



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

**Evaluación de *Cryptosporidium parvum* como factor de
riesgo para la presentación de diarrea neonatal en
alpacas en el departamento de Cuzco**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Cecilia VILLACORTA GUZMÁN

ASESORES

Fidel Francisco SUÁREZ ARANDA

Eva Consuelo CASAS ASTOS

Lima, Perú

2007



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

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

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

Referencia bibliográfica

Villacorta, C. Evaluación de *Cryptosporidium parvum* como factor de riesgo para la presentación de diarrea neonatal en alpacas en el departamento de Cuzco [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2007.

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO	i
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE APÉNDICE	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
1. IMPORTANCIA DE LA CRIANZA DE ALPACAS EN EL PERÚ	3
2. LA PROBLEMÁTICA EN LA CRIANZA DE ALPACAS	4
3. GENERALIDADES DEL PARÁSITO	5
4. LOCALIZACIÓN EN EL HOSPEDADOR	7
5. CICLO BIOLÓGICO	8
6. EPIDEMIOLOGÍA	
6.1. Prevalencia	10
6.2. Fuentes de contagio y vías de transmisión	12
6.3. Factores epidemiológicos asociados a la especie hospedadora	
6.3.1. Especie hospedadora	13
6.3.2. Estado inmunitario	13
6.3.3. Edad del hospedador	14
6.3.4. Ingestión de calostro	14
6.4. Factores epidemiológicos asociados al parásito	
6.4.1. Características del ciclo biológico	15
6.4.2. Resistencia de los ooquistes	15
6.4.3. Dosis infectante y características de la cepa	16
6.5. Factores epidemiológicos asociados al medio ambiente	16
7. PATOGÉNESIS	17
8. SIGNOS DE LA ENFERMEDAD	18
9. LESIONES ANATOMO E HISTOPATOLÓGICAS	20
10. DIAGNÓSTICO	20
11. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN	22

12	DISEÑO DE ESTUDIO EN LA INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLOGICA	24
	12.1. Estudio Caso-Control	24
	12.2. Estudio Cohorte	24
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	
1.	Diseño de estudio	25
2.	Lugar de estudio	25
	a) Localidad de Chillihua	25
	b) Localidad de La Raya	26
3.	Animales: Tamaño Muestral	26
4.	Recolección y conservación de las muestras	27
5.	Técnica de tinción para <i>Cryptosporidium sp.</i>	
	5.1. Tinción de Zielh – Neelsen Modificada (ZNM)	28
	5.2. Lectura de las muestras	28
	5.3. Criterio de diagnóstico	28
6.	Factores de riesgo asociados a la infección por <i>C. parvum.</i>	29
7.	Análisis de datos	29
8.	Intervalo de confianza (I.C.95%)	29
IV.	RESULTADOS	30
V.	DISCUSIÓN	34
VI.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	38
VII.	LITERATURA CITADA	39
VIII.	APÉNDICE	52

RESUMEN

La criptosporidiosis es una enfermedad producida por el protozoo *Cryptosporidium parvum*, que se caracteriza por producir diarrea en los animales neonatos y ocasionar pérdidas económicas en la industria pecuaria. Afecta a un gran número de animales domésticos y silvestres e inclusive al hombre. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar si la presencia de *Cryptosporidium parvum* es un factor de riesgo de diarrea en alpacas neonatas menores de 15 días de edad provenientes de diversas unidades alpaqueras del Departamento de Cuzco. Esta tesis empleó el diseño epidemiológico de Caso-control para establecer si existe una relación causal. Se tomaron 248 y 231 muestras fecales de animales con diarrea y de animales aparentemente sanos (n=497) durante la temporada de parición de alpacas del 2006. Las muestras fueron preservadas en una solución de Bicromato de Potasio al 2%. Para detectar la presencia de *C. parvum* se utilizó la Técnica de Tinción de Ziehl Neelsen Modificado (ZNM). Los datos se analizaron empleando una regresión logística con el paquete estadístico STATA 8.0. La regresión logística ajustó variables potencialmente confundentes como edad, sexo, raza y lugar de origen de las alpacas neonatas muestreadas. Se encontró un Odds Ratio de 4.3; I.C.= 2.3 – 7.9. Este estudio demuestra que las alpacas en las que se detectó la presencia de *C. parvum*, tienen 4.2 veces mayor predisposición a sufrir diarreas en relación a las alpacas con diagnóstico ZNM negativo. Así mismo, se determinó asociación estadística significativa entre los animales que presentan infección por el parásito y los que manifiestan cuadros de diarrea (23.4%; n=58), en comparación con el grupo aparentemente sanos (8.6%; n=20).

Palabras claves: *Cryptosporidium parvum*, factor de riesgo, alpacas.

ABSTRACT

Cryptosporidiosis is a disease produced by a parasitic protozoa *Cryptosporidium parvum* that is characterized to produce diarrhea in neonatal animals and it causes economic losses in factory farming. It affects several species of domestic and wild animals including man. The present study had as objective evaluate the presence of *Cryptosporidium parvum* as a risk factor to the diarrhea presentation in baby alpacas younger than 15 days of age from peasant communities of department of Cuzco using a Case-control study design. During the 2006 calving season, a total of 248 and 231 stool samples were collected from animals with and without diarrhea respectively (n = 497). All samples were preserved in a 2 % potassium dichromate solution. Every one was evaluated microscopically using Modified Ziehl Neelsen stain (MZN). The results were analyzed using a logistic regression model with the statistical package STATA 8.0. The logistic regression analyzes potentially confused variables as age, sex, breed and location of baby alpacas. The Odds Ratio was: 4.2; C.I. = 2.3 – 7.9. This study demonstrates that the presence of *C. parvum* in neonatal alpacas have 4.2 times major predisposition to suffer diarrheas in relation to the animals with MZN negative diagnostic. Likewise statistical significant association was determined between the animals which MZN positive diagnostic and the present of diarrhea (23.4%; n = 58), in comparison with the group seemingly healthy (8.6 %; n = 20).

Key words: *Cryptosporidium parvum*, risk factor, alpacas.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Distribución geográfica de alpacas en el Perú.	4
Cuadro 2.	Especies y genotipos de <i>Cryptosporidium sp.</i> que se reconocen en la actualidad, su localización, los hospedadores y si estas afectan al humano	6
Cuadro 3.	Prevalencia de <i>C. parvum</i> encontrada en alpacas neonatas por departamento.	11
Cuadro 4:	Distribución del número de muestras fecales de alpacas neonatas recolectadas en las localidades de Chillihua y La Raya del distrito de Marangani provincia de Canchis – Cuzco.	27
Cuadro 5.	Distribución de alpacas neonatales diarreicas según la presencia o no de <i>Cryptosporidium parvum</i> .	30
Cuadro 6.	Distribución de alpacas neonatales diarreicas según la localidad de origen.	31
Cuadro 7.	Distribución de alpacas neonatales diarreicas según el sexo.	31
Cuadro 8.	Distribución de alpacas neonatales diarreicas según la raza.	32
Cuadro 9.	Regresión logística múltiple (MLG) interacción entre las diferentes variables estudiadas <i>versus</i> la presencia de diarrea neonatal en alpacas provenientes del departamento de Cuzco.	33

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1. Ciclo Biológico de *Cryptosporidium parvum* (Fayer et al., 1990). 9
- Fig. 2. Microfotografía de ooquistes de *Cryptosporidium parvum*. Técnica de ZNM, a 400. 22

APÉNDICE

Apéndice 1. Reactivos utilizados para la técnica de Ziehl-Neelsen Modificado (ZNM).	53
Apéndice 2. Distribución de muestras positivas a <i>C. parvum</i> según tipo de heces.	54
Apéndice 3. Distribución de muestras positivas a <i>C. parvum</i> según lugar de origen.	55
Apéndice 4. Distribución de muestras positivas a <i>C. parvum</i> según sexo.	56
Apéndice 5. Distribución de muestras positivas a <i>C. parvum</i> según raza.	56

I. INTRODUCCIÓN

La crianza de alpacas constituye una importante fuente de ingresos, tanto para las empresas asociativas como para las pequeñas comunidades de la región sur del Perú. Su importancia radica en la producción de fibra y carne (Bustinza, 2001). Adicionalmente, la elaboración de cueros y pieles de alpaca para actividades artesanales, constituyen una importante fuente de trabajo (Ramírez *et al* 1985). Por otro lado, las alpacas son susceptibles a un gran número de enfermedades cuya importancia varía de acuerdo al sistema de crianza y al fundo alpaquero. En este sentido, los beneficios de la crianza de alpaca se ven mermados por una serie de problemas sanitarios, en especial los que afectan a los recién nacidos (Moro, 1971).

Los problemas entéricos tienen un origen que frecuentemente es de carácter multifactorial. En este sentido, microorganismos como *Clostridium perfringens* tipo A y C, *Eschechichia coli*, rotavirus, coronavirus, *Cryptosporidium* sp. y otros, pueden estar involucrados como único agente o todos ellos en asociación (Holland, 1990). Uno de los principales enteropatógenos asociados a la alta morbilidad y baja mortalidad en alpacas neonatas es *Cryptosporidium parvum* (Rojas, 2004). En estas, la criptosporidiosis cursa con depresión, anorexia, deshidratación, dolor abdominal fiebre y característicamente con diarrea.

Diversos estudios de prevalencia de la criptosporidiosis se han realizado en alpacas de 1–15 días de edad pertenecientes a diversas localidades de diferentes departamentos del Perú. Las prevalencias encontradas para la enfermedad varían de 10 a 26 %. Asimismo, se han realizado estudios que establecen una asociación temporal entre diarrea y presencia de *Cryptosporidium* y que utilizaron un estudio ecológico de tipo transversal (López, 1997; Romero, 1998).

Si bien es cierto que los estudios de prevalencia y los estudios ecológicos de tipo transversal son un primer paso en el estudio de cualquier enfermedad, también es cierto que tienen ciertas limitaciones. Los estudios ecológicos de tipo transversal calculan una asociación temporal, que no es suficiente para establecer una relación causal. La causalidad requiere, entre otras cosas, temporalidad, vale decir, que la causa ocurra primero. La temporalidad en condiciones de campo es difícil de establecer, de ahí que se empleen diseños específicos, tales como cohortes y caso-

control. La presente tesis tuvo como objetivo evaluar la presencia de *C. parvum* como factor de riesgo para la presentación de diarrea neonatal en alpacas menores de 15 días de edad en la provincia Canchis departamento de Cuzco mediante un estudio epidemiológico de Caso-Control.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. IMPORTANCIA DE LA CRIANZA DE ALPACAS EN EL PERU

En la actualidad, los camélidos sudamericanos (CSA) constituyen el único medio de utilización productiva de las extensas áreas de pastos naturales de las zonas alto andinas donde no es posible la agricultura ni la crianza económica de otras especies de animales domésticos. Los CSA convierten, con inusual eficiencia, los pastos pobres de estas alturas en productos de alta calidad como son la fibra y la carne (FAO, 2005).

Entre los CSA, la alpaca (*Lama pacos*) es la especie doméstica más importante en las regiones donde se cría. Esta condición se debe a que el principal ingreso económico que obtienen los pobladores de las regiones altoandinas es a través de la comercialización de su carne, piel y fibra. Desde el punto de vista económico, la alpaca es considerada un animal de doble propósito, por su producción de fibra de alto valor textil y producción de carne de excelente calidad nutritiva, alta en proteínas y baja en grasa (Bustinza, 2001). Adicionalmente, la elaboración de cueros y pieles de alpaca para actividades artesanales constituye una importante fuente de trabajo para los pobladores de las regiones donde se crían (Ramírez *et al.*, 1985; Ortiz, 1988).

El Perú tiene el privilegio de ocupar el primer lugar en el mundo en la tenencia de alpacas y vicuñas (*Lama vicugna*) y el segundo lugar en llamas (*Lama glama*), después de Bolivia. El aprovechamiento racional de esta ventaja comparativa es el reto que el país encara como el medio más efectivo de lucha contra la pobreza y la inseguridad alimentaria que afecta a las comunidades campesinas que viven de la crianza de estas especies (FAO, 2005)

Se estima que la población mundial de alpacas llega a 3 500.000 cabezas. Según el Consejo Nacional de Camélidos Sudamericanos (CONACS), el Perú es el país alpaquero más importante debido a que en el año 2001 presentó una población de 3 041,598 alpacas, lo cual representa aproximadamente el 87% de la población mundial (FAO, 2005). Los principales departamentos productores de alpacas en Perú son: Puno, Cuzco, Huancavelica, Arequipa, Ayacucho, Apurimac, Junin y Pasco (ver cuadro 1). Cuzco es el segundo departamento alpaquero más importante a nivel

nacional, después de Puno, con una población de 346 228 animales que representan el 11.9% de la población nacional (FAO, 2005).

Cuadro 1. Distribución geográfica de alpacas en el Perú.

Región	Total	%
Puno	1 681 919	58.0
Cuzco	346 228	11.9
Huancavelica	330 628	11.4
Arequipa	234 371	8.1
Ayacucho	129 506	4.5
Apurimac	84 948	2.9
Junin	55 590	1.9
Lima	37 710	1.3
TOTAL	2 900 900	100.0

Nota: Junín incluye los departamentos de Pasco y Huanuco.
Huancavelica incluye el departamento de Ica.
Lima incluye Ancash, Cajamarca y La Libertad.

