



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

**PRESENCIA DE *Cryptosporidium sp.* EN HECES DEL MONO FRAILE
(*Saimiri spp.*) PROCEDENTES DE TRES ZOOLOGICOS DEL PERÚ.**

Tesis para optar el Título Profesional de
MÉDICO VETERINARIO

MARÍA ESMERALDA TORRES RAMÍREZ
Bachiller en Medicina Veterinaria

LIMA-PERÚ

2014

Dedico éste trabajo de investigación a:

Wilfredo y Nidia, mis adorados padres, quienes no dudaron en mi capacidad para llegar a ser profesional y siempre estuvieron cuando más los necesité en éste arduo y bello camino, recordándome ante todo que, la presencia de nuestro Padre Celestial es la fuerza que nos impulsa a lograr nuestras metas; gracias por estar junto a mi.

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer en primer lugar a Dios, por brindarme la dicha de vivir, la presencia de mis padres, abuelos, tíos, primos y demás seres queridos; por guiar mis pasos hacia un sendero mejor y nunca abandonarme en este caminar.

A mis padres, quienes confiaron en mi capacidad para ser profesional, apoyándome en mis decisiones e inculcándome lecciones valiosas de vida.

A mis abuelitas Alina e Isabel, que siempre estuvieron y estarán junto a mí inculcándome valores de respeto a Dios y a mis padres.

A mis amigas Grethel Gonzales y Diana Yupe, a quienes estimo mucho y con quienes compartí hermosas experiencias durante mi desarrollo profesional.

A la Dra. Nidia Puray Chávez, mi directora de tesis, por su sabiduría, orientación y valioso tiempo al servicio de la elaboración y culminación de mi tesis.

A la Dra. Lyana Quispe, Lic. Deyli Díaz y Sra. Rina Torres, por sus valiosos consejos y apoyo desinteresado en el campo de su competencia.

A la Dra. Eva Chomba, Dra. Milagros Ramos, Dr. Édgar Álvarez y Dr. Fernando Tapia; porque permitieron que pudiera realizar el estudio de investigación en sus respectivas Instituciones.

A todos los docentes de mi alma mater “Alas Peruanas”, por su sabiduría y paciencia para impartir sus conocimientos en el campo de la Medicina Veterinaria.

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo determinar la presencia del *Cryptosporidium sp.* en heces del mono fraile (*Saimiri spp.*). El estudio se realizó en tres zoológicos del Perú; siendo dos de ellos en el departamento de Lima y el tercero en el departamento de Ucayali, entre los meses de marzo a octubre de 2012. Se recolectaron un total de 27 muestras de heces procedentes de monos *Saimiri spp.* del área de exhibición. De las 27 muestras procesadas con el Método de Ziehl Neelsen modificada, se obtuvo 5 muestras positivas a *Cryptosporidium sp.* (18,5%). En el Parque Ecológico "Santa Rosa de Lima" se detectó un 25% (3/12), en el Parque Zoológico Natural de Pucallpa un 22% (2/9) y el Zoológico de la Institución Educativa "El Buen Pastor" un 0% (0/6). Se concluye que la presencia de *Cryptosporidium sp.* en heces de mono fraile (*Saimiri spp.*) fue positiva.

PALABRAS CLAVE: protozoos, parásitos, *Cryptosporidium*, *Saimiri*, tinción.

ABSTRACT

The aim of this research is to determine the presence of *Cryptosporidium* sp. in the faeces of the *Saimiri* spp. The study was done in three zoos in Peru; two of them were located in Lima and the other one was located in Ucayali, The research was done from march to october (2012). During the research 27 samples of the *Saimiri* spp. faeces were collected, all the samples were processed with the modified Ziehl Neelsen stain and only 5 of these samples turned out to be positive to *Cryptosporidium* sp. (18.5 %). At "Santa Rosa de Lima" Eco - Park found a 25% (3/12); The Pucallpa's Natural Park Zoo a 22% (2/9); and the School Zoo "El Buen Pastor" found a 0%. To sum up, it is concluded that the presence of *Cryptosporidium* sp. in feces monk monkey (*Saimiri* spp.) was positive.

KEY WORDS: protozoan, parasites, *Cryptosporidium*, *Saimiri*, tincture.

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	3
MATERIALES Y MÉTODOS	21
RESULTADOS	24
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	29
RECOMENDACIONES	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	37

I. INTRODUCCIÓN

La disminución de bosques ha incrementado la importancia de establecer centros de conservación y reproducción para algunos animales en peligro de extinción. Los centros de custodia como los zoológicos, cumplen la importante función de exhibir animales como una fuente educativa, además de contribuir a la preservación de especies en peligro extinción y al desarrollo de la investigación científica acerca del comportamiento animal, reproducción, nutrición y anatomía.

Los zoológicos aplican la medicina preventiva monitoreada por el médico veterinario que permite anticipar y evitar posibles enfermedades, ya que el cuidado y manejo de cualquier grupo de animales se basa en la premisa de evitar que se enfermen siempre que sea posible. Por esta razón, los programas de medicina preventiva son parte esencial en el manejo de zoológicos, lo que incluyen procedimientos como: exámenes físicos, exámenes de materia fecal, entre otros, y la protección hacia determinadas enfermedades mediante vacunaciones y desparasitaciones.

La relación parásito-hospedero ha actuado siempre como una importante fuerza de selección, la cual ha afectado la densidad y distribución de las especies. La presencia de ectoparásitos y endoparásitos es común en los primates en vida libre y en cautiverio. Además, la cercanía filogenética entre los primates y el hombre permiten la transmisión de infecciones, ya sea por contacto directo con los cuidadores o público visitante.

Así mismo, las condiciones en cautiverio hacen más susceptibles a los primates que pueden padecer cualquier proceso infeccioso debido a que generalmente

viven en grupos sociales cerrados, manteniendo un estado de estrés, en altas densidades, bajo un ambiente y dieta diferente de los naturales. Además, en estas especies existe un alto grado de consanguinidad común en pequeñas poblaciones de animales; que posibilitan la transmisión de agentes infecciosos, y la mala higiene de las instalaciones, los alimentos contaminados, cambios climáticos, predisponen la presencia y propagación de parásitos. Entre los parásitos más importantes en salud pública tenemos: *Strongyloides*, *Cryptosporidium* y *Giardia*.

La infección por *Cryptosporidium sp.* ocurre con la ingestión de ooquistes infectivos vía fecal-oral, asociada con el consumo de agua y alimentos contaminados entre otros. En el desarrollo de la enfermedad influye la exposición previa al microorganismo y el estado inmunológico del sujeto infectado. *Cryptosporidium sp.* causa diarrea aguda y severa pero autolimitante en hospedadores inmunocompetentes, mientras que en pacientes inmunocomprometidos el parásito causa una enfermedad crónica y progresiva presentando una diarrea tipo secretoria.

La presente tesis tuvo como objetivo determinar la presencia del *Cryptosporidium sp.* en heces del mono fraile (*Saimiri spp.*) procedentes de tres zoológicos en Perú.

II. MARCO TEÓRICO

1. Etiología y Taxonomía

1.1. Etiología

En sus inicios la clasificación de las especies de *Cryptosporidium sp.* se basó en el hallazgo del parásito en el hospedero. Posteriormente estudios invalidaron ésta clasificación por existir transmisión entre especies y actualmente la clasificación se basa por técnicas moleculares. En éste sentido, la evolución del *Cryptosporidium sp.* es importante para clasificar la especie y también para ver la significancia del parásito en salud pública (1).

1.2. Taxonomía

Phylum : Apicomplexa
Clase : Sporozoa
Subclase : Coccidia
Orden : Eucoccidiida
Suborden : Eimeriina
Familia : Cryptosporidiidae
Género : *Cryptosporidium* (2).

Actualmente presenta 18 especies y alrededor de 40 genotipos de *Cryptosporidium sp.* que han sido descritos en las últimas décadas. De manera característica, este género presenta una gran dificultad en la identificación de sus

especies, por lo tanto se considera la biología molecular para identificar las especies y genotipos (3).

En base a la especificidad del hospedero, morfología de los ooquistes y lugar de infección se consideran válidas seis especies dentro del género: *C. nesorum* (peces), *C. serpentis* (reptiles), *C. meleagridis* (intestino de aves), *C. baileyi* (tráquea, bolsa de Fabricio y cloaca de aves), *C. muris* (estómago de mamíferos) y *C. parvum* (intestino de mamíferos) (2).

