia junto con la colibacilosis (Fernández, 1995; Caman, 1996).

VI. CONCLUSIONES

- Se concluye que la presencia de *Cryptosporidium parvum* en la alpaca madre es un factor de riesgo para la presentación de *Cryptosporidium parvum* en sus respectivas crías.
- La presencia de diarrea en las madres no es un factor de riesgo para la presentación de *Cryptosporidium parvum* en las crías.
- El sexo no es un factor de riesgo para la presentación de *Cryptosporidium parvum* en las crías.
- La variable lugar es un factor de riesgo para la presentación de *Cryptosporidium parvum* en las crías.

VII. LITERATURA CITADA

1. Acha P.; Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3° Ed. Volumen III. Parasitosis. Organización Panamericana de Salud. 23 – 24p.
2. Acta Bioquím Clín Latinoam 2008; La Plata abr./jun. 42 (2): 195-201.
3. Akiyoshi D.; Dilo J.; Pearson C.; Chapman S.; Tumwine S.; Tzipori S. 2003. Characterization of *Cryptosporidium meleagridis* of Human Origin Passaged through Different Host Species. *Infection and Immunity*, April, (71) (4): 1828-1832.
4. Alpert G., Bell L.M., Kirkpatrick C.E., Budnick L.D., Campos J.M., Friedman H.M., Plotkin S. 1984. Cryptosporidiosis in a day-care center. *New Engl. J. Med.* 311:860-861.
5. Anderson B.C. 1981. Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 78: 982-984.
6. Angus K. W. 1990. Cryptosporidiosis in ruminants in: cryptosporidiosis of man and animals. Edited by Dubey J. P., Speer C. A. & Fayer R. 83-103.
7. Araya, J.; Gonzalez J.; Sagua H.; Olivares W.; Rimassa C.; Videla M. 1987. "Cryptosporidiosis en el Norte de Chile. I. Prevalencia en animales domésticos, sinantrópicos y silvestres". *Bol. Chile. Parasitol.* 42: 7-11.

8. Arcay L y Bruzual E, 1993. *Cryptosporidium* en ríos de Venezuela. Encuesta epidemiológica de una población humana y fauna en convivencia. *Parasitología al Día*;17:11-18.
9. Argenzio R.A., Liacos J.A., Levy M.L., Meuten D.J., Leche J.G., Powell D.W. 1990. Villous atrophy, crypt hyperplasia, cellular infiltration, and impaired Glucose-Na absorption in enteric cryptosporidiosis of pigs, *gastroenterology*. 98: 1129–1140p.
10. Aslam S, Musher DM. 2007. Nitazoxanide: clinical studies of a broad-spectrum anti-infective agent. *Future Microbiol*. 583-90.
11. Atías, A. 1991. *Parasitología Clínica*. 3th.ed. Chile: Mediterráneo: 102-104, 438-44, 462-466p.
12. Barriga OO . 1997; *Veterinary parasitology for practitioners*. 2nd ed. Edina: Burgess International Group. 189 – 190p.
13. Baxby D, Blundell N, Hart CA. 1984; The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. *J Hyg (Lond)*; 93: 317-23.
14. Berg I.E. A.C. Peterson, T.P. Freeman. 1978. Ovine cryptosporidiosis. *J Am Vet Med Assoc*; 173: 1586-1587.
15. Blagburn B.L., R. Soave. 1997. Prophylaxis and chemotherapy: human and animal in Fayer, R. Ed. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. *Crc Press, Boca Raton*. 111–128p.
16. Blewett D.A., Wright S.E., Booth N.Z., Jones C.E. 1993. Infective dose size studies on *Cryptosporidium parvum* using gnotobiotic lambs. *Wat. Sci. Tech.*, 27: 61-64.
17. Bogitsh BJ, Cheng TC. *Human Parasitology*. 1998; 2nd ed. San Diego: Academic Press. 484 pp.
18. Brownstein D, Strandberg J, Montali R, Bus M, Fortner J. 1977. *Cryptosporidium* in Snakes with hypertrophic gastritis. *Vet Pathol*;14: 606-617.
19. Caccio S. M, Pozio, E. 2006. Advances in the epidemiology, diagnosis and treatment of cryptosporidiosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.*; 4: 429-443.
20. Cama V. A., Bern C., Sulaiman I.M., Gilman R.H., Ticona E., Vivar A, Kawai V., Vargas D., Zhou L., Xiao L. 2003. *Cryptosporidium* species and genotypes