Fuente FAO (2005).

2. LA PROBLEMÁTICA EN LA CRIANZA DE ALPACAS

De acuerdo al III Censo Nacional Agropecuario 1994, el Perú registró 74 487 unidades criadoras de alpacas, que constituye el 4% del total de unidades agropecuarias (INEI, 1995). De este total, se estima que sólo el 5% se encuentra en empresas asociativas y centros experimentales que usan tecnología avanzada. El 10% corresponde a medianos y pequeños productores con un nivel tecnológico intermedio y el 85% de la población alpaca está en poder de comunidades con escaso o nulo uso de tecnología (Ameghino y DeMartini, 1991; Bustinza, 2001).

En la crianza de alpacas existen problemas sanitarios y reproductivos que limitan su eficiencia productiva. Factores como deficiencia de adecuadas prácticas de manejo, ausencia de innovaciones tecnológicas, carencia de programas de selección genética, bajo nivel cultural del campesinado y la falta de capacitación de los productores ocasionan una disminución de la producción alpaquera y una pobre rentabilidad para el productor. Asimismo, las enfermedades gastrointestinales ocasionan grandes pérdidas debido a la morbilidad y mortalidad que producen (Ameghino y DeMartini, 1991).

Las enfermedades gastrointestinales en las crías neonatas producen una alta morbilidad y variable mortalidad (Ameghino y DeMartini, 1991). Entre los principales agentes enteropatógenos causantes de enfermedades gastrointestinales en alpacas neonatas están: *Escherichia coli*, rotavirus, coronavirus; ciertas especies de *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Clostridium perfringens*, levaduras y *Cryptosporidium sp.* Todos estos agentes infecciosos y parasitarios están relacionados al síndrome de diarrea neonatal de los rumiantes (Guerrero *et al.*, 1970; Moro, 1971; Calderón *et al.*, 1985; Ameghino y DeMartini, 1991 López, 1997), el cual se ve influenciado por otros factores relacionados al animal, el medio ambiente y el manejo (Troncoso, 1992; Whitehead y Anderson, 2006).

3. GENERALIDADES DEL PARÁSITO

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). Es una enfermedad de distribución cosmopolita (Acha y Szyfres, 2003), caracterizada por diarrea prolongada en mamíferos (Quílez *et al.*, 1996). Puede afectar tanto a mamíferos inmunocompetentes como inmunocomprometidos (Vitovec y Koudela, 1992; Majewska *et al.*, 1999). El *Cryptosporidium* es un parásito que se desarrolla y se multiplica en células epiteliales del intestino y en algunas ocasiones afecta el aparato respiratorio de animales vertebrados, incluyendo al hombre (Stephen *et al.*, 2001; Nichols *et al.*, 2006).

El *Cryptosporidium parvum* es considerado como un parásito ubicuo, patógeno y no específico (Chermette y Boufassa-Ouzrout, 1988). Este parásito fue descrito por primera vez por Tyzzer en 1907, en un ratón asintomático de laboratorio (Tyzzer, 1907). En la actualidad se ha reportado en numerosas especies de mamíferos (Xiao *et al.*, 2004), aves (Sreter y Varga, 2000), reptiles (Alves *et al.*, 2005; Xiao *et al.*, 2002) y peces (Fayer, 1986; Xiao *et al.*, 2004). El cuadro 2 muestra las especies de *Cryptosporidium* que se reconocen en la actualidad, su localización, los hospedadores y si estas afectan al humano.

En la actualidad se sabe que existen tres especies diferentes dentro del género *Cryptosporidium* que afectan a los rumiantes. *C. bovis*, parasita el intestino de bovinos, sus ooquistes miden aproximadamente 4.9 x 4.6 μm (Fayer *et al.*, 2005),

C. andersoni afecta sólo a bovinos adultos, se localiza en el estómago (cuajar) y presenta ooquistes ovoides de 7.4 x 5.6 μm ; y *C. parvum* que afecta a todos los rumiantes, es de localización intestinal y posee ooquistes esféricos u ovoides de menor tamaño aproximadamente entre 4.5 – 5 μm (Upton y Current, 1985; O'Donoghue, 1995; Xiao *et al.*, 2004).

Cuadro 2. Especies y genotipos de *Cryptosporidium sp.* que se reconocen en la actualidad, su localización, los hospedadores y si estas afectan al humano.

Especies y genotipos	Localización	Hospedador
<i>C. parvum</i>	Intestino	Mamíferos (H)
* <i>C. bovis</i>	Intestino	Bovinos
<i>C. muris</i>	Estómago	Roedores (H)
<i>C. andersoni</i>	Estómago	Vacas
<i>C. felis</i>	Intestino	Gatos (H)
<i>C. canis</i>	Intestino	Perros (H)
<i>C. wrairi</i>	Intestino	Cobayos
<i>C. baileyi</i>	Tráquea, Bursa de Fabricio y cloaca	Gallináceas
<i>C. meleagridis</i>	Intestino	Pavos (H)
<i>C. serpentis</i>	Estómago	Ofidios
<i>C. nasorum</i>	Intestino	Peces
<i>C. molnari</i>	Estómago	Peces
<i>C. saurophilum</i>	Intestino y cloaca	Lagartijas
<i>C. genotipo cerdo</i>	Intestino	Cerdos (H)
<i>C. hominis</i>	Intestino	Humano

(H): Especies de *Cryptosporidium* que afectan al humano.

Fuente: Xiao *et al.*, 2004.

*Fayer *et al.*, 2005.

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). 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). Otro estudio realizado por Xiao *et al.* (2004), reportaron una medida más exacta de *C. parvum* que va desde 4.5 x 5.0 (4.5 – 5.4 x 4.2 - 5.0) μm . por 4.6 x 5.2 (4.8 – 5.6 x 4.2 – 5.8) μm .

Berg *et al.* (1978) describieron la presencia de *C. parvum* por primera vez en el ganado ovino. Posteriormente, su presencia se reportó en camélidos sudamericanos (Rojas *et al.*, 1988) y sus efectos patógenos se describieron en alpacas neonatas (López *et al.*, 2001). Los primeros casos en humanos se reportaron en 1976 y estuvieron asociados con una exposición de granja (Nime *et al.*, 1976; Meisel *et al.*, 1976; Janoff, 1987). Posteriormente en 1988, 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).

Actualmente, el *Cryptosporidium* sp. está considerado en el grupo de los principales enteropatógenos causantes de diarrea en el ganado joven. La enfermedad cursa con una alta morbilidad y en ocasiones con alta mortalidad cuando está asociado a otros enteropatógenos como *E. coli* (Cordero del Campillo, 1999).

4. LOCALIZACIÓN EN EL HOSPEDADOR

El desarrollo del ciclo biológico tiene lugar en el lumen del intestino delgado, teniendo especial predilección por el ileon, aunque también puede afectar otros tramos intestinales como el duodeno, yeyuno, ciego y colon (Hill, 1989; Muñoz *et al.*, 1993). En determinados casos, parasita todo el tracto intestinal de los mamíferos encontrándose ocasionalmente en otras localizaciones corporales como conductos biliares, conjuntiva, tráquea, útero y vías urinarias y respiratorias en humanos, considerándose las como ubicaciones accidentales (O'Donoghue, 1995, Stephen *et al.*, 2001; Nichols *et al.*, 2006).

Los estadios endógenos se sitúan en el borde apical de las células epiteliales del intestino en una localización que se ha definido como intracelular pero

extracitoplasmática (Fayer y Ungar, 1986; Ortega-Mora *et al.*, 1999). Esta localización tan peculiar se debe a que el parásito no llega a invadir el citoplasma de la célula hospedadora. Sin embargo, los múltiples pliegues de la membrana de esta célula hospedadora envuelven al organismo, dando como resultado la localización intracelular del parásito dentro de un saco de membrana de microvellosidad o vacuola parasitófora (Tzipori, 1988). Esta ubicación es de suma importancia en el diagnóstico histopatológico del parásito, donde puede ser observado microscópicamente en el ápice de las vellosidades y en las criptas de Lieberkhün (López *et al.*, 2001; Palacios *et al.*, 2005)

5. CICLO BIOLÓGICO

El ciclo de vida del *Cryptosporidium* (Figura 1) es monoxeno y semejante al de otras coccidias (Holland, 1990). Presenta seis fases, entre ellas: Desenquistamiento con salida de los esporozoítos infectivos, Merogonia o esquizogonia que es la fase de reproducción asexual, Gametogonia o fase de reproducción sexual que da la formación de los macro y microgametos, Fertilización o unión del macrogameto y microgameto, Formación de la pared del ooquiste y Esporogonia o formación de los esporozoítos dentro de la pared del ooquiste (Current, 1988). Los ooquistes esporulados son eliminados con las heces del hospedador infectado (Ramírez *et al.*, 2004), contaminando el medio ambiente, alimento o agua (Acha y Szyfres, 2003).

La infección se inicia cuando el hospedador ingiere agua o alimentos contaminados con ooquistes esporulados de *C. parvum*. Luego prosigue el desenquistamiento en el tracto gastrointestinal del hospedador, de esta manera se liberan los cuatro esporozoítos del ooquiste. La temperatura corporal de los mamíferos, en torno 37°C, las sales biliares y posiblemente, la tripsina favorecen el proceso de esta fase (Muñoz *et al.*, 1993). Posteriormente, los esporozoítos alcanzan el borde luminal de los enterocitos mediante movimientos de contracción-extensión y deslizamiento. Luego se invaginan y son englobados por las microvellosidades de la célula hospedadora, que encapsula al parásito en su interior, formando una vacuola parasitófora (Holland, 1990). En esta vacuola parasitófora tienen lugar las fases de multiplicación, los esporozoítos maduran a trofozoítos que luego de desarrollar y madurar sufren 3 divisiones nucleares para formar los merontes de tipo I (Sánchez *et al.*, 1991; Kosek *et al.*, 2001; Olson *et al.*, 2004).

En la década de los setenta se propuso la hipótesis de la existencia de dos tipos de ooquiste (Iseki, 1979), hipótesis que posteriormente fue confirmada (Fayer y Ungar, 1986). La mayoría de los cigotos maduros (alrededor de 80% del total) desarrollan una cubierta externa resistente y se transforman en ooquistes infectantes, con una pared gruesa y de 2.5 a 5 μm de diámetro (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 resto de los cigotos maduros (20%) forman los ooquistes de capa delgada que se rompen con facilidad, autoinfectando al hospedador sin abandonar el intestino, reiniciando el ciclo de manera endógena (Stephen *et al.*, 2001).

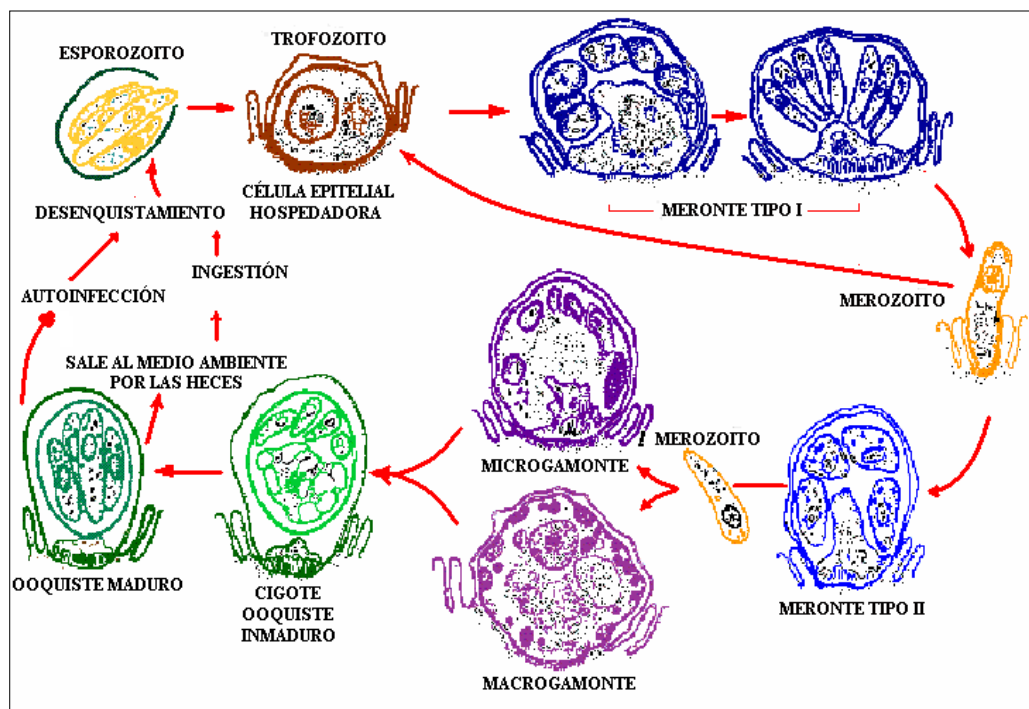


Fig 1. Ciclo Biológico de *Cryptosporidium parvum* (Fayer *et al.*, 1990)

En terneros, el período prepatente (PPP) es de 3-6 días y el período patente (PP) de 6-9 días (Fayer, 1998). Se ha observado que el PPP presenta variaciones, habiéndose demostrado experimentalmente que el PPP en terneros es de 2 – 7 días (Tzipori *et al.*, 1983) y entre 2 – 5 días en corderos (Tzipori *et al.*, 1981). Sin embargo, este periodo se alarga al disminuir la dosis infectante (Blewett *et al.*, 1993) o al aumentar la edad del hospedador (Ortega-Mora y Wright, 1994).