2. Características morfológicas

Son coccidios minúsculos, los ooquistes tienen un diámetro de 4,5 - 5,9 μm , contiene en su interior 4 esporozoítos periféricos y un cuerpo residual central, el ooquiste presenta una pared que puede ser fina o gruesa. La pared está compuesta por tres capas visibles al microscopio electrónico, la capa externa de 5 nm de espesor que presenta abundante material filamentoso y glicoproteínas ácidas; está separada por 5 nm de distancia de una capa central rígida y electrodensa de 10 nm de espesor, la capa interna de composición glicoproteica presenta 20 nm de espesor. En su interior se encuentran una vacuola lipídica característica, inclusiones proteicas, ribosomas, citomembranas y gránulos de amilopectina, los que proveen nutrición a los esporozoítos (Ver anexo 1) (4).

El esporozoíto es alargado, con forma de coma, con el extremo apical afinado y el posterior redondeado. Los microtúbulos, situados lateralmente por debajo de la membrana plasmática unidos al anillo polar, recorren el cuerpo del esporozoíto desde el ápice hacia su parte media. Ellos permiten su desplazamiento y actúan durante el proceso de invasión (5).

En el extremo anterior del esporozoíto se presenta el complejo apical, compuesto por organelas secretorias (roptrias, micronemas, gránulos densos) y componentes

no vesiculares (conoide y microtúbulos subpeliculares). Las roptrias y los micronemas permiten al zoíto adherirse e invadir la célula hospedadora e inducirla a envolver al parásito en la vacuola parasitófora. Las roptrias son organelas con forma de maza, cuyo contenido se descarga durante la internalización del parásito (6).

Los micronemas participan en el reconocimiento de la célula hospedadora, la motilidad y la adherencia mediada por el receptor. Los gránulos densos presentan proteínas que se asocian con la vacuola parasitófora o con estructuras vacuolares luego de su exocitosis. En el extremo posterior del esporozoíto se sitúa el núcleo, y próximo a él, se ubica una organela semejante a una mitocondria (7).

3. Transmisión

El principal mecanismo de transmisión es la vía oral-fecal, ya que los ooquistes son encontrados exclusivamente en las heces. La transmisión también puede ocurrir a través del contacto directo o indirecto con heces contaminadas. Un ejemplo del directo puede ser durante contacto sexual; y la transmisión indirecta puede ocurrir mediante la exposición de la materia fecal contaminando el agua y alimentos. (1).

4. Ciclo de vida

El ciclo biológico de este protozoario es similar al de otros coccidios, con etapas asexuales y sexuales para culminar con la formación de ooquiste del *Cryptosporidium sp.*, elemento infectante de esta parasitosis (8, 9).

Se inicia con la ingestión de los ooquistes y la liberación de los esporozoitos una vez llegados al intestino. Una vez libres, los esporozoitos penetran en las células enteroepiteliales, pasando a su citoplasma superficial englobados por la

membrana plasmática de la misma, que les rodea y aísla del citoplasma formando la vacuola parasitófora. Inician allí un primer ciclo merogónico que da origen a 6-8 merozoítos que, por rotura de la célula hospedadora, quedan libres en la luz del intestino y, penetrando en nuevas células enteroepiteliales, inician un segundo ciclo merogónico (meronte II) que se diferencia del anterior por dar origen cada meronte a tan solo 4 merozoítos (8, 9).

A partir de las formas resultantes del mismo, y tras invadir éstas a nuevas células, tiene ya lugar el ciclo gamogónico, donde ocurre la reproducción sexual con micro y macrogametos. Los microgamontes dan cada uno origen a 14-16 microgametos flagelados que quedan libres y pasan a fecundar a los macrogametos alojados todavía en otros enterocitos. Una vez realizada la fecundación, se forma la cubierta ooquistica alrededor de los cigotos, dando lugar a dos tipos de ooquistes, ambos conteniendo 4 esporozoitos al madurar, ésta fase de reproducción abarca unas 12-24 horas (8, 9).

Uno de estos ooquistes, dotados de gruesa pared, arrastrados por el contenido intestinal y evacuados al exterior con la defecación, tendrán a su cargo la infección de nuevos hospedadores por vía oral, a través de un ciclo de infección exógeno (8, 9).

Los ooquistes del segundo tipo, no presentes en la defecación, se distinguen de los anteriores por su fina pared y por dejar en libertad a los esporozoítos en la luz intestinal. Estos esporozoítos, al penetrar en otras células enteroepiteliales, dan lugar a ciclos merogónicos, gamogónicos y esporogónicos (8, 9).

Ante tal número de organismos no es de extrañar que en sujetos inmunocomprometidos las formas parasitarias puedan extenderse hasta conductos biliares, pancreáticos, estómago y tracto respiratorio (9).

La autoinfección interna e infección crónica se explican por la sucesión de ciclos esquizogónicos. Sin embargo, la duración de la infección depende de varios factores, los más importantes asociados a la inmunocompetencia, edad y nutrición de los hospederos (1).

5. Fisiopatología

Una vez producido el desenquistamiento en el tracto gastrointestinal, los esporozoítos se liberan e inician la adhesión y la invasión, eventos primarios críticos en la patogénesis de la infección por *Cryptosporidium sp.* (10).

Durante la interacción con el enterocito, las proteínas de superficie del esporozoíto y las proteínas secretadas por las organelas especializadas del complejo apical facilitan la adhesión y la invasión, y estimulan la formación de la vacuola parasitófora. *Cryptosporidium sp.* ingresa por el sector apical de la superficie epitelial intestinal y dentro de la célula hospedadora se sitúa en la red de filamentos de actina y de proteínas asociadas a ésta, como talina, ezrina, vinculina y α -actinina. Luego estimula la polimerización y acumulación de actina en la interfase parásito-citoplasma de la célula hospedadora, para que protruya la membrana plasmática y se forme la vacuola parasitófora (11, 12, 13, 14).

Ante la presencia de la vacuola parasitófora, las células regulan el aumento de su tamaño a través de la modificación de la permeabilidad de la membrana al agua y a ciertos iones. *Cryptosporidium sp.* recluta un cotransportador de Na^+ /glucosa y una acuoporina en el sitio de adhesión. Esto posibilita el ingreso de glucosa y agua a la célula hospedadora, lo que permite lograr una mayor protrusión de la membrana plasmática (15).

Los diferentes estadios parasitarios desplazan el borde de las microvellosidades y, eventualmente, llevan a la pérdida de la superficie intestinal. Se reduce el tamaño

de las vellosidades y aumentan la longitud las criptas intestinales por la aceleración de la división celular a fin de compensar la muerte celular. La apoptosis celular secundaria a la infección constituye un mecanismo defensivo de la mucosa, pero se conoce que *Cryptosporidium sp.* tiene la capacidad de inhibir la muerte celular programada de las células parasitadas (16, 17, 18).

Entre las 6 y las 24 horas posinfección predomina un efecto antiapoptótico; a las 24-48 horas posinfección se hacen más evidentes las señales proapoptóticas, lo cual permite que el parásito complete su ciclo de vida (24-48 horas) antes de que la célula hospedadora entre en apoptosis. Esto se ejecuta en función de la interacción y regulación que se ejerza sobre la expresión de los genes que codifican proteínas proapoptóticas como las caspasas 3/7 y la proteína Bcl-2, y la activación del mecanismo Fas/FasL (19, 20). El efecto sobre la apoptosis varía según el momento del período de invasión.

La combinación de las pérdidas del tamaño de las vellosidades y del borde microvellositario disminuye la absorción de fluidos, electrolitos y nutrientes, y conduce a la pérdida de enzimas digestivas de membrana, lo cual contribuye a la malabsorción y la desnutrición. Se ha descrito aumento de sacaridasas y disminución de lactasas en el epitelio intestinal. La mala absorción y la alteración de la digestión producen un sobrecrecimiento de la microflora intestinal, cambios en la presión osmótica e influjo de líquido hacia la luz intestinal (17, 21).

6. Sintomatología

No existen signos patognomónicos que diferencien a la criptosporidiosis de procesos causados por otros enteropatógenos. El principal signo clínico es la diarrea, asociada a la excreción de un gran número de ooquistes en las heces. Acompañando a la diarrea y dependiendo de diversos factores como la edad, el estado inmunitario y las condiciones ambientales se pueden presentar otros

signos clínicos, como anorexia, dolor abdominal (raquis curvado), pérdida de peso, postración y fiebre. Si las condiciones ambientales son adversas y el manejo en la explotación no es bueno, se pueden producir brotes con elevada mortalidad (1).

7. Histopatología

Los cambios histopatológicos asociados a este organismo incluyen: diferentes grados de atrofia de las microvellosidades, edema de la submucosa, infiltrado inflamatorio mononuclear e hiperplasia de las criptas. Los estadios del parásito se observan en la zona apical de la membrana del enterocito (1).

8. Epidemiología

El género *Cryptosporidium sp.* afecta a todas las especies de mamíferos, peces, reptiles y aves. Las especies de *Cryptosporidium sp.* relacionadas con formas endémicas y epidémicas de la infección son *C. hominis* y *C. parvum*. Estas especies son responsables del 90% de los casos de criptosporidiosis en humanos (22).