- in HIV-positive patients in Lima, Peru. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. 531–533.
21. Caman V. 1996. Prevalencia de Criptosporidiosis en alpacas neonatas en el centro alpaquero de la SAIS-Maranganí Cuzco. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima. Perú.
 22. Cármenes P., Rojo-Vázquez F.A., Muñoz M., Ortega-Mora L.M. 1993. Gastroenteritis infecciosas y parasitarias de los corderos y cabritos. *Ovis*, N° 27.
 23. Carvalho-Almeida T, Pinto P, Cuadros C, Torres MA, Kanamura H, Casimiro, A. Detection of *Cryptosporidium* sp. in non diarrheal faeces from children, in a day care center in the city of Sao Paulo, Brazil. 2006. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. Jan- Feb;48(1):27-32.
 24. Casemore R., Armstrong M., Sans R. 1985. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J Clin Pathol*. 38: 1337-1341.
 25. Casemore D. P. 1990. Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. *Epidemiology and Infection* 104: 1-28.
 26. Castro-Hermida JA, Pors I, Otero-Espinar F, Luzardo-Alvarez A, Ares-Mazás E, Chartier E. 2004. Efficacy of alpha-cyclodextrin against experimental cryptosporidiosis in neonatal goats. *Vet Parasitol.*;120 (1-2):35-41.
 27. Castro-Hermida JA, I. Pors, F. Mendez-Hermida, E. Ares-Mazas, C. Chartier. 2006. Evaluation of two commercial disinfectants on the viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Vet J.*; 171(2):340-345p.
 28. Castro-Hermida JA, García-Preseido I, González-Warleta M, Mezo M, Fenoy S, Rueda C, del Aguila C. 2008. Activity of an anti-inflammatory drug against cryptosporidiosis in neonatal lambs. *Vet Parasitol*. 17;155(3-4):308-13.
 29. Chacín-Bonilla L. 1995. Criptosporidiosis en humanos. Revisión. *Invest Clin*;36(4):207-50.
 30. Chermette R., Boufassa-Ouzrout S. 1988. Cryptosporidiosis: a cosmopolitan disease in animals and in man. Technical series N°5. Office International Des Epizooties, 2nd Ed. Paris; 122p.
 31. Clark DP, Sears CL. 1996. The Pathogenesis of Cryptosporidiosis. *Parasitology Today*;12(6):221-225.