El PPP en humanos es de aproximadamente de 4 – 22 días (Stephen *et al.*, 2001). Por otro lado, la duración de eliminación de ooquiste está entre 1 a 12 días en terneros y de 5 a 14 días en el cerdo (Fernández, 1998). Los períodos prepatente y patente de la criptosporidiosis en alpacas neonatas se determinaron en un estudio de infección experimental. Se estableció un período prepatente de 72 – 96 horas. Asimismo, se determinó un período patente de 11 – 14 días. Por otro lado, se observó una eliminación máxima de ooquistes entre el día 7 y el día 10 p.i. y a partir del día 18 p.i. no se detectó ningún ooquiste en las heces (López *et al.*, 2001).

6. EPIDEMIOLOGÍA

6.1. Prevalencia

La criptosporidiosis es una enfermedad cosmopolita, presente en muchos mamíferos, aves, peces y reptiles (De Graaf *et al.*, 1999; Caccio *et al.*, 2005). Hasta 1995 *Cryptosporidium* sp. fue identificado en 170 especies diferentes y en 79 especies de mamíferos (O'Donoghue, 1995). Actualmente, se ha identificado en muchas especies más (Xiao *et al.*, 2004; Fayer *et al.*, 2005).

Estudios epidemiológicos en el ganado bovino, muestra 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) ni en niños menores de 13 años y adolescentes de 14 a 21 años (Kuhls *et al.*, 1994). No obstante, las diferencias observadas en algunos estudios relacionados a la distribución por sexo de personas adultas infectadas, probablemente reflejen diferencias en la exposición más que una diferencia en la susceptibilidad a la infección con el parásito (Juraneck, 2000).

La prevalencia de *C. parvum* en bovinos ha sido establecida en un 59%. Por otro lado, el parásito también es frecuente en el ganado ovino y caprino, presentado prevalencias similares a la del ganado bovino (Cordero del Campillo, 1999). Las alpacas son susceptibles a un gran número de enfermedades cuya importancia varía de acuerdo al sistema de crianza y al fundo alpaquero (Moro, 1971). Estudios epidemiológicos realizados en el altiplano norteño de Chile demostraron que este parásito está presente en alpacas y llamas menores de dos semanas de edad y que la presencia del parásito está en un 16.7% y 20% respectivamente (Rojas *et al.*, 1988).

Fernández (1995) halló una prevalencia de *C. parvum* de 9.96% (n=241) en alpacas neonatas en La Raya-Cuzco. Asimismo, la prevalencia de *C. parvum* ha sido estudiada individualmente en Puno (Morales, 1996), Cuzco (Caman, 1996), Junín (Wanda, 1996), Arequipa (Tribeño, 1997), Ayacucho (Ramírez, 1997), Huancavelica y Pasco (Romero, 1998). El cuadro 3, muestra las prevalencias encontradas en los departamentos del Perú donde se ha estudiado la criptosporidiosis.

La prevalencia de la enfermedad en alpacas ha sido estudiada en diferentes departamentos productores del Perú. Estudio realizado en la FMV-UNMSM por López (1997) en alpacas neonatas menores de 14 días de edad (n=5,163), halló una prevalencia corregida de $15 \pm 0.97\%$. Las mayores prevalencias se encontraron en los departamentos con el mayor número de animales por rebaño y se determinó que *C. parvum* estaba estrechamente relacionado con la presencia de diarrea neonatal.

Cuadro 3. Prevalencia de *C. parvum* encontrada en alpacas neonatas por departamento.

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

En relación a la prevalencia de *C. parvum* en terneros con diarrea, esta puede variar de 10 – 80%. Por otro lado, se ha observado rebaños de terneros donde la criptosporidiosis se da periódicamente y hasta un 14% de los animales aparentemente sanos pueden tener *C. parvum* (Chermette y Boufassa – Ouzrout, 1988).

Actualmente se sabe que 3 especies de *Cryptosporidium* afectan a los bovinos y que no basta sólo la observación de los ooquistes para diagnosticar la especie de *Cryptosporidium* (Santín *et al.*, 2004). Asimismo, se ha observado que en alpacas neonatas existe una mayor frecuencia de criptosporidiosis en los que presentan diarrea (14.78%) *versus* los aparentemente sanos (5.55%), lo que sugiere una asociación entre los animales que presentan infección por *C. parvum* y los que desarrollan cuadros de diarrea (Fernández, 1995).

6.2. Fuentes de contagio y vías de transmisión

En mamíferos la infección es adquirida por ingestión o inhalación del ooquiste infectivo. 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).

La fuente de infección para los terneros puede ser cualquier mamífero (Sanchez *et al.*, 1991). Los terneros que tienen diarreas asociadas a *Cryptosporidium* diseminan aproximadamente 10^{10} ooquistes por gramo de heces con las deposiciones, de esta manera constituyen una fuente de infección importante para otros animales (Tzipori y Ward, 2002). En alpacas, al igual que en otros rumiantes, la fuente de infección está asociada a la época de parición. Además, las alpacas adultas también podrían ser fuente de diseminación de la enfermedad, estos actuarían como portadores asintomáticos (López, 1997), como se ha evidenciado en otras especies domésticas (Ortega-Mora y Wright, 1994; Ortega-Mora *et al.*, 1999; Acha y Szyfres, 2003).

La criptosporidiosis se transmite directamente de hospedador a hospedador, por contacto, o por contaminación indirecta en el medio ambiente a través de alimentos o agua contaminada (Mc Anulty *et al.*, 1994; Regan *et al.*, 1996). Estudios epidemiológicos han demostrado que numerosos casos de transmisión zoonótica se asocian a la presencia de mascotas en casa y animales de granja especialmente terneros (Pohjola *et al.*, 1986; Miron *et al.*, 1991). Sin embargo, en estudios recientes se ha demostrado que en humanos que padecen de criptosporidiosis, por lo general la especie responsable de la infección es *C. hominis*, especie que sólo afecta a humanos (Cama *et al.*, 2003).

La transmisión humano-humano 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 (Alpert *et al.*, 1984; Casemore, 1990, Current y García, 1991). Del mismo modo, las aguas contaminadas de piscinas (y la ingestión accidental de las mismas) resultan ser una fuente importante de infección en brotes de criptosporidiosis humana.

El agua de las piscinas se puede contaminar a pesar que no hayan sucedido accidentes fecales. Esta situación se presenta cuando el agua de las piscinas se contaminan con los pocos ooquistes que pueden estar presentes alrededor del ano de personas que padecieron la enfermedad, que ya no están con diarrea pero que siguen eliminando ooquistes (Juraneck, 2000).

6.3. Factores epidemiológicos asociados a la especie hospedadora

6.3.1. Especie hospedadora

La presencia de signos clínicos acompañando a la infección se presenta con mayor frecuencia en los rumiantes domésticos y en humanos. Por el contrario, la infección en roedores y lagomorfos sólo parece acompañarse de eliminación de ooquistes, sin alteraciones clínicas (O'Donoghue, 1995), siendo estos últimos resistentes a la enfermedad. En rumiantes domésticos la infección parece ser moderada y cursar con una baja morbilidad y mortalidad en terneros, mientras que en corderos y cabritos la criptosporidiosis puede causar en ocasiones alta morbilidad y mortalidad (Angus, 1990; Cármenes *et al.*, 1993).

6.3.2. Estado inmunitario

En la especie humana existe una clara relación entre el estado inmunitario y la evolución de la enfermedad: diarrea pasajera y eliminación de la infección en individuos inmunocompetentes, y diarrea persistente con infección crónica en individuos inmunocomprometidos (Chermette y Boufassa-Ouzrout, 1988). En rumiantes domésticos, la importancia del estado inmunitario es difícil de dilucidar con independencia de otros factores como edad (Cordero del Campillo, 1999).

6.3.3. Edad del hospedador

Los animales neonatos son más susceptibles a la infección y la aparición de resistencia animal se desarrolla con el incremento de la edad (Cordero Del Campillo, 1999; Aíslan y Gicik, 2001). Se demostró un 85% de infecciones por *C. parvum* en animales de 5 días a 2 meses y sólo un 1% en animales entre 3 a 11 meses. Esta observación es válida para *C. parvum* mas no para *C. andersoni* y *C. bovis*, que afectan a bovinos jóvenes y adultos (Santín *et al.*, 2004).

En terneros, la infección es más frecuente entre los 4 a 15 días de edad (Fayer y Ungar, 1986), y la eliminación de ooquistes se puede dar hasta los 3 meses de edad acompañado de cuadros diarreicos. La baja prevalencia de este parásito en animales menores de 4 días de edad se asocia a las características de ciclo biológico del protozoo, debido que se requieren de 2 a 4 días desde la infección hasta la eliminación del parásito en las heces (Troncoso, 1992).

6.3.4. Ingestión de calostro

Los anticuerpos calostrales producidos en respuesta a la infección natural no tienen un efecto protector frente a la infección neonatal en terneros y corderos. Sin embargo, el calostro hiperinmune producido por inmunización de las madres con altos títulos de anticuerpos específicos puede proteger, de manera parcial infecciones concomitantes, y de este modo reducir la morbilidad de la infección por *Criptosporidium* (Xiao y Herb, 1994, Cordero del Campillo, 1999). En terneros, los animales que ingieren calostro hiperinmune, eliminan menos ooquistes y tienen una diarrea menos intensa, aunque resultan receptivos a la infección (Ortega-Mora, 1996).

Algunos autores atribuyen la variación de la virulencia a la posible existencia de variaciones en la receptividad del hospedador como edad y estado inmunitario (O'Donoghue, 1995). El relajamiento inmune periparto (RIPP) de la borrega, influye positivamente en la dispersión de la enfermedad, debido a que en la primera semana post parto el número de ooquistes se incrementa de 40 a 440 ooquistes por gramo de heces, además la dinámica de IgG e IgA, no muestran cambios, y el 71% de las crías muestran la infección dentro de las 2 semanas de edad (Ortega *et al.*, 1999).

6.4. Factores epidemiológicos asociados al parásito

6.4.1. Características del ciclo biológico

Se cree que la presencia de ooquistes autoinfectivos y el reciclamiento de merontes tipo I, influyen en el ciclo biológico de *C. parvum*, haciéndolo altamente infeccioso entre los hospedadores. Esta situación explicaría el porqué un pequeño número de ooquistes infecciosos puede producir una severa infección en el hospedador (Current, 1986; Troncoso, 1992, Juranek 2000).

6.4.2. Resistencia de los ooquistes

Los ooquistes de *C. parvum*, tienen una doble pared que les permite sobrevivir en el medio ambiente y mantener su capacidad infectante durante largos periodos de tiempo. Además, resiste a la mayoría de desinfectantes utilizados en el laboratorio (Castro-Hermida *et al.*, 2006) Los ooquistes 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) son capaces de sobrevivir durante 6 a 12 semanas en el medio ambiente sin perder su poder infectivo, a una temperatura de -4 °C y 4 °C (Polack *et al.*, 1983; Olson *et al.*, 2004).

La desecación (Anderson, 1986), la congelación y una temperatura de 45 °C durante 5 a 20 minutos producen un descenso en su capacidad infectante. (Fayer *et al.*, 1991). Así también, los ooquistes pueden perder su capacidad infectante al ser destruidos a una temperatura de -20°C y por encima de 65 °C durante 30 minutos (Anderson, 1985; Moore, 1989; Xiao y Herd, 1994).

Las medidas de control higiénico sanitarias desempeñadas correctamente disminuyen la contaminación ambiental. En este sentido, las estrategias de control mediante desinfección física y química neutralizan la resistencia de este parásito. 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 (Moore, 1989; Xiao y Herd, 1994).

6.4.3. Dosis infectante y características de la cepa

La dosis infectante puede ser de un ooquiste en especies susceptibles como el humano y el cordero (Ortega-Mora, 1996, Ortega-Mora *et al.*, 1999; Tzipori y Ward, 2002). La ingestión de 10 ooquistes de este parásito es capaz de producir la enfermedad en primates (Zu *et al.*, 1992). En rumiantes neonatos se ha evidenciado que la eliminación de ooquistes puede llegar a ser de 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).

Existe variación de virulencia entre los distintos aislados de *Cryptosporidium*. Esta variación se atribuye a la posible existencia de variaciones entre cepas (Fayer *et al.*, 1985) y a variaciones en la receptividad del hospedador (edad, estado inmunitario y otros) (O'Donoghue, 1995). Además, se ha demostrado que los cryptosporidios aislados de terneros y humanos poseen mayor virulencia para infectar a otras especies hospedadoras, que los aislados de otras especies animales (Moon y Woodmansee, 1986).