C. parvum es considerada la especie con mayor potencial zoonótico, y los animales no destetados son su principal reservorio. La presencia de *Cryptosporidium sp.* en la materia fecal de terneros ha sido estudiada en distintos lugares del mundo. Se han establecido prevalencias que oscilan entre 0,9% y 100%. Estos animales han sido identificados como agentes causales de brotes de criptosporidiosis transmitida por consumo de agua y alimentos contaminados (22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30).

En Argentina, se realizó el primer estudio sobre presencia de *Cryptosporidium sp.* en terneros de hasta 30 días de vida, con diarrea o sin ella, con una prevalencia

de infección de 17%. En terneros de hasta 7 días se encontró una elevada intensidad de infección, lo cual indicaría que ésta ocurre tempranamente en el período neonatal y se asociaría con una gran contaminación del área con ooquistes de *Cryptosporidium sp.* Desde el punto de vista epidemiológico, estos animales representan una importante fuente de contaminación del agua y del suelo de la región (31).

En Europa, *C. parvum* es la especie más vinculada a criptosporidiosis en humanos, mientras que *C. hominis* es prevalente en el norte de América y en algunos países de Sudamérica, África y Australia (22, 32, 33).

Otras especies zoonóticas como *C. meleagridis*, *C. muris*, *C. suis*, *C. felis*, *C. canis* y los genotipos de ciervo, mono, caballo, conejo y zorrino han desencadenado infección en humanos, generalmente asociada al contacto directo con el hospedero (34, 35, 36, 37).

El brote de criptosporidiosis ocurrido en el año 1993 en Milwaukee, Estados Unidos, ha sido reconocido como uno de los brotes más importantes relacionados con el consumo de agua contaminada. Éste afectó a 400 000 personas, entre las cuales se encontraban hospederos inmunocomprometidos que desencadenaron formas graves de la infección (38).

En las últimas décadas, *Cryptosporidium sp.* ha emergido como consecuencia de la aparición del SIDA. Su asociación fue tan estrecha desde un principio que la criptosporidiosis se transformó en una de las enfermedades marcadoras, incluso antes de que el VIH sea considerado como agente etiológico (38).

En los pacientes con SIDA, la criptosporidiosis presenta una prevalencia del 14% y 24% en países desarrollados y no desarrollados, respectivamente. En estos individuos, las especies más prevalentes son *C. hominis* (57%), seguido de *C. parvum* (23%), *C. meleagridis* (11%) y *C. felis* (6%) (39).

En países en vías de desarrollo, la infección es frecuente en menores de un año, lo cual posiblemente indique una alta frecuencia de exposición. En países como Brasil, Uganda, Perú y Guinea, se ha identificado al género *Cryptosporidium sp.* como uno de los principales agentes etiológicos de diarrea en niños menores de 2 años y se considera que en esta población es una causa importante de bajo peso corporal. El impacto de la criptosporidiosis es, por tanto, mayor cuanto menor es la edad de los pacientes afectados. En Argentina, Saredi y Baba detectaron infección intestinal por *Cryptosporidium sp.* en el 3,8% de las muestras de materia fecal de 553 pacientes internados en el Hospital de Niños “Ricardo Gutiérrez” de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, sobre un total de 972 muestras de materia fecal diarreica (40, 41, 42, 43, 44, 45).

8.1. Hallazgos epidemiológicos en animales silvestres

En el Zoológico Parque Natural de Pucallpa, ubicado en el departamento de Ucayali - Perú. En el año 2012 se realizó un estudio de investigación en donde se recolectaron 72 muestras fecales de diferentes primates hallándose *Cryptosporidium sp.* en solo 2 de ellos (46).

En el año 2006, en Argentina, se realizaron estudios de investigación para detectar infecciones por *Cryptosporidium sp.* en animales domésticos y en monos de un zoológico, resultando positivos un 14,5% (67/461) de los animales domésticos, y un 92,8% (13/14) en monos. De los primates estudiados se encontraron ooquistes de *Cryptosporidium sp.* en un 50% (7/14) de monos saimiri (*Saimiri boliviensis*) (47).

En el año 2008 en Brasil, se realizó un estudio donde se analizaron muestras fecales de 18 primates de cuatro especies, ocho *Cebus apella* (mono machín negro), cuatro *Macaca mulatta* (macaco rhesus), cuatro *Callithrix jacchus* (tití

común) y dos *Callithrix penicillata* (tití de pinceles negro). Observándose un animal parasitado por *Cryptosporidium sp.* (48).

En el año 2011 en Panamá, se realizó un estudio denominado Prevalencia de la parasitosis gastrointestinal de artiodáctilos y primates de dos zoológicos de Panamá. Encontrándose un 19% (12/62) de *Cryptosporidium sp.* en el Zoológico Summit durante la estación de seca (49).

9. Diagnóstico

9.1. Diagnóstico coprológico

El método más sencillo para detectar parásitos en las heces con ayuda del microscopio es mediante el frotis directo, permite observar huevos y larvas. Las desventajas del frotis directo es la pequeña cantidad de heces, lo que no constituye una muestra de tamaño representativo; este procedimiento, por lo tanto, puede ser impreciso (50).

a) Métodos convencionales de tinción

Ziehl Neelsen modificada (mZN)

Permite visualizar los ooquistes de *Cryptosporidium sp.* y los ooquistes de *Cyclospora*.

El fundamento consiste en la capacidad de la pared del ooquiste del *Cryptosporidium sp.* para retener el colorante fucsina (es decir su capacidad para resistir la acción del ácido que decolora todos los demás organismos de la materia fecal) (50, 51, 52, 53).

b) Concentración por Flotación o Sedimentación

Ningún método de flotación o sedimentación es específico para los ooquistes de *Cryptosporidium sp.* Además los líquidos de flotación/sedimentación pueden interferir a veces con las pruebas de diagnóstico (52).

9.1.2. Flotación

El principio del método de flotación es utilizar un medio de suspensión líquido, que es más denso que los ooquistes que se van a concentrar. Por consiguiente, cuando se mezclan con el líquido de flotación, los ooquistes suben hasta la superficie y pueden ser tomados de la película superficial (52).

9.1.3. Sedimentación por centrifuga

Los parásitos se depositarán más rápidamente si la suspensión de heces se somete a centrifugación; sin embargo, las partículas de alimentos sedimentarán también más rápidamente y pueden enmascarar la presencia de parásitos en la película examinada. Con este método se producen menos deformaciones en los ooquistes de los protozoos que con la flotación. Este método logra una concentración de 15–50 veces mayor, dependiendo del parásito escogido, y proporciona un buen concentrado de ooquistes de protozoos y de huevos de helmintos, que es satisfactorio desde el punto de vista del diagnóstico (52).

9.2. Métodos serológico

Han resultado útiles tres sistemas de detección inmunológica de ooquistes de *Cryptosporidium sp.* Cada uno tiene un nivel similar de sensibilidad y puede emplear muestras fecales concentradas y no concentradas, dependiendo del número probable de ooquistes en la muestra (54, 55).

9.2.1. Inmunofluorescencia directa

En la inmunofluorescencia directa, un anticuerpo marcado con FITC (Isotiocianato de fluoresceína) contra epítomos superficiales específicos del género se une a los ooquistes de los criptosporidios presentes en la muestra. Utilizando un sistema de filtro para FITC, la excitación con luz UV causa que los ooquistes marcados muestren una fluorescencia verde-manzana brillante. En el mercado existen las marcas comerciales: MeriFlour de Meridian, Crypto IF de TechLab (55, 56).

9.2.2. Detección de antígenos de *Cryptosporidium* mediante inmunocromatografía (IC)

Es un método alternativo apropiado para la detección del antígeno de criptosporidios en muestras de heces y se ha informado de que la especificidad es alta (98–100%). En el mercado existe la marca comercial: ImmunoCard STAT® de Meridian (57).

9.3. Métodos de reconocimiento del ácido nucleico

La PCR es más sensible que los métodos convencionales y las pruebas inmunológicas para detectar ooquistes en las heces. Determina la viabilidad parasitaria, dado que ofrece un aumento de la sensibilidad y de la identificación del subtipo/genotipo o de las especies implicadas (57).

9.4. La hibridación fluorescente in situ (FISH)

Emplea oligonucleótidos marcados que detectan con elevada especificidad regiones blanco dentro de secuencias de ADN o ARN. Actualmente, la mayor

parte de los ensayos FISH para la detección de *Cryptosporidium sp.* se basan en la hibridación de ARN, que capta una región variable de la pequeña subunidad (SSU) del ARN ribosomal nuclear comúnmente denominada SSUrRNA (57).

10. Tratamiento

No hay quimioterapia específica disponible pero se utilizan: Halofuginona, Salinomycin, Lasalosisid y Monensina; que no curan ni previenen la enfermedad (58).