32. Clavel A., Armal A.C., Sánchez E.C. 1996. Respiratory cryptosporidiosis: case series and review of the literature. *Infection* 24: 341-346p.
33. Clavel P, A. 1996. Criptosporidiosis. Mesa Redonda. XII Ed. Curso Zoonosis Emergentes, Universidad de Verano de Teruel.
34. Consejo Nacional del Ambiente (CONAM). 1999. Punto focal Cuzco: Estrategia regional para la conservación y utilización sostenible de la biodiversidad biológica. Universidad Nacional San Antonio de Abad. Cuzco. 5 -9p.
35. Cordero Del Campillo M. 1999. Parasitología Veterinaria. 1º Ed. *Editorial Mcgraw-Hill*. 213 – 219p.
36. Cordero Del Campillo M.; Rojo V., F.A. 2001. Diagnóstico de los parásitos. Parasitología Veterinaria. 1^{era} Ed. Editorial McGraw-Hill. 968 p.
37. Current , W. L., Upton S. J. and Haynes T. B. 1986. The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. *Journal of Protozoology* 33: 289-296.
38. Current W. L. 1988. The biology of *Cryptosporidium*. *Asm News*. 54 (11): 605-611.
39. Current W. L., García L.S.. 1991. Cryptosporidiosis. *Clinical Microbiology Reviews* 4: 325-358.
40. De Graaf Dc E. Vanopdenbosch, L.M. Ortega-Mora, H. Abbassi, J.E. Peeters. 1999. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Int J Parasitol*. 1269-1287.
41. Dhillon, A. S., Thacker H. I., Diethel A. V. and Winterfield R. W. 1981. *Avian Diseases* 25: 747-751.
42. Díaz A, Ramírez-Iglesia N, Hernández O. 2004; *Cryptosporidium* sp. en becerros neonatos de ganadería lechera y de doble propósito del estado Trujillo, Venezuela; *Zootecnia Tropical* 22(2):125-132p.
43. Dillingham RA, Lima AA, Guerrant RL. 2002. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes Infect* 4: 1059-1066.
44. Fahey T. 2003; Cryptosporidiosis. *Prim Care Update Ob Gyns*; 10: 75-80.
45. FAO. 2005. Situación actual de Camélidos Sudamericanos en Perú. Proyecto de cooperación técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los camélidos

- sudamericanos en la región andina. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. 63p.
46. Fayer R, Urgan L. 1986. *Cryptosporidium* spp. and Cryptosporidiosis. *Microbiol Reviews*; 50 (4): 458 – 483p.
 47. Fayer R, Nerad T, Rall W, Lindsay DS, Blagburn BL. 1991. Studies on cryopreservation on *Cryptosporidium parvum*. *J. Parasitol.*, 77: 357 – 361.
 48. Fayer R, Speer CA, Dubey JP. 1997. The general biology of *Cryptosporidium*. In R. Fayer Ed. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. *Crc Press*. 41p.
 49. Fayer R, Gasbarre L, Pascuali P, Canals P, Almeria S y Zarlega D. 1998. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *J. Parasitol.*, 28(1): 49-56.
 50. Fayer R, Morgan U, Upton S. 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int J Parasitol*. 30: 1305-1322.
 51. Fayer R. 2004. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology*; 126:37-56.
 52. Fayer R, Santín M, Xiao L. 2005. *Cryptosporidium bovis* N. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *J. Parasitol.*, 91(3), 2005, 624–629.
 53. Fayer R, Santín M, Trout JM. 2008. *Cryptosporidium ryanae*. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Vet Parasitol*. 156(3-4):191-8.
 54. Fernández M. 1995. Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatas del centro experimental La Raya, Cuzco. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.
 55. Foreyt W. 1990. Coccidiosis and cryptosporidiosis in sheep and goats. *Vet Clin of Nor. Arm: Food Animal Practice*; 6 (3): 655-70.
 56. Foroca D., Zanabria V., Málaga J., Vilca F. 2001. Cryptosporidiosis en alpacas crías del centro de investigación y producción La Raya-UNA.- Puno. *Fac Med Vet y Zootecnia*. Puno, Perú.
 57. Garmendia y McGuire, 1987. Mechanism and isotypes involved in passive immunoglobulin transfer to the newborn alpaca (*Lama pacos*). *American Journal of Veterinary Research*, 48:1 1465-1471.