Actualmente se conoce distintas especies y subespecies, que difieren en su patogenicidad (Anderson, 1982; Angus *et al.*, 1982; Cama *et al.*, 2003). En humanos, se ha observado una distribución geográfica diferente de *C. parvum* y *C. hominis*. Este último, tiene una distribución cosmopolita y es responsable de más del 50% de las infecciones humanas en diferentes partes del mundo (Gatei, *et al.*, 2003). Sin embargo, en Europa *C. parvum* es la especie predominante en individuos inmunocomprometidos e inmunocompetentes (Bonnin *et al.*, 1996; Xiao *et al.*, 2000).

6.5. Factores epidemiológicos asociados al medio ambiente

La vía oro-fecal es la principal forma de transmisión de la infección y, por lo tanto, la fuente más peligrosa de infección para un rumiante recién nacido es su compañero más próximo (Cordero del Campillo, 1999). En las explotaciones tradicionales 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 enfermedad (Cármenes *et al.*, 1993).

En alpacas neonatas también se ha observado que los factores medioambientales influyen en la presentación de la criptosporidiosis. Entre estos factores están: el uso de manejo no tecnificado, el hacinamiento existente en rebaños grandes, la deficiencia de higiene en los corrales, la carencia de rotación de pastizales y la época de parición. En el Perú, la temporada de parición se da entre los meses de diciembre a marzo, periodo en el cual se produce un gran número de nacimientos ocasionando el hacinamiento de los animales que trae como consecuencia el incremento de la presión de infección (López, 1997). 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).

7. PATOGÉNESIS

Una vez liberados los esporozoitos 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. En infecciones prolongadas estas alteraciones pueden extenderse hasta el ciego y colon en mamíferos (Chermette y Boufassa-Ouzroat, 1988)

La colonización produce atrofia parcial de las vellosidades y fusión de éstas, quedando la superficie de absorción claramente disminuida. Además, hay una reducción de las enzimas de membrana, fundamentalmente la lactasa produciendo una marcada mala absorción intestinal. Es así que el organismo del hospedador mediante la hiperplasia de las criptas, intenta sustituir las células maduras dañadas por otras células nuevas e inmaduras, cuya propiedad absorptiva y enzimática es deficiente (Muñoz *et al.*, 1993)

El acumulo de nutrientes que no son absorbidos incrementa la presión osmótica intraluminal, agravando el cuadro debido a que ello 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).

La producción de prostaglandinas a nivel de la mucosa intestinal (PGE² y PGI²) neutraliza la absorción de NaCl y estimula la secreción de Cl⁻, favoreciendo la presentación de diarrea, lo cual ha sido demostrado experimentalmente en porcinos (Argenzio *et al.*, 1990). La respuesta inmune del hospedador activa diversos mediadores de la inflamación celular (bradiquininas y prostaglandinas) lo cual incrementa la respuesta hipersecretora. Además, los polimorfonucleares podrían activar la síntesis de prostaglandinas u otros productos que estimulan la secreción (Muñoz *et al.*, 1993, Cordero del Campillo, 1999).

8. SIGNOS DE LA ENFERMEDAD

La criptosporidiosis es una enfermedad que en la mayoría de mamíferos cursa con depresión, anorexia, deshidratación, dolor abdominal fiebre y característicamente con diarrea. La diarrea suele ser profusa, de color amarillo o verdosa, de consistencia variable que puede ser pastosa, acuosa o líquida. Sin embargo, la presencia de sangre es poco frecuente. 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* spp., *Salmonella* spp. o *Clostridium perfringes*. Algunas observaciones clínicas sugieren que algunos de estos agentes etiológicos pueden actuar sinérgicamente con *Cryptosporidium parvum* para amplificar o prolongar los signos clínicos de la enfermedad (Tzipori, 1985). 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).

La diarrea se acompaña con eliminación de un gran número de ooquistes infectivos (10⁶ -10⁷ /g) y la severidad de la enfermedad depende de la competencia

inmunológica del animal hospedador. En mamíferos adultos, la mayoría de infecciones por *Cryptosporidium* cursan con infección asintomática, comportándose como una importante fuente de contaminación y de diseminación del parásito (Xiao y col., 1994; Villacorta *et al.*, 1991). Foroca *et al.*, (2001), realizó un estudio de Criptosporidiosis en crías de alpacas del centro de investigación y producción La Raya - UNA Puno. Encontrando una prevalencia de 14.02% para animales sin diarrea y 21.21% para animales con diarrea ($p < 0.05$).

En una infección experimental en alpacas neonatas con *C. parvum*, todos los animales presentaron diarrea profusa y acuosa, con una duración de 9 – 14 días, coincidiendo con la aparición de los primeros ooquistes en las heces. La consistencia de las heces fue líquida en todos los animales, con abundante mucus, color amarillo claro y con un fuerte olor ácido. Además, se observaron signos de decaimiento, elevación de la temperatura, dolor abdominal, anorexia, signos de emaciación y deshidratación, signos que coinciden con el cuadro clínico de diarrea atípica de las alpacas neonatas (López *et al.*, 2001)

En humanos 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 tiende a producir cronicidad y la pérdida de líquidos es aproximadamente de 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).

Un estudio retrospectivo realizado entre los años de 1999 y 2004 demostró que la diarrea es una enfermedad importante en alpacas y llamas neonatas, debido a que es una de las causas más frecuente de morbilidad, afectando al 23% de las crías. Se observó que la diarrea en crías menores de 7 días de edad estuvo asociada a factores alimenticios, especialmente en aquellas en que la ingestión de calostro fue inadecuada y raramente estuvo asociada a patógenos virales. Por otro lado, el estudio determinó que 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. Asimismo, concluye que la diarrea asociada a eimerias no se presenta en crías menores de 3 semanas de edad y la diarrea asociada a

parásitos gastrointestinales se presenta en crías mayores de 2 meses de edad (Whitehead y Anderson, 2006).

9. LESIONES ANATOMO E HISTOPATOLÓGICAS

En la mayoría de rumiantes neonatos que mueren por criptosporidiosis, a la necropsia se observan signos de caquexia y deshidratación. A nivel de la cavidad abdominal puede apreciarse atrofia de la grasa mesentérica e infarto de los ganglios regionales. El abomaso, habitualmente contiene leche sin digerir formando coágulos y el intestino suele estar distendido con acúmulo de gas y líquido amarillento. Las lesiones 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 lesiones (Cordero del Campillo, 1999).

Las lesiones anatomopatológicas que se observan en crías de alpacas infectadas experimentalmente con *C. parvum* son similares a las descritas para otros rumiantes. Así, se observa presencia de edema e hiperemia en los ganglios linfáticos mesentéricos. Además, casi todo el tracto intestinal, en especial el ileon, presenta congestión marcada, dilatación y presencia de líquido y gases. Al corte de las distintas porciones intestinales se observa severa alteración de la mucosa, hiperemia y presencia de abundante mucus (López *et al.*, 2001).

Los cambios histopatológicos aparecen después de 48 – 72 horas de iniciada la infección. El *C. parvum* se caracteriza por causar la disminución de la longitud de las vellosidades intestinales y fusión de las mismas mediante la formación de desmosomas. La mucosa intestinal puede evidenciar metaplasia, con células epiteliales en forma columnar baja, cuboidal y aún escamoso (O'Donoghue, 1995). Así mismo, en la lámina propia se puede observar dilatación de las criptas de Lieberkhün e infiltración de neutrófilos y células mononucleares (Foreyt, 1990).

10. DIAGNÓSTICO

La criptosporidiosis no puede ser diagnosticada sólo por los signos y síntomas. La diarrea acuosa, característica de la enfermedad, es un signo clínico de muchas enfermedades intestinales causadas por bacterias, virus o parásitos, por lo que es imprescindible recurrir al diagnóstico del agente etiológico remitiendo la muestra al laboratorio (Jokipii *et al.*, 1983; Cámenes *et al.*, 1993). Para ello pueden

utilizarse una gran variedad de técnicas tintoriales, de concentración, inmunofluorescencia directa, ensayo inmunoenzimático, u otras (García *et al.*, 1983; Pohjola *et al.*, 1985; Newman *et al.*, 1993; O'Donoghue, 1995). Actualmente no se emplea el diagnóstico histológico *in vivo* o biopsia por su carácter invasivo, de alto costo y de escasa sensibilidad (Cordero Del Campillo, 1999).

Durante el curso de la criptosporidiosis se excreta un gran número de ooquistes en las heces. Gracias a esta condición, el estudio de las heces refleja un muestreo real de todo el intestino. Las técnicas para la detección de ooquistes en muestras fecales se pueden agrupar en tres tipos; La más sencilla consiste en la tinción de extensiones de heces sobre una lámina portaobjeto, donde el ooquiste o el medio captan un color especial facilitando el diagnóstico, las técnicas de concentración, que en ocasiones se aplican junto con alguna de las técnicas de tinción y las técnicas inmunológicas (Muñoz *et al.*, 1993).

Entre las técnicas de tinción más usadas están: Giemsa, la negativa de Heine, Ziehl-Neelsen Modificado y Kinyoun carbolfucsina. La tinción o captación de fluorocromos de extensiones fecales se usa para la detección de ooquistes mediante Fenol-Auramina y la Auramina - Rodamina. La técnica de tinción de Ziehl-Neelsen Modificado (ZNM) desarrollado por Henricksen y Pohlenz (1981), se basa en las propiedades ácido-resistentes del parásito (Fig. 2). Esta técnica ha demostrado tener una alta sensibilidad (86.9%) y especificidad (100%) para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium sp.* (Weitz y Astorga, 1993), 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).

Las técnicas de concentración también se pueden utilizar para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium*. Entre las técnicas de concentración se usan la flotación con sacarosa o con cloruro de sodio y la de sedimentación con formol-éter o con PBS-etil-acetato (Cámenes *et al.* 1993). Sin embargo, existe el inconveniente del tamaño de los ooquistes que pueden pasar inadvertidos ante un ojo poco entrenado.

Dentro de las técnicas inmunológicas para la detección de ooquistes los métodos de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales o policlonales, son los que presentan una mayor sensibilidad y especificidad, siendo los que mas se utilizan

en el diagnóstico de la enfermedad en humanos (Ortega Mora, 1996). Por otro lado, existen métodos de detección de anticuerpos que no se han utilizado con frecuencia en rumiantes debido a que presentan problemas de especificidad. Entre estos están la Inmunofluorescencia Indirecta, el método de ELISA, el Western Blot, entre otras (Cordero del Campillo, 1999).

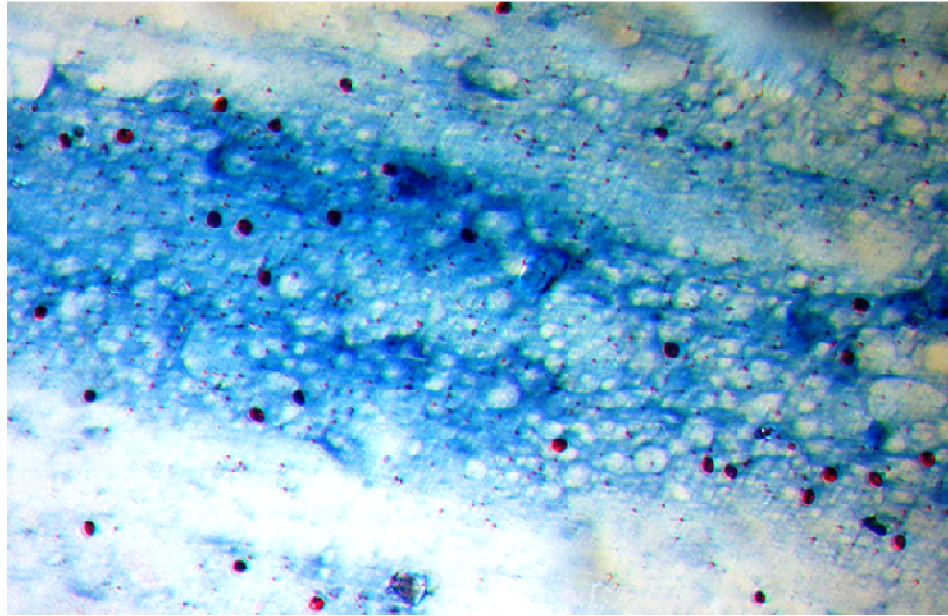


Fig 2. Microfotografía de ooquistes de *Cryptosporidium parvum*. **Técnica de ZNM, a 400**

11. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

Una amplia variedad de fármacos con actividad antimicrobiana, antihelmíntica, anticoccidial y antiprotozoaria han sido estudiados con la finalidad de hallar un tratamiento adecuado y específico contra la criptosporidiosis en animales y humanos. Sin embargo, ninguno de ellos ha mostrado resultados satisfactorios en el tratamiento de la enfermedad. En terneros, la espiramicina (20 mg/Kg. en 2 aplicaciones cada 36 horas) ha demostrado tener eficacia en el control de la diarrea causada por *C. parvum* (Gorman *et al.*, 1993).