La recuperación ocurre espontáneamente en alrededor de una semana. Sin embargo, debe contemplarse la posibilidad de medicación sintomática, para evitar el desequilibrio electrolítico, mediante la administración de suero oral (58).

Ante la inefectividad de los actuales quimioterapéuticos, la alternativa posible por el momento es la inmunoterapia con IgG₁, recuperada de calostro hiperinmune de bovinos vacunados con ooquistes. Mediante calostro hiperinmune se ha conseguido recuperar cuadros diarreicos en terneros, y en humanos inmunodeprimidos (58).

En el calostro de bovinos se ha aislado IgG₁ y en la mujer IgA; por ser ambas resistentes a las proteasas de las mucosas, explicaría la terapia de la criptosporidiosis bovina y humana antes citada (58).

11. Prevención y/o Control

Las características biológicas y conocimientos actuales del parásito, no permiten aún plantear medidas profilácticas pertinentes; salvo aquellas de carácter higiénico, especialmente cuando está de por medio la manipulación de heces

diarreicas, tanto en la rutina de manejo del hato, cuanto el procedimiento en el laboratorio; así como también el consumo de verduras contaminadas con aguas servidas (58).

12. Mono fraile común (*Saimiri* spp.)

12.1. Historia natural

Son pequeños, miden entre 25 y 32 cm (sin la cola), de color amarillo oliváceo con tintes oscuros de apariencia “sucia” y con pelaje corto. La “máscara” blanca y el hocico negro le dan aspecto de payaso. Su cola es larga y termina en un abultamiento de pelos negruzcos, semejante a la cola de un león. Es delgado llegando a pesar 0,54-1,25 kg las hembras y 0,48 a 1,2 kg los machos. Son ágiles, viven en la maleza y en las copas más bajas de las zonas boscosas y pueden vivir hasta los 25 años de edad (59, 60, 61).

En el género *Saimiri* es típica la poligamia, existiendo en cada grupo varios adultos entre machos y hembras. Se reproducen a partir de los tres o cuatro años de edad hasta los doce años de edad. El periodo de gestación es aproximadamente de 168 – 182 días (59, 61).

Marcan con orina casi todo su cuerpo, de manera especial la cola, pese a dichas costumbres es un mono extremadamente limpio y no emana olor desagradable (59).

12.2. Clasificación taxonómica

Reino	: Animalia
Phylum	: Cordados
Subphylum	: Vertebrados
Clase	: Mammalia
Orden	: Primates
Familia	: Cebidae
Género	: Saimiri
Especie	: sciureus, boliviensis (Ver anexo 2, 3) (62, 63).

12.3. Rango geográfico

Se encuentra distribuido en Sudamérica; en la cuenca amazónica y Guayanas. Hasta 1500 m de altitud (59).

En el Perú el género *Saimiri* tiene una distribución amplia. Los autores Aquino y Encarnación mencionan al investigador Hershkovitz (1984), quien comenta que la distribución de ésta especie comprende además del departamento de Loreto, los departamentos de Amazonas y San Martín. En Loreto al norte de los ríos Marañon y Amazonas hasta la frontera con Colombia y Ecuador, hacia el este, desde la margen derecha del río Ucayali hasta el río Yaraví; por el sur del río Abujao donde comparte hábitat con *S. boliviensis* (64).

12.4. Estado de conservación

El género *Saimiri* está incluido en el Apéndice II de CITES, es probable que entre en una categoría de amenaza en el futuro. Las principales amenazas que enfrenta

son la intervención de hábitat y el tráfico de la especie, ya que es muy deseada como mascota (60).

12.5. Alimentación

En estado natural los monos fraile son omnívoros y aprovechan grandes variedades de materia vegetal, como frutos, néctar, semilla, flores e insectos (59).

En cautiverio para adaptar a los monos frailes a los alimentos, se recomienda ofrecer un recipiente de fácil acceso: presas de animales, particularmente insectos 60% (47-100%), vertebrados 1%, frutas 25% (15-39%), como papaya, banano, manzana, guayaba, mango, flores 5% (2-13%), hojas 13% (11-18%), vegetales 20%, espinaca, zanahoria; concentrado canino, pan o subproductos de galletería (40%) y proteína animal (20%) como huevo cocido, queso, cuello de pollo (65, 66).

Aunque la frecuencia de suministro de alimentos puede ser una vez diaria, se recomienda hacerlo dos o tres veces, pues esto permite un mayor aprovechamiento y consumo de alimentos en mejor estado, sin embargo ésta actividad requiere mayor tiempo de los cuidadores (65).

12.6. Requerimientos nutricionales

A partir de estudios hechos en cautiverio con primates del nuevo y viejo mundo, equivalente a:

Energía: La energía de mantenimiento (Kcal/día) para primates, se calcula con la fórmula citada por King, Dunbon y Dierenfeld, equivalente a:

2 x Tasa Metabólica Basal (TMB); donde TMB es igual a:

70 x (peso corporal en Kg.) 0.75,

Para individuos en crecimiento, la energía es tres a cuatro veces la Tasa Metabólica Basal (67).

Proteína: Con respecto al requerimiento de proteína, se estiman que para un *Saimiri*, el consumo de proteína se encuentra, entre el requerimiento de un *Cebus* y un *Saguinus*; los cuales consumen de un 14.4 a un 20.6% de la dieta. Se recomienda por lo tanto, un 16,3% como requerimiento razonable y seguro. Y para monos fraile crías y juveniles, el requerimiento de proteína se encuentra entre el 5.8 al 15% de la energía metabolizable de la dieta (67).

Grasa: Las necesidades de grasa no son claras para primates, se reportan un 3 al 5% de la materia seca de la dieta, aunque aún faltan datos confiables (67).

Fibra: es un componente de la dieta importante en primates, para evitar la erosión en las paredes del ciego; aunque no reporta cantidades requeridas para las diferentes especies (67).

Vitaminas y minerales: una de las vitaminas de mayor importancia para el *Saimiri* es la D3 (especialmente si se trata de individuos en cautiverio) y su requerimiento mínimo para monos neotropicales, debe ser de 2.000 UI por Kg. de dieta con base en materia seca. Las vitaminas A y E deben encontrarse en 10.000 y 50 UI por Kg. de dieta respectivamente (67).

La provisión de vitamina C es importante en el manejo nutricional de omnívoros cautivos, especialmente primates y murciélagos. La cantidad mínima debe ser de 111 mg/kg (67).

Finalmente se recomienda que el porcentaje de Calcio en la dieta sea mínimo de 0.54% y de Fósforo 0.44% como mínimo. Otro mineral importante en primates del Nuevo mundo es el Hierro, que debe aportarse en la dieta con un mínimo de 200 mg/Kg (67).

12.7. Comportamiento alimenticio

El forrajeo en *Saimiri* spp. se caracteriza por una dispersión en sus grupos separados cuando el alimento es abundante. El consumo de frutos es mayor en la mañana; mientras que el de invertebrados; como *Tenebrio molitor*, *Musca doméstica*, entre otros, es mayor en la tarde. Es poco común observar robo de alimento cuando éste escasea, pero ocurre cuando los animales se concentran en una misma área (67).

Cuando los *Saimiri* se alimentan en los árboles, se sujetan en las ramas con una mano y ambos pies abrazándose ocasionalmente alrededor de ésta; al tiempo que ambas manos son usadas para sostener el alimento. Durante la manipulación hay un pequeño uso selectivo del pulgar y aunque la cola no es prensil, los animales la usan para soporte y estabilidad. Estos monos pueden discriminar diferentes formas pero no manipulan objetos. El tamaño de las frutas consumidas es de aproximadamente 1cm de diámetro y cáscara blanda; mientras el de los insectos alcanza hasta 5 cm de longitud (67).

12.8. Manejo en cautividad

En general, el ambiente debe promover bienestar físico y mental para los animales mantenidos en cautiverio, mediante un área compleja y estimulante para los individuos, con medios de enriquecimiento que promuevan una sana convivencia entre los animales. Esto incluye el uso de gran diversidad de alimentos, métodos que aumenten el tiempo de búsqueda y consumo de los mismos, el uso de cuerdas, lianas, móviles y perchas de diferentes texturas, en diferentes ángulos y alturas, y condiciones cambiantes en los encierros; lo cual ayuda a reducir la agresividad y el aburrimiento. Ningún primate en cautividad debe permanecer en un entorno pobre (simple) o en soledad durante mucho tiempo (65).