58. Garber L.P., Salman M.D., Hurd H.S., Keefe T., y Schlater J.L. 1994. Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. *Vet Med. Assoc.*, 2005(1):86-91.
59. Goldfarb J, Tnnowitz H, Grossner R, Bonanno C, Kaufman D, Ma P et al. 1982. *Cryptosporidiosis* assessment of chemotherapy of males with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Morbidity and Mortality Weekly Report*; 31: 589-591.
60. Goodwin, M. A. 1989. *Cryptosporidiosis* in birds- A review. *Avian Pathology* 18: 365-384.
61. Gorman, GG. 1987. La *Cryptosporidiosis*: Una nueva entidad clínica. *Monog. Med. Vet.* 9(2): 52-60p.
62. Guselle N.; Appelbee A and Olson M. 2003. Biology of *Cryptosporidium parvum* in pigs: from weaning to market. *Veterinary Parasitology*. 113 (1) 7-18.
63. Hanscheid T, Cristino JM, Salgado MJ. 2008; Screening of auramine-stained smears of all fecal samples is a rapid and inexpensive way to increase the detection of coccidial infections. *Int J Infect Dis*; 12: 47-50.
64. Henricksen S. A., Pohlenz J.F.L. 1981. Staining of *Cryptosporidium* by a Modified Ziehl-Neelsen technique. *Act. Vet. Scand*; 22:594-59p.
65. Holland R.E. 1990. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clin Microbiol Rev.* 10: 345-375.
66. Hunter PR, Nichols G. 2002. Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infections in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15:145-154
67. Janoff E.N., L.B. Reller. 1987. *Cryptosporidium* species, a protean protozoan. *J Clin Microbiol.* 25 (6): 976 – 975p.
68. Juraneck D.D. 2000. *Cryptosporidiosis* en Strickland, G.T. Tropical medicine and emerging diseases. Ed. Saunders Company, 8^{va} Ed., Philadelphia, 1192p.
69. Kelly P, Thillainayagam V, Smithson J, Hunt JB, Forbes A, Gazzard BG, Farthing MJG. 1996; Jejunal Water and Electrolyte Transport in Human *Cryptosporidiosis*. *Digestive Diseases and Sciences*; 41(10):2095-99.
70. Kim CW. 1994. Laboratory animal models for experimental cryptosporidiosis: a mini-review. *Research and Reviews in Parasitology*; 54(1): 13-28.

71. Kosek M., C. Alcantara, A. M. Lima, R. L. Guerrant. 2001. Cryptosporidiosis: an update. *Lancet Inf Dis.* 1: 262 – 269.
72. Lawson LD; Powell DW. 1987; Bradykinin-stimulated eicosanoid synthesis and secretion by rabbit ileal components. *Am J Physiol.*; 252(G):783-90.
73. López, J.W.; Allen, S.D.; Mitchell, J.; Quinn, M. 1988. Rotavirus and *Cryptosporidium* Shedding in Dairy Calf Feces and Its Relationship to Colostrum Immune Transfer. *J Dairy Sci*, 71: 1288-1294.
74. López T. 1997. Estudio epidemiológico de la cryptosporidiosis en alpacas neonatas. Tesis Doctoral Univ. de León. España.
75. López T.; Gonzáles A., Rojo-Vázquez F. 2001. Infección experimental de alpacas neonatas con *Cryptosporidium parvum*. *Rev Acad Per Cien Vet.* 6:22 – 627.
76. Majewska A.C., P. Sulima, A. Werner, G. Baralkiewicz, J. Juszczak, N.J. Pieniasek. 1999. Cryptosporidiosis in HIV-positive Patients. *Wiad Parazytol*; 45(2):125-128.
77. Martín-Gómez S., 1996. Aspectos epidemiológicos de la infección por *Cryptosporidium parvum* en corderos y cabritos. Tesina de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de León. 128p.
78. McGAVIN, M.D.; Carlton, W.W.; Zachary, J.F. 2001. Alimentary system. Thomson's Special Veterinary Pathology. Mosby, Inc. 3th Ed. Missouri, U.S.A. 755 pp.
79. Meisel J L, Perera D.R., Meligro C., Rubrin C. 1976. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in a immunosuppressed patient. *gastroenterology*; 70:156-160.
80. Mohammed H.O., Wade S.E., Schaaf S. 1999. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York state. *Vet. Parasitology*, 83: 1-13.
81. Molina M. 2007; Evaluación de *Cryptosporidium parvum* como factor de riesgo para la presentación de diarrea neonatal en alpacas en el departamento de Puno. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.