La droga paramomicina ha mostrado eficacia en animales experimentales (Tzipori *et al.*, 1995). Esta droga ha sido ampliamente usada en pacientes VIH positivo (Clezy *et al.*, 1991; Armitage *et al.*, 1992; Bissuel *et al.*, 1994). En ovinos, un estudio reveló que la administración de paramomicina con una dosis de 200 mg/kg por día por dos días o 100 mg/kg por día por tres días consecutivos,

disminuye claramente la diarrea y la eliminación de ooquistes. Demostrando así que la paramomicina posee actividad contra el parásito (Blagburn y Soave, 1997).

La paramomicina es recomendada para el tratamiento preventivo de la criptosporidiosis en rumiantes neonatos y para la disminución de los síntomas en humanos. También ha demostrado cierta eficacia el lasalocid en ratones neonatos (6.75mg/k). Recientes estudios han demostrado la eficacia de la droga nitazoxanida contra la infección de *C. parvum* en humanos (Theodos *et al.*, 1998; Jenkins, 2004; Rossignol *et al.*, 2006).

En modelos animales, la droga nitazoxanida presenta eficacia parcial, reduce la eliminación de ooquistes pero induce la diarrea (Ramírez *et al.*, 2004). Por otro lado, 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).

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 principalmente sodio, junto con suficientes cantidades de glucosa, aminoácidos, potasio y cloruro. Además, debe ser isotónica y agradable al paladar de los animales (Cordero del Campillo, 1999). Se recomienda la restricción de productos lácteos, para evitar que la leche sin digerir llegue al intestino grueso, donde la microflora bacteriana intestinal podría producir diarrea de tipo fermentativo (Current, 1986).

En el campo, la inmunidad pasiva no protege a los terneros ni corderos contra la infección natural (Peeters *et al.*, 1992). Para controlar la enfermedad son importantes las medidas de higiene preventiva, con el objeto de destruir las formas externas del parásito y prevenir la transmisión entre animales y desde el medio ambiente al hospedador (De Graaf *et al.* 1999). Los ooquistes de *C. parvum* son altamente resistentes a la mayoría de desinfectantes, es por ello que se debe hacer una adecuada elección del desinfectante a utilizar (Fayer *et al.*, 1997).

Como primera estrategia de control de la criptosporidiosis, se debe desinfectar la zona donde viven los animales. Por otro lado, es importante separar los

animales enfermos de los sanos, instalar la zona de paridera en áreas desinfectadas y limpias, controlar, en lo posible, la humedad y temperatura del rebaño. Además, se debe evitar el contacto con animales de otras especies portadores de la enfermedad (Fayer *et al.*, 1997).

12 DISEÑO DE ESTUDIO EN LA INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

Los estudios epidemiológicos pueden ser *descriptivos*, que describen la ocurrencia del resultado o *analíticos*, que establecen relaciones y describen asociación entre las variables de exposición y resultado. Son estudios analíticos típicos: El estudio de cohorte y el de caso-control, los cuales establecen una relación causal. La causalidad requiere temporalidad, es decir, que la causa ocurra primero. La temporalidad en condiciones de campo es difícil de establecer, de ahí que se empleen diseños específicos de cohortes y caso-control.

12.1. Estudio Caso-Control

Es un estudio epidemiológico, observacional, analítico, en el que los sujetos son seleccionados en función de que tengan (casos) o no tengan (control) una determinada enfermedad, o en general un determinado efecto. Una vez seleccionados los individuos en cada grupo, se investiga si estuvieron expuestos o no a una característica de interés y se compara la proporción de expuestos en el grupo de casos frente a la del grupo de controles. Presenta las siguientes ventajas: Son útiles para estudiar eventos raros, permiten el estudio con tamaños muestrales relativamente pequeños, exigen poco tiempo en su ejecución, relativamente baratos comparados con los estudios de cohortes y proporcionan estimadores de *odds ratio* o razón de riesgo (Schlesselman, 1982; Szklo y Nieto, 2000).

12.2. Estudio Cohorte

En un estudio de Cohorte los individuos que componen los grupos de estudio se seleccionan en función a la presencia de una determinada característica o exposición. Estos individuos no tienen la enfermedad de interés y son seguidos durante un cierto periodo de tiempo para observar la frecuencia con que la enfermedad aparece en cada uno de los grupos. El objetivo de este estudio es investigar si la incidencia de un evento está relacionada a la supuesta exposición (Schlesselman, 1982; Szklo y Nieto, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Diseño de estudio

La presente tesis evaluó la presencia de *C. parvum* como factor de riesgo para la presentación de diarrea neonatal en alpacas menores de 15 días de edad de determinadas localidades de la provincia Canchis departamento de Cuzco. Para ello empleó el diseño epidemiológico de Caso-Control, con el cual se determinó la tasa de riesgo del grupo expuesto *versus* el grupo control.

2. Lugar de estudio

El presente trabajo se realizó en el departamento de Cuzco situado en la sierra sur del Perú, en la provincia de Canchis, distrito de Marangani. Se muestrearon animales de 2 localidades: *Chillihua*, en donde se muestrearon 5 sectores, entre ellos: Chiaraje, Piti, Kero Viluyo, Pampalacaya y Velacunca, y *La Raya*, en donde 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 febrero y marzo del 2006.

Estas comunidades están ubicadas en alturas iguales o superiores a los 4.300 m.s.n.m. 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).

Las zonas de muestreo tuvieron las siguientes características

a) Localidad de Chillihua

El muestreo se realizó en los siguientes 5 sectores: Chiaraje, Piti, Kero Viluyo, Pampalacaya y Velacunca. Esta localidad se caracterizó por tener una crianza tradicional y mixta, con presencia de otras especies animales como bovinos, caprinos, caninos, felinos y aves. La alimentación es a base de pasto

natural y cultivado, se realiza dos pastoreos al día, a las 8 a.m. y a las 5 p.m., y además se realiza rotación periódica de los corrales.

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.

3. Animales: 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 :	11.36% (Foroca <i>et al.</i> , 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 muestras diarrea positivo y 163 muestras diarrea negativo). Debido a la disponibilidad de animales, se colectaron 248 muestras fecales con diarrea y 231 muestras fecales de animales sanos elegidos al azar. Todas las crías de alpacas no excedieron los 15 días de edad. El cuadro 4, muestra el número de muestras fecales obtenidas en cada localidad.

Cuadro 4: Distribución del número de muestras fecales de alpacas neonatas recolectadas en las localidades de Chillihua y La Raya del distrito de Marangani provincia de Canchis – Cuzco.

LOCALIDAD	ORIGEN	REBAÑO	NÚMERO DE MUESTRAS
Chillihua	Piti	R1	9
	Chiaraje	R2	26
	Kero Viluyo	R3	30
	Velacunca	R4	34
	Pampalacaya	R5	122
La Raya	IVITA	R6	62
	UNSAAC	R7	196
		TOTAL	479

4. Recolección y conservación de las muestras

Las muestras fecales, aproximadamente de 3 gramos, fueron recolectadas directamente del recto mediante bolsas plásticas debidamente rotuladas. Se realizó la extensión de una pequeña parte de las muestras sobre láminas portaobjetos, dejándolas secar al medio ambiente. Posteriormente, se procedió a la fijación de las muestras con metanol absoluto durante 5 minutos en un vaso kopling. Adicionalmente, se conservó cada una de las muestras en una solución de Dicromato

de Potasio al 2% en una proporción de 1:1. Se empleó un contenedor especial para cada cría.

Esta forma de trabajo en campo permitió una adecuada conservación de las muestras para su posterior remisión al Laboratorio de Inmunoparasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la U.N.M.S.M. en Lima, donde se realizó la técnica de tinción de Ziehl- Neelsen modificado y la observación al microscopio.

5. Técnica de tinción para *Cryptosporidium sp.*

5.1. Tinción de Zielh – Neelsen Modificada (ZNM)

Las láminas procesadas, fueron teñidas empleando la técnica de tinción ZNM (Henricksen y Pohlenz, 1981) la cual consistió en el siguiente procedimiento: Se cubrió el frotis con fucsina básica fenicada durante 20 minutos. Luego se lavó con agua corriente y decoloró con ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 2 % durante 10 segundos agitando las láminas. Se lavó con agua corriente y se dejó secar. El frotis se contrastó 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 hizo la lectura al microscopio en 40X y 100X.

5.2. Lectura de las muestras

Todas las muestras procesadas, fueron examinadas al microscopio con objetivo de 40X. Las láminas positivas fueron evaluadas dos veces, una a 400X (Figura 2) y la segunda vez a 1000X para confirmar su diagnóstico. Se tomó en cuenta el número de ooquistes por campo y la medida de estos (largo por ancho).

5.3. Criterio de diagnóstico

Las muestras fueron consideradas positivas por la presencia de ooquistes de *C. parvum*, los cuales se visualizaron como organismos esféricos u ovalados de 4 – 6 micras de diámetro (Muñoz *et al.*, 1993; Fayer *et al.*, 2000), color rojo fucsia con algunas granulaciones oscuras en su interior, que

contrastaban con un fondo teñido de verde (Henricksen y Pohlenz, 1981; Casemore *et al.*, 1985).

6. Factores de riesgo asociados a la infección por *C. parvum*.

En el momento del muestreo se confeccionó un registro, en el cual se describió cada rebaño donde, además del número de identificación de la explotación, su localización geográfica y la fecha de muestreo, se anotaron todos aquellos datos que se consideró pudieran tener cierto interés epidemiológico, tales como edad, sexo, raza y área de procedencia de los animales.

7. Análisis de datos

La evaluación de *C. parvum* como factor de riesgo para la presentación de diarrea neonatal en alpacas se midió mediante el cálculo de estimación del riesgo (odds ratio). Para ello se empleó el modelo de regresión logística múltiple para Caso-Control, utilizando el paquete estadístico STATA versión 8.0. El riesgo calculado tuvo su respectivo intervalo de confianza al 95%. Se calculó el riesgo de diarrea asociada a criptosporidiosis ajustado a variables potencialmente confundentes como edad, sexo, raza y el lugar de origen de las alpacas muestreadas.

8. Intervalo de confianza (I.C.95%)

El intervalo de confianza para el OR fue calculado empleando la siguiente fórmula:

$$e^{\ln(OR) \pm 1.96(SE[\ln(OR)])}$$

Donde el error estándar del logaritmo neperiano del OR ($SE[\ln(OR)]$), se calcula empleando la siguiente fórmula:

$$SE[\ln(OR)] = \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}$$

IV. RESULTADOS

De las 479 muestras fecales de alpacas neonatas menores de 15 días de edad, 248 muestras eran diarreicas y 231 correspondieron a animales aparentemente sanos. De las 479 muestras, 78 resultaron positivas a *C. parvum* mediante la coloración de Ziehl Neelsen Modificado, obteniendo una frecuencia de $16.3 \pm 3.3\%$. Por otro lado, el $83.7 \pm 3.3\%$ de las muestras de alpacas analizadas fueron negativas. El cuadro 5 muestra que el $74.4 \pm 9.7\%$ (58/78) de los animales positivos a la infección por el parásito resultaron diarreicos, mientras que el $8.6 \pm 4.3\%$ (20/231) de las alpacas sin diarrea, estaban infectadas (Apéndice 2).

Cuadro 5. Distribución de alpacas neonatales diarreicas según la presencia o no de *Cryptosporidium parvum*.

<i>C. parvum</i>	Animales muestreados	PRESENCIA DE DIARREA	
		Número	Porcentaje \pm IC 95%
POSITIVO	78	58	74.4 (64.7 – 84.1)
NEGATIVO	401	190	47.4 (42.6 – 52.2)
Total	479	248	51.7 (47.3 – 56.1)

La distribución de las crías de alpacas en las 7 localidades muestreadas del departamento de Cuzco y su relación con diarrea se presentan en el cuadro 6. La localidad de Chiaraje es la que presenta mayor porcentaje de animales diarreicos por localidad, seguido por Piti, la Raya UNSAAC, Pampalacaya, Kero Viluyo, la Raya IVITA y Velacunca.

Del total de muestras colectadas, 254 pertenecieron a los machos y 225 pertenecieron a las hembras. Se encontró que el $50.4 \pm 6\%$ (128/254) de los machos y el $53.3 \pm 6.5\%$ (120/225) de las hembras presentaron diarrea al momento de la colección de las muestras (cuadro 7). Según la técnica de ZNM, el $17.3 \pm 4.6\%$ del sexo macho y el $14.6 \pm 4.6\%$ del sexo hembra fueron positivos a *C. parvum* (Apéndice 4).

Cuadro 6. Distribución de alpacas neonatales diarreicas según la localidad de origen.

ORIGEN	Animales muestreados	PRESENCIA DE DIARREA	
		Número	Porcentaje \pm IC 95%
Chiaraje	26	19	73.1 (55.9 – 90.2)
Piti	9	6	66.6 (35.9 – 97.3)
Pampalacaya	122	64	52.4 (43.6 – 61.2)
Kero Viluyo	30	14	46.6 (28.8 – 64.4)
Velacunca	34	8	23.5 (9.3 – 37.7)
UNSAAC	196	114	58.1 (51.1 – 65.1)
IVITA	62	23	37.1 (25.1 – 49.1)
Total	479	248	51.7 (47.3 – 56.1)

Cuadro 7. Distribución de alpacas neonatales diarreicas según el sexo.