Los dormideros, corredores y otros objetos pueden construirse en madera y otros materiales degradables, pero es necesario renovarlos periódicamente pues se deterioran con el uso; debe procurarse por otra parte que los bebederos y comederos sean de materiales duros para que se puedan utilizar el máximo tiempo posible. Debe revisarse frecuentemente el estado de las mallas, las uniones entre materiales, tejas, esquinas y soldaduras, emplear cerraduras con seguro para evitar fugas, además de revisar frecuentemente los encierros con objeto de encontrar sitios por los cuales los animales puedan escapar. Aunque las estructuras metálicas suelen ser más duraderas, higiénicas y pueden desinfectarse con más facilidad, salvo el uso de mallas, no se recomienda el empleo de éste material ya que además de ser ruidoso, causa la pérdida de temperatura corporal (65).

Las instalaciones deben permitir el aseo y el lavado diario, tener buena ventilación, entrada de luz natural y adicionalmente luz artificial para procedimientos nocturnos. Deben contar con áreas en las cuales los animales tengan posibilidad de esconderse de los humanos o de coespecíficos (65).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Espacio y tiempo

El estudio se realizó entre los meses de marzo a octubre de 2012 en el Parque Ecológico Camposanto “Santa Rosa de Lima” en el distrito de San Juan de Miraflores, el Zoológico de la Institución Educativa “El Buen Pastor” en el distrito de Los Olivos, ambos en el departamento de Lima y en el Parque Zoológico Natural de Pucallpa, en el distrito de Callería, provincia de Coronel Portillo - departamento de Ucayali. El análisis y procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio central de la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas, en el distrito de Pachacamac - departamento de Lima.

2. Población y muestra

El grupo estudiado fue de un total de 27 individuos de las especies *Saimiri sciureus* y *Saimiri boliviensis*. Los factores que influyeron en la selección de éste género en particular incluyen su ubicación y el hecho de que los animales se encuentran habituados a las observaciones humanas, sobre todo al manejo rutinario que se lleva en cautiverio. Se recolectaron 27 muestras de heces de mono fraile (*Saimiri sciureus* y *Saimiri boliviensis*) directamente del suelo sin distinción de edad, peso, sexo y género.

3. Diseño de investigación

El estudio es descriptivo no experimental, donde se consideró a todos los animales del género *Saimiri sciureus* y *Saimiri boliviensis*, realizándose la recolección de muestras individualmente, sin distinción de edad, peso, sexo y género y el análisis de las muestras se realizó utilizando el método de diagnóstico: Tinción de Ziehl Neelsen modificada.

4. Procedimiento

4.1. Toma de muestra y transporte

Se colectó la muestra de heces directamente del suelo observando a que animal pertenecía, posteriormente se colocó cada muestra en frascos estériles con formol al 10% para ser transportados en una caja de polietileno expandido al laboratorio de la Universidad Alas Peruanas. Luego se realizó una extensión o frotis fecal con un hisopo previamente humedecido para hacer una extensión en 3 láminas rotuladas que fueron teñidas mediante el Método de Ziehl Neelsen modificada para guardarse en una caja porta objeto.

Así mismo, por accesibilidad al Parque Zoológico de Pucallpa se realizó un examen seriado visitando tres veces el recinto. Para cada muestra se procesó tres láminas rotuladas que fueron teñidas mediante el Método de Ziehl Neelsen modificada.

4.2. Procesamiento de muestras

4.2.1. Método de Ziehl Neelsen modificada

- a) Se realizó una extensión o frotis fecal sobre un portaobjeto y dejar secar.
- b) Se fijó con el metanol absoluto durante 5 minutos y dejar secar.
- c) Se tiñó cubriendo con fuscina básica fenicada durante 20 minutos.
- d) Se lavó con agua corriente.
- e) Se decoloró cubriendo con ácido sulfúrico al 2% durante 20 segundos (variable dependiendo el grosor de la preparación), mientras se agita el portaobjeto.
- f) Nuevamente se lavó con agua corriente.
- g) Se tiñó con el colorante verde malaquita al 5% durante 5 minutos.
- h) Se lavó con agua corriente.
- i) Se dejó secar.
1. Se observó a 100x en un microscopio de luz.

5. Diseño estadístico

Para la interpretación del estudio se utilizó la estadística porcentual con la finalidad de interpretar los resultados de la investigación.

IV. RESULTADOS

Cuadro 1. Resultados a *Cryptosporidium sp.* mediante el Método de Ziehl Neelsen modificada en heces de mono fraile (*Saimiri spp.*) de tres zoológicos en Perú.

	Método de Ziehl Neelsen modificada	
	POSITIVAS (+)	NEGATIVAS(-)
<i>Cryptosporidium sp.</i>	5 (18,5%)	22 (81,4%)

Cuadro 2. Resultados a *Cryptosporidium sp.* mediante el Método de Ziehl Neelsen modificada en heces de mono fraile (*Saimiri spp.*) según el lugar de procedencia.

ZOOLOGICO	NÚMERO DE MUESTRAS	MÉTODO ZNM * POSITIVO (+)
Campo Santo	12	3 (25%)
Buen Pastor	6	0 (0%)
Zoológico de Pucallpa	9	2 (22.22%)
	27	5 (18,52%)

* Método de Ziehl Neelsen modificada.

V. DISCUSIÓN

El estudio se realizó en tres zoológicos del Perú, ubicados dos de ellos en el departamento de Lima y el tercero en el departamento de Ucayali, en total se recolectaron un total de 27 muestras de heces de monos *Saimiri* spp. del área de exhibición. De las 27 muestras procesadas con la tinción de Ziehl Neelsen modificada, se obtuvo 5 muestras positivas (18,5%) y 22 muestras negativas (81,4%). Al presentarse un 18,5 % de animales positivos en los tres ecosistemas diferentes, tendría relación con la literatura donde indica que los animales adquieren la enfermedad por contacto directo o indirecto con heces contaminadas. Así también los resultados positivos serían dependientes de diversos factores como: La edad, el estado inmunitario, las condiciones ambientales y la nutrición de los hospederos (1, 8, 9, 22, 23, 24).

Se considera a las crías como una fuente principal de infección a criptosporidiosis debido a que poseen una baja inmunidad como se menciona en la literatura, pero en el estudio realizado se trabajó con animales juveniles y adultos (1 año a más) esto fue definido por las características morfológicas y el diálogo con los cuidadores (23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31).

Los signos clínicos que podrían presentar los *Saimiris* expuestos a *Cryptosporidium* sp. con un estado inmunitario deficiente y con las condiciones medio ambientales serían: anorexia, dolor abdominal, pérdida de peso, postración y fiebre, y esto estaría estrechamente relacionado con el manejo de las instalaciones y el alimento que reciben, ya que al ser deficiente se incrementa el stress y el parásito estaría en mayor porcentaje contaminando el alimento y agua (1).

Así también; estos resultados permiten mencionar que los Saimiris en cautiverio actuarían como un animal reservorio, porque al momento del muestreo aparentemente no presentaron signos clínicos, pero si las condiciones ambientales fueran adversas y el manejo de los animales deficiente, se podría producir brotes con elevada mortalidad como se indica en la literatura (1, 49).

De los tres zoológicos estudiados los que presentaron *Cryptosporidium sp.* fueron: El Parque Ecológico “Santa Rosa de Lima” con un total de 25% (3/12), el Parque Zoológico Natural de Pucallpa con un total de 22% (2/9); y el Zoológico de la Institución Educativa “El Buen Pastor” no presentó el parásito.

Al comparar los tres zoológicos; dos procedentes de la costa y uno de la selva. La diferencia radicaría en la altitud más no así en las condiciones climáticas, dado que todos los animales fueron muestreados en los meses de verano, donde se presentó una temperatura y humedad ideal para la supervivencia del parásito en el medio ambiente como lo señala la literatura (31, 49). Pero al comparar los recintos en los tres zoológicos; se observó que el zoológico “Santa Rosa de Lima” y el zoológico “Parque Natural de Pucallpa” presentaron áreas con tierra y árboles como mini islas, mientras que el zoológico de la Institución Educativa “El Buen Pastor” era de piso de cemento liso y ambientado con árboles y piedras, éstas diferencias en cuanto al diseño de la instalación según los estudios mencionan que, en un lugar donde la limpieza no es segura, los alimentos y el agua pueden verse contaminados con las heces y así incrementar la presencia de *Cryptosporidium sp.* como se aprecia en los dos primeros zoológicos (31, 49).

Así mismo, se indica en la literatura que el Zoológico Parque Natural de Pucallpa, ubicado en el departamento de Ucayali - Perú. En el año 2012 se realizó un estudio de investigación en donde se recolectaron 72 muestras fecales de diferentes primates hallándose *Cryptosporidium sp.* en solo 2 de ellos (46).