82. Moon H. W., D.B. Woodmansee. 1986. Cryptosporidiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 189: 643-646.
83. Moore D. A. 1989. Minimizing morbidity and mortality from cryptosporidiosis. symposium on neonatal calf diarrhea. *Vet. Med.* 8: 811-15.
84. Moore, D. A., Zeman, D. H. 1991. Cryptosporidiosis in neonatal calves: 277 cases (1986-1987). *JAVMA*, 198:1969-1971.
85. Morgan UM, Pallant L, Dwyer BW, Forbes DA, Rich G, Thompson RCA. 1998; Comparison of PCR and microscopy for detection of *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens: clinical trial. *J Clin Microbiol*; 36: 995-998p.
86. Mtambo MMA, Nash AS, Blewett DA. 1991, *Cryptosporidium* infection in cats: prevalence of infection in domestic and feral cats in the Glasgow area. *Vet Rec* 129:502–504,
87. Muñoz F. M., Ortega Mora L.M., Carmenes D.P. 1993. Tratado de patología y producción ovina: gastroenteritis infecciosa y parasitaria de los corderos y cabritos. *Ovis*. 27: 76-86p.
88. Naciri, M., M. P. Lefay, R. Mancassola, P. Poirier, R. Chermette. 1999. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet. Parasitol.*, 85:245 - 257.
89. Nime F A, Burek J.D., Page D.N., Holscher M.A., Yardley J.H. 1976. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*. 70: 592-689.
90. Ocampo M, López T, González A y Copaira M. 2000. Prevalencia de *Cryptosporidium* y *Eimeria* en potrillos de carrera en la Costa del Departamento de Lima. *RIVEP*, (11) (2).
91. O'Donoghue P.J. 1995. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int. J. Parasitol*, 25: 139-195.
92. O'handley RM, Olson M.E. 2006. Giardiasis and cryptosporidiosis in ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 22(3):623-643.
93. Olson M., O'Handley R. 2004. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. *Trends In Parasitology*. 20: 4. 185 – 191.

94. Ortega-Mora L.M., Troncoso J.M., Rojo-Vázquez F.A., Gómez- Bautista M. 1993. Serum antibody response in lambs naturally and experimentally infected with *Cryptosporidium parvum*. *Vet. Parasitol*, 50: 45-54.
95. Ortega-Mora L., Wright S. 1994. Age-related resistance in ovine Cryptosporidiosis: patterns of infection and humoral immune response. *Infect Imm*; 62 (11): 5003 – 5009.
96. Ortega-Mora L. M. 1996. Biología, epidemiología y control de la cryptosporidiosis. Res XIII Cong Nac Cienc Vet Lima – Perú. 170 – 176p.
97. Ortega-Mora L.M., Gomez M., Rojo-Vásquez F. 1999. Criptosporidiosis en parasitología veterinaria. Editor M. Cordero Del Campillo y M. Rojo. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. Madrid. 213-221.
98. Peeters J. E., Villacorta L., Vanopdenbosch E. 1992. *Cryptosporidium parvum* in calves: kinetics and immunoblot analysis of specific serum and local antibody responses (immunoglobulin A (IgA), Ig G and Ig M) after natural and experimental infection. *Infect Immun*. 60: 2309- 2316.
99. Pohjola S., Jokipii L., Jokipii A.M. 1985. Dimethylsulphoxide-Ziehl-Neelsen staining technique for detection of criptosporidial oocyst. *Vet. Rec.*, 115: 442-443p.
100. Power ML, Ryan UM. 2008; A new species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from eastern grey kangaroos (*Macropus giganteus*); *J Parasitol*. Oct;94(5):1114-7.
101. Quilez, J., Sánchez-Acedo C., Clavel A., Cacho E., Lopez-Bernad F. 1996. Prevalence of *Cryptosporidium* infections in pigs in Aragon (Northeastern Spain). *Vet. Parasitol*. 67 (1–2), 83–88.
102. Ramírez, A.; Ogi, A.; Sumar, J.; Valdivia, R. 1981. Características Físico-Químicas de la leche de llama. Mem IV Cov Inter Camel Sudam, Punta Arenas-Chile, 20-21p.
103. Ramírez N.E.; Ward L.A.; Sreevatsa S. 2004. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes infect*. 6: 773-785p.
104. Regan J., Mcvay R., Mcevoy M., Gilbert J., Hughes R., Tougaw T., Parker E., Crawford W., Johnson J., Rose J.B., Boutros S., Roush S., Belcuore T., Rains, J. Munden C., Stark L., Hartwig E., Pawlowicz M., Hammond R., Windham D.,