SEXO	Animales muestreados	PRESENCIA DE DIARREA	
		Número	Porcentaje \pm IC 95%
MACHO	254	128	50.4 (44.4 – 56.4)
HEMBRA	225	120	53.3 (46.8 – 59.8)
Total	479	248	51.7 (47.3 – 56.1)

La distribución de las crías de acuerdo a la raza fue de la siguiente manera, 112 muestras fecales pertenecieron a la raza suri y 367 a la raza huacaya. El $58.9 \pm 9\%$ (66/112) de la raza suri y el $49.5 \pm 5\%$ (182/367) de la raza huacaya presentó diarrea neonatal (cuadro 8). El $16.9 \pm 7\%$ (19/112) de la raza suri y el $16.1 \pm 3\%$ (59/367) de la huacaya resultaron positivas a *C. parvum* (Apéndice 5).

Cuadro 8. Distribución de alpacas neonatales diarreicas según la raza.

RAZA	Animales muestreados	PRESENCIA DE DIARREA	
		Número	Porcentaje \pm IC 95%
SURI	112	66	58.9 (49.9 - 67.9)
HUACAYA	367	182	49.5 (44.5 - 54.5)
Total	479	248	51.7 (47.3 - 56.1)

De los animales sanos, se halló un 8.6% (20/231) con diagnóstico positivo a la prueba de ZNM y de los animales negativos a la prueba, se halló un 47.4% (190/401) animales diarreicos.

Mediante el estudio de Regresión Logística, se calculó el Odds Ratio o riesgo para evaluar el comportamiento de determinadas variables predictoras como: muestras positivas a ZNM, lugar de origen, edad, sexo y raza para la presentación de diarrea neonatal en alpacas. Se analizó la presentación de diarrea en alpacas neonatas *versus* la presencia del parásito ajustando a variables potencialmente confundentes (Cuadro 9).

Se determinó que la presentación de diarrea neonatal esta influenciado por la presencia del parásito en heces en 4.3 veces mas en relación a las alpacas que resultaron negativo a la prueba de ZNM ajustado por el resto de variables predictoras (OR: 4.3, I.C.95%: 2.3 - 7.9; $p < 0.05$).

Los rebaños Piti, Chiaraje, Pampalacaya y La Raya UNSAAC, presentaron significancia ($p < 0.05$) y un riesgo (OR) de 5.1; 4.4; 2.0 y 2.9 respectivamente, ajustado por el resto de variables (ver cuadro 9). Los rebaños Kero Viluyo y Velacunca, no tuvieron diferencia estadística significativa para la presentación de la misma ($p > 0.05$).

La edad, raza y sexo no mostró diferencia estadística significativa para la presentación de diarrea neonatal en las alpacas muestreadas.

Cuadro 9. Regresión logística múltiple (MLG) interacción entre las diferentes variables estudiadas *versus* la presencia de diarrea neonatal en alpacas provenientes del departamento de Cuzco.

DIARREA	OR	<i>p</i>	(I.C. 95%)
Diag. positivo a <i>C. parvum</i>	4.3	<0.001	2.3 - 7.9
Raza (a)	0.6	0.05	0.4 - 1.0
Sexo (b)	1.1	0.39	0.8 - 1.7
Edad (días)	1.0	0.37	0.9 - 1.1
Rebaño Pitti (c)	5.1	0.04	1.1 - 23.5
Rebaño Chiaraje (c)	4.4	0.008	1.5 - 13.2
Rebaño La Raya – UNSAAC (c)	2.9	0.001	1.5 - 5.6
Rebaño Pampalacaya (c)	2.0	0.04	1.1 - 4.1
Rebaño Kero Viluyo (c)	1.9	0.17	0.8 - 4.9
Rebaño Velacunca (c)	0.43	0.11	0.15 - 1.2

- (a) Raza suri y huacaya. Se tomo como referencia a la raza suri.
 (b) Sexo hembra y macho. Se tomo de referencia el sexo macho.
 (c) Se tomo de referencia el rebaño La Raya IVITA.

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó la presencia de *C. parvum* como factor de riesgo para la presentación de diarrea neonatal en alpacas del departamento de Cuzco mediante el diseño epidemiológico Caso-Control. Se determinó que la diarrea neonatal está influenciada por la presencia del parásito ajustado a variables potencialmente confundentes como edad, sexo, raza y lugar de origen. Además, no sólo se estableció asociación entre *Cryptosporidium* y diarrea en campo, que definitivamente es un primer paso importante que se tiene que dar en toda investigación epidemiológica, sino también estableció causalidad.

Los trabajos pioneros que analizaron la asociación entre presencia de *Cryptosporidium* y diarrea en alpacas neonatas (López *et al.*, 1995; Fernández, 1995; Romero, 1998), utilizaron estudios epidemiológicos transversales de tipo ecológico. Estos trabajos establecieron asociación utilizando regresión logística y produciendo Odds Ratio, al igual que el presente trabajo, pero con la diferencia que las alpacas se muestrearon empleando un muestreo sistemático al azar, vale decir, todas las alpacas neonatas que se pudieron muestrear en un tiempo dado. En esos trabajos no se buscaron diarreas, eso permitió que se analizara la prevalencia de la diarrea y de *Cryptosporidium*. Evidentemente, se pudo opinar sobre la asociación entre las variables consideradas en el muestreo y la presencia de *Cryptosporidium* o diarrea.

Los trabajos epidemiológicos transversales de tipo ecológico a pesar que son los ideales para establecer asociación, tienen una limitación, que la asociación temporal calculada no es suficiente para establecer una relación causal. La causalidad requiere, entre otras cosas, temporalidad. Vale decir, que la causa ocurra primero. La temporalidad en condiciones de campo es difícil de establecer, de ahí que se empleen diseños específicos, como cohortes y caso-control. Sin embargo, en estos casos no se puede establecer la prevalencia. Como un siguiente paso a los primeros trabajos, el presente trabajo estudio causalidad estableciendo la presencia de *Cryptosporidium* como factor de riesgo empleando un estudio de caso-control.

El resultado del OR realizado mediante la regresión logística múltiple fue de 4.3 (IC: 2.3 – 7.9). Ello evidencia que *C. parvum* representa un factor de riesgo para la presentación de diarrea en crías de alpacas menores de 15 días en el departamento de Cuzco. Así mismo, las alpacas con muestras ZNM positivo al parásito tienen 4.3 veces más la probabilidad de presentar diarrea en relación a las alpacas con muestras ZNM negativo, ajustado al resto de variables predictoras. Este riesgo es considerado relativamente alto en comparación al encontrado por López (1997) en un estudio transversal de tipo ecológico, con un OR de 2.38. Ello sugiere un riesgo potencial de infección para otros animales y personas que laboran con estos animales, debido a que éste parásito ha sido reconocido como una entidad zoonótica (Traldi y Manfredi, 1990, Acha y Szyfres, 2003).

Del total de muestras fecales, el 16.3% (78/479) resultó positivo a la prueba de ZNM. De este valor, el porcentaje de animales infectados fue superior en el grupo de alpacas neonatas diarreicas (74.4%; n=58) en comparación con el grupo de no diarreicas (25.6%; n=20). Ello evidencia que las alpacas menores de 15 días de edad con criptosporidiosis tienen predisposición a presentar diarrea neonatal. Hallazgos similares fueron presentados por Troncoso (1992), quien concluye que *C. parvum* tiene una elevada prevalencia en brotes diarreicos neonatales de ovinos, y por López (1997) en crías de alpacas.

Las variables potencialmente confundentes que se analizaron fueron edad, sexo, raza y lugar. En la variable sexo, el sexo hembra presentó un riesgo de 1.1 (0.8 – 1.7) para la presentación de diarrea neonatal en comparación al sexo macho. Sin embargo, no hubo asociación estadística ($p > 0.05$), lo que evidencia que la diarrea neonatal no tiene predilección por sexo alguno. Hallazgos similares fueron reportados en crías de alpacas (Caman, 1996; Tribeño, 1997; Ramírez, 1997) y por Moore (1989) y Kuhls *et al.*, (1994) en rumiantes (bovinos y caprinos) y niños respectivamente. La raza huacaya presentó un riesgo de 0.6 (0.4 – 1.0) para la presentación de diarrea en relación a la raza suri. Se observó que en esta asociación hay tendencia ($p = 0.05$) pero no significancia, debido a que el intervalo de confianza (95%) incluye al 1, por lo que se puede deducir que la diarrea neonatal no tiene predilección por raza alguna. La variable edad, no presentó asociación significativa, esto se podría relacionar a que del total de muestras, el 86.2% (413/479) fueron

animales de 13 a 15 días. No permitiendo un análisis adecuado de la edad ya que no hubo una distribución uniforme de la misma.

En cuanto a la variable lugar, los sectores de Piti y Chiaraje, ubicados en la localidad de Chillihua presentaron mayor riesgo para la presentación de diarrea, ajustado a las demás variables (OR=5.1; IC95% 1.1-23.5 y OR=4.4; IC95% 1.5-13.2). Este hecho podría explicarse a que en estas localidades, el tamaño de los rebaños es relativamente grande, pudiendo llegar a ser como mínimo de 100 crías con sus respectivas madres en el mismo corral, situación que predispone a la presentación de la enfermedad asociada al hacinamiento y estrés de los animales (De Graaf *et al.*, 1999). En el ganado bovino se ha observado que el tamaño del rebaño condiciona notablemente la presentación de la infección, existiendo una mayor frecuencia de presentación en los rebaños considerados grandes (Garber *et al.*, 1994). Además, rebaños con crianza mixta con otras especies animales, también favorece la presentación de la enfermedad (Bustinza, 2001).

La Raya UNSAAC y el sector de Pampalacaya, también presentaron riesgo para la presentación de diarrea (ver cuadro 9), ajustado a las variables potencialmente confundentes, ya antes mencionadas. Esto se asocia a que en ambos lugares, no se realizaba un control adecuado de la rotación de pastos. Adicionalmente en Pampalacaya el manejo era deficiente y se desarrollaba crianza mixta. Hay que mencionar que el manejo de los animales constituye un factor muy importante para la prevención y control de la enfermedad (Troncoso, 1992; De Graaf *et al.*, 1999; Olson *et al.*, 2004).

Las crías de alpacas provenientes de los rebaños Piti, Chiaraje, La Raya UNSAAC y Pampalacaya tienen mayor probabilidad de presentar diarrea neonatal en relación a las crías provenientes del rebaño de la Raya IVITA. Los rebaños, Velacunca y Kero Viluyo, no presentaron asociación estadística para la presentación de diarrea. Todo ello ajustado a las variables potencialmente confundentes ($p > 0.05$). En cuanto a la Raya IVITA, esta contaba con adecuado manejo higiénico sanitario, revisión semanal de las crías y rebaños de tamaño pequeño, evitando el hacinamiento y la presentación de la infección.

De las crías aparentemente sanas el 8.6% (20/231) resultó ZNM positivo (Apéndice 2). Estos animales se estarían comportando como portadores

asintomáticos de la enfermedad (Nagy *et al.*, 1983, Lorenzo-Lorenzo *et al.*, 1993). Este es un factor importante desde el punto de vista epidemiológico, sobre todo durante la paridera, cuando el porcentaje de animales receptivos es muy elevado, representando un peligro potencial para las crías recién nacidas (Ortega – Mora, 1996; López, 1997).

La presencia de diarrea en las crías con diagnóstico negativo a *Cryptosporidium* fue de 47.4% (190/401). Esto podría deberse a otros agentes etiológicos como bacterias (p.e. *E. coli*) y virus que cursan con este signo, (Ortega-Mora *et al.*, 1993) los cuales no fueron motivo de estudio para la presente tesis.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Que la infección por *C. parvum* representa un factor de riesgo para la presentación de diarrea en alpacas neonatas del departamento de Cuzco, ajustado a variables potencialmente confundentes.
2. Que las localidades de Piti, Chiaraje, La Raya UNSAAC y Pampalacaya, presentan riesgo para la presentación de diarrea neonatal, ajustado a variables potencialmente confundentes.
3. Se halló un 8.6% (20/231) de animales positivos aparentemente sanos, constituyéndose en portadores asintomáticos.

Se recomienda tomar medidas generales y adecuadas, destinadas a controlar la presentación de brotes diarreicos tales como: evitar los rebaños grandes controlando la sobrepoblación animal, realizar rotación adecuada de las canchas, con mayor énfasis en la época de parición y controlar, en lo posible el contacto con animales de otras especies, probables portadores de la enfermedad.

Adicionalmente, se recomienda realizar estudios epidemiológicos de diarrea causada por *C. parvum* en humanos, asociado a diarrea neonatal de alpacas en la sierra sur del Perú.

VII. LITERATURA CITADA

Acha P.; B. Szyfres. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3° Ed. Volumen III. Parasitosis. Organización Panamericana de Salud. 23 – 24p.