Se menciona que los primates en vida libre no presentan signos clínicos, debido a que el parásito suele vivir durante largos períodos en el hospedero, induciendo una estimulación antigénica prolongada con activación de un gran número de mecanismos inmunitarios y así mantener el parásito en reposo. A pesar de que en ésta investigación no se trabajó con animales libres para comparar la presencia de la parasitosis es probable que los grupos estudiados tengan mayor posibilidad a presentar signos clínicos, ya que la presencia de infecciones parasitarias son más comunes en los animales en cautiverio que en los de vida libre; por lo tanto su respuesta inmunitaria puede verse comprometida, y esto estaría relacionado al manejo de sus criadores, y en especial con los parásitos monoxenos como *Cryptosporidium sp.* (1, 9, 49).

Por último se debe mencionar que el Zoológico de la Institución Educativa “El Buen Pastor” presenta un área de menor dimensión y la infraestructura es artificial, y otras investigaciones mencionan que a menor espacio puede generar mayor stress (1, 49), y podría predisponer a que se manifieste la parasitosis; pero en el estudio se observó que todos los animales del área fueron negativos. Esto podría deberse a que el manejo sería mas riguroso no permitiendo que las heces tengan contactos con los alimentos y el agua (1, 8, 9, 49).

VI. CONCLUSIÓN

De las 27 muestras de heces de mono fraile procesadas con la tinción de Ziehl Neelsen modificada, se obtuvo como resultado 5 muestras positivas (18,5%) a *Cryptosporidium sp.* Los zoológicos del Perú, “Parque Ecológico Santa Rosa de Lima”, y “Parque Zoológico Natural de Pucallpa” presentaron un 25% (3/12) y 22.2% (2/9) respectivamente, mientras que el Zoológico de la Institución Educativa “El Buen Pastor” no presentó animales positivos al parásito.

VII. RECOMENDACIONES

1. Aplicar otras técnicas de diagnóstico parasitológico para diferenciar la especie de *Cryptosporidium* y su potencialidad zoonótica.
2. Implementar los programas de enriquecimiento ambiental para disminuir el estrés a los primates y mantener inactivo a la parasitosis.
3. Fomentar y mantener las medidas higiénicas sanitarias para evitar la contaminación de los alimentos y el agua.
4. Los zoológicos deben aplicar la medicina preventiva, ya que permite anticipar y evitar posibles enfermedades.

VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Lostaunau MN. Presencia de *Cryptosporidium parvum* en la madre como factor de riesgo de la presentación de *C. parvum* en las alpacas neonatales; Huancavelica. [Tesis para optar el título profesional de medicina veterinaria]. Perú: Universidad Mayor de San Marcos; 2009.
2. Cordero del Campillo M. Parasitología Veterinaria. 1^{era} ed. España: Editorial MC Graw-Hill Interamericana. 1999; 221-213.
3. Del Coco VF, Córdoba MA, Basualdo JA. Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. Rev. Argentina de Microbiología. 2009; 4(3): 185-196.
4. Fayer R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. Vet parasitol. 2004; 126: 37-56.
5. Carey CM, Lee H, Trevors JT. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium hominis* oocyst. Water Res. 2004; 38: 818-62.
6. Boulter-Bitzer JI, Lee H, Trevors JT. Molecular targets for detection and immunotherapy in *Cryptosporidium parvum*. Biotechnol Adv. 2007; 25: 13-44.
7. Petry F. Laboratory diagnostic of *Cryptosporidium parvum* infection. Contrib Microbiol. 2000; 633-49.
8. Gallego J. Manual de Parasitología. 2^{da} ed. Barcelona: Edición's Univesitad; 2003.
9. Teresa UB. Criptosporidiosis ó Criptosporidiasis. México: Editorial UNAM; 2012.
10. Nguyen S, Divino CM, Weber K, Morotti RA. Cryptosporidiosis presenting as acute appendicitis: a case report. K Buch Am Surg. 2005; 71: 537-8.
11. Sibley LD. Intracellular parasite invasion strategies. Science 2004; 304: 248-53.
12. Chen XM, Keithly JS, Pacaya CV, La Russo NF. Cryptoporidiosis. N Engl J Med. 2002; 346: 1723-31.

13. Chen XM, O'Hara SP, Huang BQ, Nelson JB, Jung Chin Lin J, Zhu G, et al. Apical organelle discharge by *Cryptosporidium parvum* is temperature, cytoskeleton and intracellular calcium dependent and required for host cell invasion. *Infect Immun*. 2004; 72: 6806-16.
14. Elliot DA, Coleman DJ, Lane MA, May RC, Machesky LM, Clarck DP. *Cryptosporidium parvum* infection requires host cell actin polymerization. *Infect Immun*. 2001; 69: 5940-2.
15. Chen Xm, O'Hara SP, Huang BQ, Splinder PL, Nelson JB, La Russo N. localized glucose and water influx facilitates *Cryptosporidium parvum* cellular invasions by means of modulation of host cell membrane protrusion. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102: 6338-43.
16. Gookin JL, Nordone SK, Argenzio RA. Host responses to *Cryptosporidium* infection. *J Vet Intern Med*. 2002; 16: 12-21.
17. Smith HV, Cacció SM, Cook N, Nichols RA, Tait A. *Cryptosporidium* and *Giardia* as food-borne zoonoses. *Vet Parasitol*. 2007; 149: 29-40.
18. Deng M, Rutherford MS, Abrahamsen MS. Host intestinal epithelial response to *Cryptosporidium parvum*. *Adv Drug Deliv*. 2004; 56: 869-84.
19. Okhuysen PC, Chappell CL. *Cryptosporidium* virulence determinants-are we there yet *Int J Parasitol*. 2002; 32: 517-25.
20. Mele R, Gomez Morales MA, Tosini F, Pozio E. *Cryptosporidium parvum* at different developmental stages modulates host-cell apoptosis *in vitro*. *Infect Immun*. 2004; 72: 6061-7.
21. Harp JA. *Cryptosporidium* and host resistance: historical perspective and some novel approaches. *Anim Health Res Rev*. 2003; 4: 53-62.
22. Cacciò SM, Pozio E. Advances in the epidemiology, diagnosis and treatment of cryptosporidiosis. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2006; 4: 429-43.
23. Smith HV, Nichols RAB, Grimason AM. *Cryptosporidium* excystation and invasion: getting the guts of the matter. *Trend parasitol*. 2005; 21: 133-42.
24. Xiao L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis. *Exp Parasitol* 2009.

25. Castro-Hermida JA, González-Losada YA, Mezo-Menéndez M, Ares-Mazas E. Prevalence and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia. *Vet Parasitol.* 2002; 106: 1-10.
26. Castro-Hermida JA, González-Losada YA, Mezo-Menéndez M, Ares-Mazas E. A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. *Vet Parasitol.* 2002; 106: 11-7.
27. Del Coco VF, Basualdo JA. *Cryptosporidium*: un parásito emergente. En: Abuin JC et al., editores. *Temas de Zoonosis IV*. Buenos Aires, Asociación Argentina de Zoonosis. 2008; 325-32.
28. Quílez J, Sánchez-Acedo C, del Cacho E, Clavel A, Causapé AC. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragón. *Vet Parasitol.* 1996; 66: 139-46.
29. Uga S, Matsuo J, Kono E, Kimura K, Inoue M, Rai SK. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocyst shedding in calves in Japan. *Vet Parasitol.* 2000; 94: 27-32.
30. Wade SE, Mohammed HO, Schaaf SL. Prevalence of *Giardia* sp., *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium andersoni* in 109 dairy herds in five counties of southeastern New York. *Vet Parasitol.* 2000; 93: 1-11.
31. Del Coco VF, Córdoba MA, Basualdo JA. *Cryptosporidium* infection in calves from a rural area of Buenos Aires, Argentina. *Vet Parasitol.* 2008; 158: 31-5.
32. Feltus DC, Giddings CW, Schneck BL, Monson T, Warshauer D, McEvoy JM. Evidence supporting zoonotic transmission of *Cryptosporidium* spp. in Wisconsin. *J Clin Microbiol.* 2006; 44: 4303-8.
33. Ng J, Eastwood K, Durrheim D, Massey P, Walker B, Armson A. Evidence supporting zoonotic transmission of *Cryptosporidium* in rural New South Wales. *Exp Parasitol.* 2008; 119: 192-5.
34. Cacciò S, Thompson A, McLauchlin J, Smith HV. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends Parasitol.* 2005; 21: 430-7.
35. Robinson G, Elwin K, Chalmers RM. Unusual *Cryptosporidium* genotypes in human cases of diarrhea. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14: 1800-2.