- Hopkins R. 1996. Outbreak of cryptosporidiosis at a day camp. *Morbid. Mortal. Week. Rep.* 45:442 – 444.
105. Rojas C., Lobato A.I., Montalvo V.M. 1988. *Cryptosporidium* en camélidos sudamericanos. XI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias Lima-Perú; Abs. F 2.6.
106. Rojas M. 2004. Nosoparasitosis en los rumiantes domésticos peruanos. 2° Ed. Lima Perú. 120 – 123p.
107. Romero M. 1998. Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatales de la sierra central peruana. Tesis Maestría. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.
108. Rothman K, S. Greenland. 1998. Modern Epidemiology. *Lippincott–Raven.* 93-114p.
109. Santin, M., Fayer, R. 2007. Intragenotypic variations in the *Cryptosporidium cervine* genotype from sheep with implications for public health. *Journal of Parasitology.* 93(3):668-672.
110. Snyder, S.P.; England J.J., MC Chesney A.E. 1978. "Cryptosporidiosis in immunodeficient Arabian foals. *Vet. Pathol.*15: 12-17.
111. Soule, C.; E. Plateau; C. perreta; R. Chermette; M.M. Feton.1983. "Observation de cryptosporidies chez leu poulain. Note préliminaire. *Rec. Med. Vet.* 159: 719-720p.
112. Stephen H. G., Person R. 2001. Principles and practice of clinical parasitology. 1° Ed. John Wiley & Sons, Ltd. 139 – 147p.
113. Steven, D.H.; Burton, G.J.; Sumar, J.; Nathanielsz, P.W. 1980. Ultrastructural observations on the placenta of the alpaca (*Lama pacos*). *Placenta.* Jan/Mar; 1(1): 21-32.
114. Thompson RC, Olson ME, Zhu G, Enomoto S, Abrahamsen MS, Hijjawi NS. 2005. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. *Adv Parasitol*; 59:77-162.
115. Tribeño D. 1997. Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatas de Caylloma-Arequipa. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.
116. Troncoso J.M. 1992. *Cryptosporidium parvum* en la diarrea neonatal en pequeños rumiantes y algunos aspectos epizootiológicos de la cryptosporidiosis