Aislan M.O.; Gicik, Y. 2001. Prevalence of *Cryptosporidium spp.* oocysts in diarrhoeic calves in Kars province, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 25: 161-164p.

Alpert G., L.M. Bell, C.E. Kirkpatrick, L.D. Budnick, J.M. Campos, H.M. Friedman, S. Plotkin. 1984. Cryptosporidiosis in a day-care center. *New Engl. J. Med.* 311:860-861p.

Alves M., L. Xiao, V. Lemos, L. Zhou, Cama, M.B. Da Cunha, O. Matos, F. Antunes. 2005. Occurrence and molecular characterization of *Cryptosporidium spp.* in mammals and reptiles at the Lisbon zoo. *Parasitol Res*, 97:108-112p.

Ameghino E.; J. Demartini. 1991. Mortalidad en crías de alpacas. IVITA. Lima *Martegraf*. 121-128p.

Anderson B.C. 1982. Cryptosporidiosis in Idaho lambs: natural and experimental infections. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 181: 151-153p.

Anderson B.C. 1985. Moist heat inactivation of *Cryptosporidium sp.* *Am. J. Public. Health*, 75: 1433-1434p.

Anderson B.C. 1986. Effect of drying on the infectivity of cryptosporidia-laden calf feces for 3 to 7 day-old-mice. *Am. J. Vet. Res.*, 47: 2272-2274p.

Angus K. W. 1990. Cryptosporidiosis in ruminants in: cryptosporidiosis of man and animals. Edited by Dubey J. P., Speer C. A. & Fayer R. 83-103p.

Angus K.W., W.T. Appleyard, J.D. Menzies, I. Campbell, D. Sherwood. 1982. An outbreak of diarrhea associated with cryptosporidiosis in naturally reared lambs. *Vet. Rec.*, 110: 129-130p.

Argenzio R.A., J.A. Liacos, M.L. Levy, D.J. Meuten, J.G. Leche, D.W. Powell. 1990. Villous atrophy, crypt hyperplasia, cellular infiltration, and impaired

Glucose-Na absorption in enteric cryptosporidiosis of pigs, *gastroenterology*. 98: 1129–1140p.

Armitage K., T. Fanigan, J. Carey, I. Frank, R.R. Macgregor, P. Ross, R. Goodgame, J. Turner. 1992. Treatment of cryptosporidiosis with paromomycin, a report of five cases. *Arch Intern Med*; 152: 2497-2499p.

Berg I.E. A.C. Peterson, T.P. Freeman. 1978. Ovine cryptosporidiosis. *J Am Vet Med Assoc*; 173: 1586-1587p.

Bissuel F., L. Cotte, M. Rabodonirina, P. Rougier, M.A. Piens, C. Trepo. 1994. Paromomycin: an effective treatment for cryptosporidial diarrhea in patients with AIDS. *Clin Infect Dis*. 18:447-449p.

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.

Blewett D.A., S.E. Wright, N.Z. Booth, C.E. Jones. 1993. Infective dose size studies on *Cryptosporidium parvum* using gnotobiotic lambs. *Wat. Sci. Tech.*, 27: 61-64p.

Bonnin A., M.N. Fourmaux, J.F. Dubremetz, R.G. Nelson, P. Gobet, G. Harly, M. Buisson, D. Puygauthier-Toubas, G. Gabriel-Pospisil, M. Naciri, P. Camerlynck. 1996. Genotyping human and bovine isolates of *cryptosporidium parvum* by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of a repetitive DNA sequence. *Fems Microbiol Lett.*, 137: 207-211p.

Bustinza V. 2001. La alpaca: conocimiento de gran potencial andino. Oficina de recursos del aprendizaje. Sección publicación UNA - Puno. 1° Ed. 12 – 21p.

Caccio S. M, E Pozio. 2006. Advances in the epidemiology, diagnosis and treatment of cryptosporidiosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.*; 4: 429-443p.

Caccio SM. 2005. Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis. *Parasitología*; 47(2):185-92p.

- Calderón G, Calle, R. Sam, E. Velit. 1985. Estudios preliminares de los microorganismos más comunes observados en diarreas de alpacas. V Convención Internacional sobre camélidos sudamericanos.
- Cama V. A., C. Bern, I.M. Sulaiman, R.H. Gilman, E. Ticona, A. Vivar, V. Kawai, D. Vargas, L. Zhou, L. Xiao. 2003. *Cryptosporidium* species and genotypes in HIV-positive patients in Lima, Peru. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. 531–533p.
- Caman V. 1996. Prevalencia de Criptosporidiosis en alpacas neonatas en el centro alpaquero de la SAIS-Marangani Cuzco. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima. Perú.
- Cármenes P., F.A. Rojo-Vázquez, M. Muñoz, L.M. Ortega-Mora. 1993. Gastroenteritis infecciosas y parasitarias de los corderos y cabritos. Ovis, N° 27.
- Casemore D. P. 1990. Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. *Epidemiology and Infection* 104: 1-28p.
- Casemore R., M. Armstrong, R. Sans. 1985. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J Clin Pathol*. 38: 1337-1341p.
- 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.
- Chermette R., S. Boufassa-Ouzrout. 1988. Cryptosporidiosis: a cosmopolitan disease in animals and in man. Technical series N°5. Office International Des Epizooties, 2nd Ed. Paris; 122p.
- Clavel A., A.C. Armal, E.C. Sánchez. 1996. Respiratory cryptosporidiosis: case series and review of the literature. *Infection* 24: 341-346p.
- Clezy K., J. Gold, J. Blaze, P. Jones, 1991. Paromomycin for the treatment of cryptosporidial diarrhoea in AIDS patients. *AIDS* 5, 1146–1147p.
- 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.

Cordero Del Campillo M. 1999. Parasitología Veterinaria. 1° Ed. *Editorial Mcgraw-Hill*. 213 – 219p.

Current W. L., L.S. Garcia. 1991. Cryptosporidiosis. *Clinical Microbiology Reviews* 4: 325-358p.

Current W. L. 1986. Cryptosporidium: its biology and potencial for environmental transmission. *Cri. Rev. Environment. Control*. 17: 21-31p.

Current W. L. 1988. The biology of *Cryptosporidium*. *Asm News*. 54 (11): 605-611p.

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*. 1269-1287p.

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.

Fayer R, C.A. Speer, J.P. Dubey. 1997. The general biology of *Cryptosporidium*. In R. Fayer Ed. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. *Crc Press*. 41p.

Fayer R., L. Urgan. 1986. *Cryptosporidium* spp. and Cryptosporidiosis. *Microbiol Reviews*; 50 (4): 458 – 483p.

Fayer R., M. Santín, L. Xiao. 2005. *Cryptosporidium bovis* N. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *J. Parasitol.*, 91(3), 2005, 624–629p.

Fayer R., R.G. Miller, R.G. Leek. 1985. Factors contributing to clinical illness in calves experimentally infected with a bovine isolates of *cryptosporidium*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash* .52: 64-70p.

Fayer R., T. Nerad, W. Rall, D.S. Lindsay, B.L. Blagburn. 1991. Studies on cryopreservation on *Cryptosporidium parvum*. *J. Parasitol.*, 77: 357 – 361p.

Fayer R., U. Morgan, S. Upton. 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int J Parasitol*. 30: 1305-1322p.

Fernandez AJ, J. Pohlenz, M.A. Sierra, A. Jover. 1998. Cryptosporidiosis. *Med Vet* 5 (12): 615-628p.

Fernández M. 1995. Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatas del centro experimental La Raya, Cuzco. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.

Foreyt W. 1990. Coccidiosis and cryptosporidiosis in sheep and goats. *Vet Clin of Nor. Am: Food Animal Practice*; 6 (3): 655-70p.

Foroca D., V. Zanabria, J. Málaga, F. Vilca. 2001. Cryptosporidiosis en alpacas crías del centro de investigación y producción La Raya-UNA.- Puno. *Fac Med Vet y Zootecnia*. Puno, Perú.

Garber L.P., M.D. Salman, H.S. Hurd, J.L. Schlater. 1994. Potential risk factors for *cryptosporidium* infection in dairy calves. *J Am Vet Med Assoc*, 205p.

García L.S., D.A. Bruckner, T.C. Brewer, R.Y. Shimizu. 1983. The techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocyst from stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* 18: 185-190p.

Gatei W., J. Greensill, R.W. Ashford, L.E. Cuevas, C.M. Parry, N.A. Cunliffe, N.J. Beeching, C.A. Hart. 2003. Molecular analysis of the 18s rRNA gene of *Cryptosporidium* parasites from patients with or without human immunodeficiency virus infections living in Kenya, Malawi, Brasil, the United Kingdom, and Vietnam. *J. Clin. Microbiol.* 41:1458-1462p.

Gorman Gt, Mandry P, Morales M. A. 1993. Empleo de la espiramicina en el tratamiento de la diarrea en terneros infectados con *Cryptosporidium parvum*. *Parasitología al Día*; 17: 93-8p.

Guerrero C, H. Bazalar, G. Leguía. 1970. Coccidiosis en rumiantes. *Bol Ext IVITA.* 4: 305 – 305p.

Henricksen S. A., J.F.L. Pohlenz. 1981. Staining of *Cryptosporidium* by a Modified Ziehl-Neelsen technique. *Act. Vet. Scand*; 22:594-596p.

Hill B.D., 1989. The pathobiology and immunology of cryptosporidiosis. Tesis Doctoral. Faculty of Veterinaria Medicine University Edimburgh.

- Holland R.E. 1990. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clin Microbiol Rev.* 10: 345-375p.
- INEI., 1995. Tercer Censo Nacional Agropecuario. Dirección técnica de censos y encuestas. Lima – Perú. 10 (4): 231 – 235p.
- Iseki M, 1979. *Cryptosporidium felis* sp. Protozoa: Eimeriorina from the domestic cat. *Jap J Parasit*; 28 (5): 285 – 307p.
- Janoff E.N., L.B. Reller. 1987. *Cryptosporidium* species, a protean protozoan. *J Clin Microbiol.* 25 (6): 976 – 975p.
- Jenkins M. C. 2004. Present and future control of cryptosporidiosis in humans and animals. *Expert Rev Vaccines*; 3(6):669-71p.
- Jokipii L., S.A. Pohjola, A.M. Jokipii. 1983. *Cryptosporidium*: A frequent finding in patients with gastrointestinal symptoms. *Lancet.* 2: 358-361p.
- Juranek D.D. 2000. Cryptosporidiosis en Strickland, G.T. Tropical medicine and emerging diseases. Ed. Saunders Company, 8^{va} Ed., Philadelphia, 1192p.
- Kosek M., C. Alcantara, A. M. Lima, R. L. Guerrant. 2001. Cryptosporidiosis: an update. *Lancet Inf Dis.* 1: 262 – 269p.
- Kuhls T. L., D.A. Moiser, D.L. Crawford, J. Griffis. 1994. Seroprevalencia of cryptosporidial antibodies during infance, childhood and adolescence. *Clin Infect Dis.*; 18(5): 731 – 735p.
- López T. 1997. Estudio epidemiológico de la cryptosporidiosis en alpacas neonatas. Tesis Doctoral Univ. de León. España.
- López T.; A. Gonzáles, F. Rojo-Vázquez. 2001. Infección experimental de alpacas neonatas con *Cryptosporidium parvum*. *Rev Acad Per Cien Vet.* 6:22 – 627p.
- Lorenzo- Lorenzo. M., E. Ares, I. Villacorta. 1993. Detection of oocyst and Ig. G. antibodies to *Cryptosporidium parvum* in asymptomatic adults'cattle. *Vet. Parasitol.* 47 (1-2): 9-15p.

- Majewska A.C., P. Sulima, A. Werner, G. Baralkiewicz, J. Juszczak, N.J. Pieniazek. 1999. Cryptosporidiosis in HIV-positive Patients. *Wiad Parazytol*; 45(2):125-8p.
- 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.
- Mc Anulty J.M., D.W. Fleming, A.H. Gonzalez. 1994. A community-wide outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming at a wave pool. *J. Amer. Med. Assoc.* 272:1597-1600p.
- Meisel J L, D.R. Perera, C. Meligro, C. Rubrin. 1976. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in a immunosuppressed patient. *gastroenterology*; 70:156-160p.
- Miron D., J. Kenes, R. Dagan, R. 1991. Calves as a source of an outbreak of cryptosporidiosis among young children in an agricultural closed community. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 10:438-491p.
- Moon H. W., D.B. Woodmansee. 1986. Cryptosporidiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 189: 643-646p.
- Moore D. A. 1989. Minimizing morbidity and mortality from cryptosporidiosis. symposium on neonatal calf diarrhea. *Vet. Med.* 8: 811-15p.
- Morales B. 1996. Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatas en el departamento de Puno. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.
- Moro M. La Alpaca. 1971. Enfermedades infecciosas y parasitarias. Bol Div; IVITA, Lima, (8): 9 – 37p.
- Muñoz F. M., L.M. Ortega Mora, D.P. Carmenes. 1993. Tratado de patología y producción ovina: gastroenteritis infecciosa y parasitaria de los corderos y cabritos. *Ovis.* 27: 76-86p.