36. Fayer R, Morgan U, Upton SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. 2000; 301: 305-22.
37. Alcantara Warren C, Guerrant RL. Clinical disease and pathology. En: Fayer R, Xiao L, editors. *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis*. New York, CRC Press. 2008; 235-53.
38. Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med*. 1994; 331: 161-7.
39. Chen XM, Keithly JS, Paya CV, LaRusso NF. *Cryptosporidiosis*. *N Engl J Med*. 2002; 346: 1723-31.
40. Méndez OC, Szmulewicz G, Menghi C, Torres S, González G, Gatta C. Comparison of intestinal parasite infestation indexes among HIV positive and negative populations. 1994; 54: 307-10.
41. Olmos M, Molina C, Piskorz E, Tawil J, Magnanini F, Casiró A. Diarrhea and AIDS: more complex diagnostic techniques; better therapeutic results. *Acta Gastroenterol Latinoam*. 1996; 26: 91-100.
42. Barboni G, Candi M, Inés Villacé M, Leonardelli A, Balbaryski J, Gaddi E. *Cryptosporidiosis* intestinal en niños con HIV/SIDA. 2008; 68: 213-8.
43. Saredi N, Bava J. *Cryptosporidiosis* in pediatric patients. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1998; 40: 197-200.
44. Zdero M, Ponce De León P, Boligno B, Nocito I. Presence of *Cryptosporidium* sp. in diarrheic feces of a population of children. *Rev Argent Microbiol*. 1989; 21: 37-41.
45. Tzipori S, Ward H. *Cryptosporidiosis*: biology, pathogenesis and disease. *Microbes Infect*. 2002; 4: 1047-58.
46. Guerrero F, Serrano-Martínez E, Tantaleán M, Quispe M, Casas G. Identificación de parásitos gastrointestinales en primates no humanos del zoológico parque natural de Pucallpa. Perú; 2012.
47. Venturini L, Bacigalupe D, Basso W, Unzaga J.M, Venturini M.C, Moré G. *Cryptosporidium parvum* en animales domésticos y en monos de un zoológico. Argentina; 2006.

48. Schafer da Silva A, Pesamosca G, Tourém L, Soares F, Lara V, Bonfim A, Gonzalez S. Presencia de protozoos gastrointestinal en los primates en cautividad en el sur de Brasil. Brasil; 2008.
49. Valdés V. Prevalencia de la parasitosis gastrointestinal de artiodáctilos y primates de los zoológicos de Panamá. Costa Rica; 2011.
50. Saredi NG. Manual práctico de parasitología médica. 1.ª ed. Buenos Aires: Editorial Laboratorio Andrómaco; 2002.
51. Casemore DP. Laboratory methods for diagnosing cryptosporidiosis. Broadeet 128. J. Clin. Pathol. 1991; 44, 445–451.
52. Casemore DP, Armstrong M. & Sands RL. Laboratory diagnosis of Cryptosporidiosis. J. Clin. Pathol. 1985; 38, 1337–1341.
53. Smith HV. Intestinal protozoa. *In: Medical Parasitology: a Practical Approach*, Hawkey P.M. & Gillespie S.H., eds. IRL Press at Oxford University Press, Oxford, UK. 1992; 79–121.
54. Smith HV. Diagnostics. *In: Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*, Second Edition, Fayer R. & Xiao L. eds. CRC Press and IWA Publishing, 1075 Boca Raton, FL, USA. 2008; 173-208.
55. Grimason AM, Smith HV, Parker JFW, Bukhari Z, Campbell AT & Robertson LJ Application of DAPI and immunofluorescence for enhanced identification of *Cryptosporidium* spp. oocysts in water samples. Water Res. 1994; 28, 733–736.
56. Smith HV, Campbell BM, Paton CA & Nichols RAB. Significance of enhanced morphological detection of *Cryptosporidium* sp. oocysts in water concentrates using DAPI and immunofluorescence microscopy. Appl. Environ. Microbiol. 2002; 68, 5198–5201.
57. Homan W, Van Gorkom T, KAN YY & Hepener J. Characterization of *Cryptosporidium parvum* in human and animal feces by single-tube nested polymerase chain reaction and restriction analysis. Parasitol. 1999; 85, 707–712.
58. Auricchio P. Primates do Brasil. Brasil: Editorial Terra Brasilis Ltda; 1995.

59. Emmons HL. Mamíferos de los bosques húmedos de América tropical. 1^{era} guía de campo. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia: Editorial F.A.N; 1999.
60. Moscoso P, Valencia A, Burbano M, Freile J.F. Guía de observación de primates en áreas naturales del Ecuador. Quito: Ministerio de Turismo; 2011.
61. Schuler A.M, Abee C.R. Squirrel Monkeyes (*Saimiri*). Publication No. 05-5749. United States of America: Department of Health and Human Services; 2005.
62. Auricchio P. Primatas do Brasil: Ediciones Terra Brasilis LTDA; 1995.
63. Eisenberg JF, Redford HK. Mammals of the Neotropics. Vol III: The Central Neotropics: Ecuador, Perú, Bolivia, Chicago, USA: University of Chicago Press; 1999.
64. Aquino R, Encarnación F. Los primates del Perú. Alemania. Editorial Golze Gmghand; 1994.
65. Varela N. Bases para el Manejo, Atención Médico Veterinaria y Rehabilitación de Pequeños Primates Neotropicales. 2^{da} Edición. Corporación Autónoma Regional de Caldas - Asociación de Veterinarios de Vida Silvestre. Colombia, Bogotá. D.C. 56p. 2007.
66. The National Academies Press. Nutrient Requirements of Nonhuman Primates. Second Revised Edition. United States of America, Washington D.C; 2003.
67. Suárez C, Rojas s, Duran C, Lozano-Ortega I, Zangen S, Pereira V, Nassar-Montoya F. Protocolo para el Manejo y Disposición de Micos Ardilla (*Saimiri sciureus*) en el Centro de Recepción y Rehabilitación de Fauna Silvestre de Engativa-Dama. Centro de Primatología Araguatos; Bogotá; 2000

ANEXOS

ANEXO 1

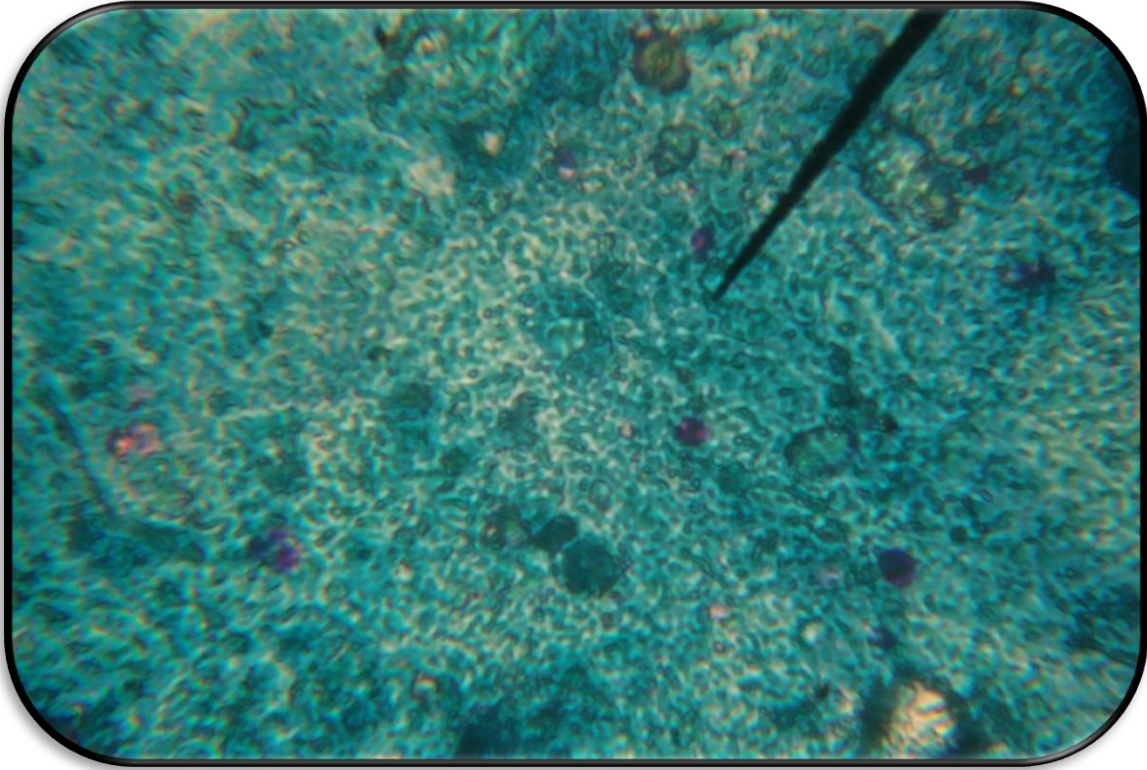


Figura 1: *Cryptosporidium sp.* observado a 100x.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 2



Figura 2: Fotografía de un mono fraile (*Saimiri sciureus*)

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 3



Figura 3: Fotografía de monos fraile (*Saimiri boliviensis*)

Fuente: Senda verde – Centro de custodia de animales silvestres.