- en corderos (Tesis Doctoral). Fac. Med. Vet.: Universidad Complutense de Madrid. 216p.
117. Trotz-Williams LA, Jarvie B.D., Martin S.W., Leslie K.E., Peregrine. A.S. 2005. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Can Vet J.* 46(4):349-51p.
118. Trotz-Williams LA, Wayne Martin S, Leslie KE, Duffield T, Nydam DV, Peregrine AS. 2007. Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev Vet Med.* 15;82(1-2):12-28.
119. Tyzzer E. 1907. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 5: 12 – 13.
120. Tzipori S. 1985. The relative importance of enteric pathogens affecting neonates of domestic animals. *Advances in veterinary science and comparative medicine* 29: 103-206.
121. Tzipori S., Ward H., 2002. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. *Microbes Infect*; 4: 1047-1058.
122. Upton S.J., Current W.L. 1985. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. *Int J Parasitol.* 71:625-629.
123. Valdez, L. 1997. Manifestaciones Gastrointestinales en pacientes con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. *Revista de Gastroenterología del Peru.* 17 (1)
124. Vallenás, A. 1958. Las proteínas totales y fraccionadas del suero sanguíneo de alpacas. Algunas variaciones fisiológicas. *Rev Fac Med Vet, UNMSM, Lima II:* 41-49.
125. Vásquez, O. Álvarez, R. Gonzales, N. Neme, G. Romeo, R. 1998. Diagnóstico y tratamiento de infección por *Cyclospora cayetanensis* en pacientes pediátricos. *Rev. Gastroent. Perú* 18(2): 116-120.
126. Villacorta G. 2007; Evaluación de *Cryptosporidium parvum* como factor de riesgo para la presentación de diarrea neonatal en alpacas en el departamento de Cuzco. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú., 15-19.
127. Villacorta M.I., Ares M.E., Lorenzo M.J. 1991. *Cryptosporidium parvum* in cattle, sheep and pigs in Galicia (N.W. Spain). *Vet. Parasitol.*, 38: 249 – 252.

128. Vitovec J., Koudela B. 1992. Pathogenesis at intestinal cryptosporidiosis in conventional and gnotobiotic piglets. Institute of parasitology Czechoslovak. *Vet Parasitol*; 43: 25 – 36.
129. VÍTOVEC J, HAMADEJOVÁ K, LANDOVÁ L, KVÁČ M, KVĚTONŮVÁ D, SAK B. 2006. Prevalence and Pathogenicity of *Cryptosporidium suis* in Pre- and Post-weaned Pigs, *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 53 (5): 239 - 243
130. Wang R, Wang J , Sun M , Dang H, Feng Y, Ning C, Jian F, L Zhang L , Xiao L. 2008. Molecular characterization of the *Cryptosporidium* cervine genotype from a sika deer (*Cervus nippon* Temminck) in Zhengzhou, China and literature review. *Parasitol Res*. 103: 865-869.
131. Wayne W., Daniel. 2008. Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud. IV Edición. Editorial Limusa Wiley. Mexico. 544 – 547.
132. Weitz J. C., Astorga B. 1993. *Cryptosporidium parvum* in patients with chronic diarrhea and AIDS; diagnosis by means of indirect immunofluorescence with monoclonal antibodies. *Rev. Med. Chil*. 121 (8): 923 – 926p.
133. Whitehead C. E., Anderson D.E. 2006. Neonatal diarrhea in llamas and alpacas. department of veterinary clinical sciences, College of Veterinary Medicine, The Ohio State University, 601 Vernon L Tharp St, Columbus, Oh 43210, Usa; 207–215p.
134. Wong P.; Ong C.; 2006. Molecular characterization of the *Cryptosporidium* cervine genotype. *Parasitology*. 133 (6). 693-700.
135. Xiao L., Herd. R. 1994. Review of equine *Cryptosporidium* infection. *Equine Vet. J*. 26(1); 9-13.
136. Xiao L., Bern C., Limor J., Sulaiman I., Roberts J., Checkley W., Cabrera L., Gilman R.H., Lal A.A. 2001; Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Perú. *J Infect Dis*; 183: 492-497.
137. Xiao L, Fayer R., Ryan U., Upton S.J. 2004. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev*. 17(1):72-97.
138. Xiao L, Fayer R. 2008; Molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *Int J. Parasitol*, en prensa.
139. Zanaro N, Garbossa G. 2008; *Cryptosporidium*: cien años después. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.*, abr./jun., vol.42, no.2, p.195-201.

140. Zarlenga DS, Trout JM. 2004; Concentrating, purifying and detecting waterborne parasites. *Vet Parasitol*; 126: 195-217.
141. Zu S.X., Fang G.D., Fayer R., Guerrant R.L. 1992. Cryptosporidiosis: pathogenesis and immunology. *Parasitol Today*; 8(1): 24 – 27.