- Nagy B, G. Nagy, V. Palfi, M. Bozso. 1983. Ocurrente of cryptosporidia, rotaviruses, coronavirus – like particles and K99+ Escherichia coli in goat kids and lambs. Proc. 13th. Int. Symp World Assoc Vet Lab Diagnost; 6: 531p.
- Newman R., K. Jaeger, T. Wuhib, A.A.M. Lima, R.L. Guerrant, C.L. Sears. 1993. Evaluation of an antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* oocyst. *J. Clin. Microbiol.* 2080-2084p.
- Nichols R. A., B.M. Campbell, H.V Smith. 2006. Molecular fingerprinting of *Cryptosporidium* oocysts isolated during water monitoring. *Appl Environ Microbiol*, 72(8):5428-5435p.
- Nime F A, J.D. Burek, D.N. Page, M.A. Holscher, J.H. Yardley. 1976. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*. 70: 592-689p.
- O'Donoghue P.J. 1995. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int. J. Parasitol*, 25: 139-195p.
- O'handley RM, M.E. Olson. 2006. Giardiasis and cryptosporidiosis in ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 22(3):623-643p.
- Olson M., R. O'Handley. 2004 Update on *Cryptosporidium* and Giardia infections in cattle. *Trends In Parasitology*. 20: 4. 185 – 191p.
- Ortega-Mora L. M. 1996. Biología, epidemiología y control de la cryptosporidiosis. Res XIII Cong Nac Cienc Vet Lima – Perú. 170 – 176p.
- Ortega-Mora L., S. Wright. 1994. Age-related resistance in ovine Cryptosporidiosis: patterns of infection and humoral immune response. *Infec Imm*; 62 (11): 5003 – 5009p.
- Ortega-Mora L.M., J.M. Troncoso, F.A. Rojo-Vázquez, M. Gómez- Bautista. 1993. Serum antibody response in lambs naturally and experimentally infected with *Cryptosporidium parvum*. *Vet. Parasitol*, 50: 45-54p.
- Ortega-Mora L.M., M. Gomez, F. Rojo-Vásquez. 1999. Criptosporidiosis en parasitología veterinaria. Editor M. Cordero Del Campillo y M. Rojo. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. Madrid. 213-221p.

- Ortiz S. 1988. Evaluación de algunos métodos de control de la mortalidad en crías de alpacas (*Lama Pacos*) en explotaciones familiares. Tesis Médico Veterinario. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima. 71p.
- Palacios E. C., C.R. Perales, C.A. Chavera, U.T. López. 2005. Caracterización anátomo-histopatológica de enteropatías causantes de mortalidad en crías de alpaca. Rev. Investig. Vet. Perú V.16 N.1 Lima- Perú.
- Peeters J. E., L. Villacorta, E. Vanopdenbosch. 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- 2316p.
- Pohjola S., A.M. Jokipii, L. Jokipii. 1986. Sporadic cryptosporidiosis in a rural population is asymptomatic and associated with contact to cattle. Acta Veterinaria Scandinavica. 27: 80-90p.
- Pohjola S., L. Jokipii, A.M. Jokipii. 1985. Dimethylsulphoxide-Ziehl-Neelsen staining technique for detection of criptosporidial oocyst. *Vet. Rec.*, 115: 442-443p.
- Polack B., R. Chermette, M. Savey, J. Bussieras. 1983. Les Cryptosporidies en France. Techniques usuelles d'identification et resultats préliminaires d'enquêtes epidemiologiques. *Point Vet*; 15 (71): 41 – 46p.
- Quilez, J., C. Sanchez-Acedo, A. Clavel, E. Cacho, F. Lopez-Bernad. 1996. Prevalence of *Cryptosporidium* infections in pigs in Aragon (Northeastern Spain). *Vet. Parasitol.* 67 (1-2), 83-88p.
- Ramirez A., D. Huaman, R. Ellis. 1985. Enterotoxemia de la alpaca. INIPA – Prog. Colab. Apoyo Invest. rumiantes menores Colorado State University. Lima – Perú. 7 – 18p.
- Ramirez G. 1997. Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatales de la provincia de Lucanas – Ayacucho. Tesis Bachillerato. Fac Med Vet. UNMSM. Lima, Perú.

- Ramirez N.E.; L.A. Ward; S. Sreevatsan. 2004. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes infect.* 6: 773-785p.
- Regan J., R. Mcvay, M. Mcevoy, J. Gilbert, R. Hughes, T. Tougaw, E. Parker, W. Crawford, J. Johnson, J.B. Rose, S. Boutros, S. Roush, T. Belcuore, C. Rains, J. Munden, L. Stark, E. Hartwig, M. Pawlowicz, R. Hammond, D. Windham, R. Hopkins. 1996. Outbreak of cryptosporidiosis at a day camp. *Morbid. Mortal. Week. Rep.* 45:442 – 444p.
- Rojas C. M., A.I. Lobato, V.M. Montalvo. 1988. *Cryptosporidium* en camélidos sudamericanos. XI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias Lima-Perú; Abs. F 2.6.
- Rojas M. 2004. Nosoparasitosis en los rumiantes domésticos peruanos. 2° Ed. Lima Perú. 120 – 123p.
- Romero M. 1998. Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatales de la sierra central peruana. Tesis Maestría. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.
- Rossignol J.F., S.M. Kabil, Y. El-Gohary, A.M. Younis. 2006. Effect of nitazoxanide in diarrhea and enteritis caused by *Cryptosporidium* species. *Clin Gastroenterol Hepatol*; 4(3):320 - 324p.
- Rothman K, S. Greenland. 1998. Modern Epidemiology. *Lippincott–Raven*. 93-114p.
- Ryan K.J. 1994. An introduction to infectious diseases. *Sherries Medical Microbiology*: 3rd Ed. Norwalk, Connecticut: Appleton & Lange.
- Sánchez A., Z. Fleta, T. Iclavel. 1991. Criptosporidiosis en el ganado porcino. Estudio epidemiológico. Universidad de Zaragoza España. *Anaporce*. 98: 4 – 12p.
- Santin M., M. James, L. Trout, L. Xiao, L. Zhou, E. Greiner, R. Fayer. 2004. Prevalence and Age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Veterinary Parasitology* 122: 103-117p.

- Schlesselman J.J. 1982. Case-control studies. *Oxford University Press*. Inc. 7-26p.
- Sreter T., I. Varga. 2000. Cryptosporidiosis in birds. Review. *Vet Parasitol.* 1; 87(4):261-279p.
- Stephen H. G., R. Person. 2001. Principles and practice of clinical parasitology. 1° Ed. John Wiley & Sons, Ltd. 139 – 147p.
- Szklo M., J. Nieto. 2000. Epidemiology beyond the basic. Ed. Aspen Publication. Maryland. 28-29p.
- Theodos C.M., J.K. Griffiths, J. D'onfro, A. Fairfield, S. Tzipori. 1998. Efficacy of nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in cell culture and in animal models. *Antimicrob Agents Chemother.* 42:1959-1965p.
- Traldi G., M.T. Manfredi. 1990. La diarrea neonatal de los terneros. *Ins Patol Gen Vet*; 6: 110 – 116p.
- Tribeño D. 1997. Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatas de Caylloma-Arequipa. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.
- 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.
- Trotz-Williams LA, B.D. Jarvie, S.W. Martin, K.E. Leslie, A.S. Peregrine. 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.
- Tyzzar E. E. 1907. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proc. Soc. Exp. Boil. Med.*, 5: 12 – 13p.
- Tzipori S. 1985. The relative importance of enteric pathogens affecting neonates of domestic animals. *Advances in veterinary science and comparative medicine* 29: 103-206p.
- Tzipori S. 1988. Cryptosporidiosis in perspective. *Advances in Parasitology*, 27: 67-128p.

Tzipori S., H. Ward, 2002. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. *Microbes Infect*; 4: 1047-1058p.

Tzipori S., K.W. Angus, F.W. Gray, I. Campbell, F. Allan. 1981. Diarrhea in lambs experimentally infected with *Cryptosporidium* isolated from calves. *Am. J. Vet. Res*, 42: 1400-1414p.

Tzipori S., M. Smith, C. Halpin, K.W. Angus, D. Sherwood, I. Campbell. 1983. Experimental cryptosporidiosis in calves clinical manifestations and pathological findings. *Vet. Rec.* 112: 116-120p.

Tzipori S., W. Rand, C. Theodos. 1995. Evaluation of a two – phase scid mouse model preconditioned with anti-interferon-G Monoclonal Antibody for drug testing against *Cryptosporidium parvum*. *Journal of Infectious Disease* 172: 1160-1164p.

Upton S.J., W.L. Current. 1985. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. *Int J Parasitol.* 71:625-629p.

Villacorta M.I., M.E. Ares, M.J. Lorenzo. 1991. *Cryptosporidium parvum* in cattle, sheep and pigs in Galicia (N.W. Spain). *Vet. Parasitol.*, 38: 249 – 252p.

Vitovec J., B. Koudela. 1992. Pathogenesis at intestinal cryptosporidiosis in conventional and gnotobiotic piglets. Institute of parasitology Czechoslovak. *Vet Parasitol*; 43: 25 – 36p

Wanda S. 1996. Prevalencia de *Cryptosporidium parvum* en alpacas neonatas en la Unidad de producción de Cochascas de La SAIS Tupac Amarú. Tesis Bachillerato. Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima, Perú.

Weitz J. C., B. Astorga. 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.

Whitehead C. E., D.E. Anderson. 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.

Xiao L, I.M. Sulaiman, U.M. Ryan, L. Zhou, E.R. Atwill, M.L. Tischler, X. Zhang, R. Fayer, A.A. Lal. 2002. Host adaptation and host-parasite co-evolution in *Cryptosporidium*: implications for taxonomy and public health. *Int J Parasitol.* 19; 32(14):1773-85p.

Xiao L, R. Fayer, U. Ryan, S.J. Upton. 2004. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev.* 17(1):72-97p.

Xiao L., R. Herd. 1994. Review of equine *Cryptosporidium* infection. *Equine Vet. J.* 26(1); 9-13p.

Xiao L., U.M. Morgan, R. Fayer, R.C. Thompson, A.A. Lal. 2000. *Cryptosporidium* systematic and implications for public health. *Parasitol. Today* 16: 287-292p.

Zu S.X., G.D. Fang, R. Fayer, R.L. Guerrant. 1992. Cryptosporidiosis: pathogenesis and immunology. *Parasitol Today*; 8(1): 24 – 27p.

APÉNDICE

Apéndice 1. Reactivos utilizados para la técnica de Ziehl-Neelsen Modificado (ZNM)

1. FUCSINA BÁSICA FENICADA

Se disolvió 8 g. de fucsina en 345 ml. de agua destilada caliente. A esta solución se le agregó 30 ml. de fenol puro y se homogenizó. Posteriormente se agregó 40 ml de alcohol de 96°. Finalmente se obtuvo 415 ml. de Fucsina Básica fenicada. Antes de usar fue filtrada dos veces a través de papel Whatman N° 1.

2. VERDE MALAQUITA

Se disolvió 5 g. de verde malaquita en 100 ml. de agua destilada fría. Posteriormente se probó en una lámina patrón.

3. ÁCIDO SULFÚRICO AL 2%

Se diluyó 20 ml. de ácido sulfúrico en 980 ml de agua destilada.

Los colorantes se probaron con una lámina patrón, la cual tenía una muestra positiva.

Apéndice 2. Distribución de muestras positivas a *C. parvum* según tipo de heces.

HECES	Animales muestreados	POSITIVO A <i>C. parvum</i>	
		Número	Porcentaje \pm IC 95%
SANAS	231	20	8.6 \pm 4.3
DIARREICAS	248	58	23.4 \pm 5.2
Total	479	78	16.3 \pm 3.3

Apéndice 3. Distribución de muestras positivas a *C. parvum* según lugar de origen.

ORIGEN	Animales muestreados	POSITIVO A <i>C. parvum</i>	
		Número	Porcentaje \pm IC 95%
Chiaraje	26	4	15.4 \pm 13.8
Piti	9	1	11.1 \pm 20.5
Kero Viluyo	30	1	3.3 \pm 16.8
Velacunca	34	8	23.5 \pm 14.3
Pampalacaya	122	19	15.5 \pm 6.4
UNSAAC	196	28	14.3 \pm 4.8
IVITA	62	17	27.4 \pm 11.1
Total	479	78	16.3 \pm 3.3

Apéndice 4. Distribución de muestras positivas a *C. parvum* según sexo.

SEXO	Animales muestreados	POSITIVO A <i>C. parvum</i>	
		Número	Porcentaje \pm IC 95%
MACHO	254	44	17.3 \pm 4.6
HEMBRA	225	33	14.6 \pm 4.6
Total	479	78	16.3 \pm 3.3

Apéndice 5. Distribución de muestras positivas a *C. parvum* según raza.

RAZA	Animales muestreados	POSITIVO A <i>C. parvum</i>	
		Número	Porcentaje \pm IC 95%
SURI	112	19	16.9 \pm 7.0
HUACAYA	367	59	16.1 \pm 3.7
Total	479	78	16.3 \pm 3.3