ANEXO 4



Figura 4: Fotografía del ambiente de los monos fraile (*Saimiri* spp.) en el Parque Ecológico Campo Santo “Santa Rosa de Lima”

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 5



Figura 5: Fotografía del ambiente de los monos fraile (*Saimiri* spp.) en el Zoológico de la Institución Educativo “El Buen Pastor”.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 6



Figura 6: Fotografía del ambiente de los monos fraile (*Saimiri* spp.) en el Parque Zoológico de Pucallpa.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 7

FORMATO 4: REGISTRO DE IDENTIFICACIÓN DE FORMAS PARASITARIAS EN HECES DEL MONO FRAILE (*Saimiri* spp.) EN EL PARQUE ECOLÓGICO “SANTA ROSA DE LIMA”

FORMAS PARASITARIAS	
PROTOZOOS	
MUESTRAS	DIAGNÓSTICO A CRYPTOSPORIDIUM *
1	Negativo
2	Negativo
3	Positivo
4	Negativo
5	Positivo
6	Positivo
7	Negativo
8	Negativo
9	Negativo
10	Negativo
11	Negativo
12	Negativo

* De cada muestra se procesó tres láminas que fueron teñidas mediante el Método de Ziehl Neelsen modificada y luego realizar el diagnóstico.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 8

FORMATO 5: REGISTRO DE IDENTIFICACIÓN DE FORMAS PARASITARIAS EN HECES DEL MONO FRAILE (*Saimiri* spp.) EN EL PARQUE ZOOLOGICO DE LA INSTITUCIÓN EDUCATIVA “EL BUEN PASTOR”

FORMAS PARASITARIAS	
PROTOZOOS	
MUESTRAS	DIAGNÓSTICO A CRYPTOSPORIDIUM *
1	Negativo
2	Negativo
3	Negativo
4	Negativo
5	Negativo
6	Negativo

* De cada muestra se procesó tres láminas que fueron teñidas mediante el Método de Ziehl Neelsen modificada y luego realizar el diagnóstico.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 9

FORMATO 6: REGISTRO DE IDENTIFICACIÓN DE FORMAS PARASITARIAS EN HECES DEL MONO FRAILE (*Saimiri* spp.) EN EL PARQUE ZOOLOGICO NATURAL DE PUCALLPA

FORMAS PARASITARIAS	
PROTOZOOS	
MUESTRAS	DIAGNÓSTICO A CRYPTOSPORIDIUM *
1	Negativo
2	Negativo
3	Negativo
4	Positivo
5	Negativo
6	Negativo
7	Negativo
8	Negativo
9	Positivo

* Por accesibilidad se realizó un examen seriado visitando tres veces consecutivas el recinto. Y de cada muestra se procesó tres láminas que fueron teñidas mediante el Método de Ziehl Neelsen modificada y luego realizar el diagnóstico.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 10

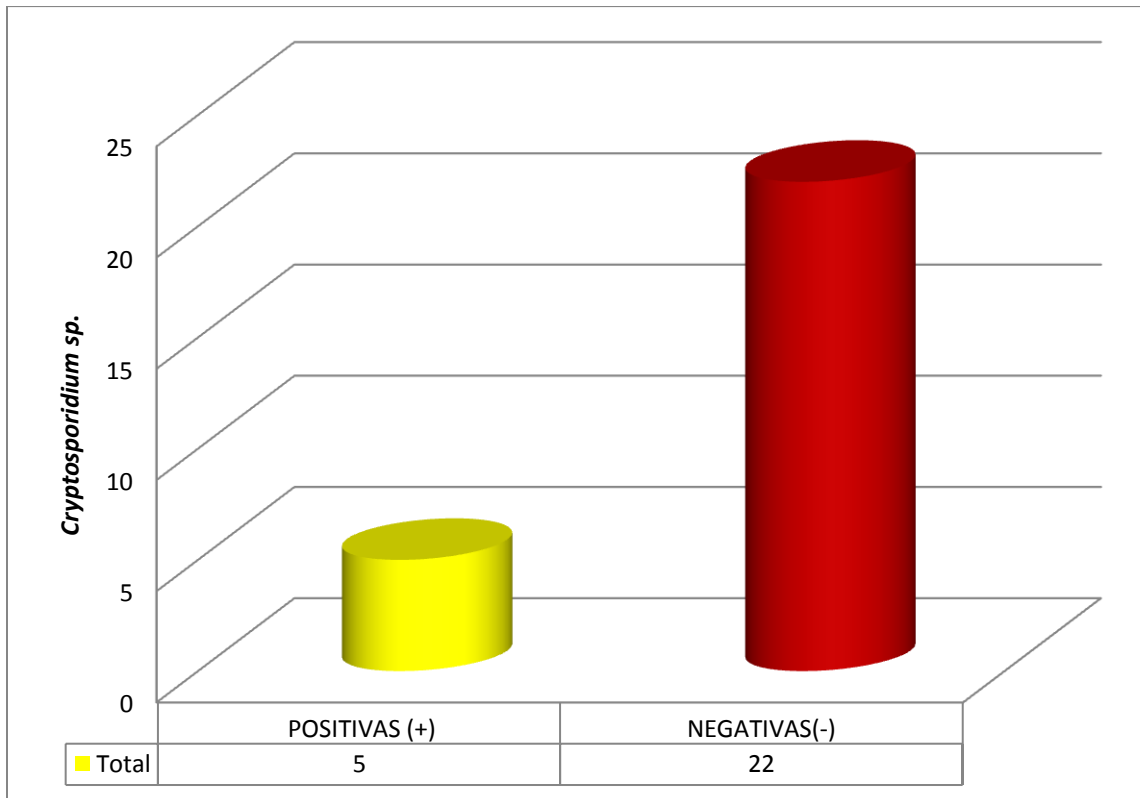


Figura 7. Presencia de *Cryptosporidium sp.* en *Saimiri* spp. en tres zoológicos de Perú.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 11

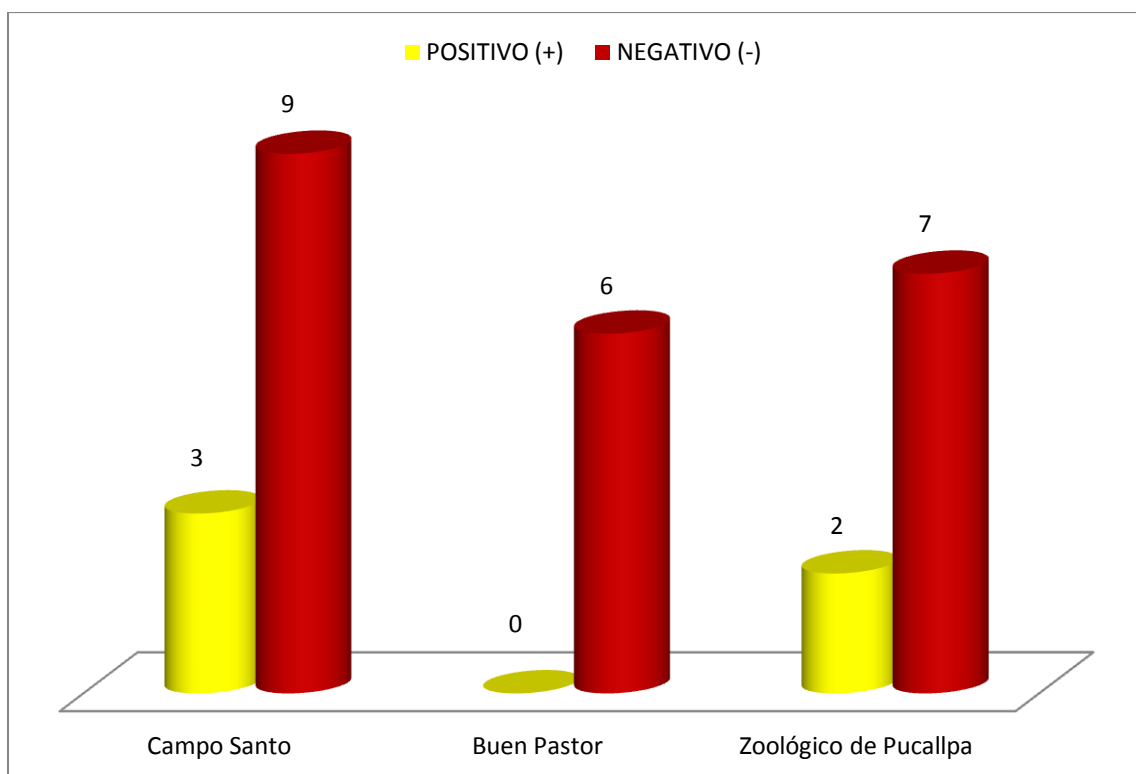


Figura 8. Determinación de *Cryptosporidium sp.* en monos *Saimiri spp.* según el lugar de procedencia.

Fuente: Elaboración propia.