



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA ACADEMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

**CRIPTOSPORIDIOSIS EN CANINOS (*Canis familiaris*) DE TRES ASENTAMIENTOS
HUMANOS DEL DISTRITO DE VILLA MARIA DEL TRIUNFO-LIMA**

**TESIS PARA OPTAR EL
TITULO DE MEDICO VETERINARIO**

**GARRIAZO SANCHEZ, MARIO JHONATAN
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA**

LIMA- PERU

2018

DEDICATORIA

El trabajo está dedicado a mi familia porque siempre ha sido parte de mi fuerza. A mi pareja que siempre me ha alentado a seguir adelante a todas las personas que conocí en las campañas y que ayudaron en el muestreo.

A mis docentes que me han apoyado a lo largo de todo el camino para la realización de la tesis. Una mención especial a la M.V. Nidia Puray Chávez y al M.V. Daniel Sánchez Rodríguez por el compromiso que tuvo con mi grupo en la recolección de muestras.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a mis padres, Mario y Marisol; a mi pareja, Estefani; a mis hermanos; Pamela, Esteban, Camila, Fabricio y a mi segunda familia Sr. Gloria, Sr. Augusto, Kiara, Álvaro por todo su afecto y alentarme a continuar.

Finalmente a mi alma mater y a la facultad que me apoyaron con el desarrollo experimental. A la M.V Nidia Puray Chávez, M.V Daniel Sánchez Rodríguez por todo el apoyo y confianza brindada.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue estimar la prevalencia de *Cryptosporidium sp.* en caninos criados en tres Asentamientos Humanos del Distrito de Villa María del Triunfo. Se recolectaron 80 muestras fecales de perros aparentemente sanos, de ambos sexos y diferentes edades, las que estuvieron comprendidas entre 1 mes y 12 años durante los meses de enero y marzo del 2016. Las heces, fueron transportadas al laboratorio Central de la Universidad Alas Peruanas, para su diagnóstico; el cual se realizó usando la técnica de Ziehl-Neelsen modificada. La prevalencia general de *Cryptosporidium sp.* fue de $38,8 \pm 10,7\%$, se hallaron prevalencias de 24, 44, 46,7% en los tres AA.HH (Defensores de la Familia, Vivienda Laderas Santa Cruz, Capilla); los machos y hembras presentaron prevalencias de 46,2 y 25%, respectivamente y según los grupos de edades 0-6, >6-12, >12-72 y >72 meses fueron de 44,4 , 36,4 , 41,9 , 30%, respectivamente.

PALABRAS CLAVES: *Cryptosporidium sp.*, ziehl-neelsen, caninos

ABSTRACT

The objective of the study was to estimate the prevalence of *Cryptosporidium* sp. in canines raised in three Human Settlements of the District of Villa María del Triunfo. We collected 80 fecal samples from apparently healthy dogs, of both sexes and different ages, which were between 1 month and 12 years during the months of January and March 2016. The feces were transported to the Central Laboratory of Alas Peruanas University, for diagnosis; which was performed using the modified Ziehl-Neelsen technique. The general prevalence of *Cryptosporidium* sp. was $38.8 \pm 10.6\%$, prevalences of 24, 44, 46.7% were found in the three AA.HH (Defenders of the Family, Laderas Santa Cruz House, Chapel); males and females presented prevalences of 46.2 and 25%, respectively and according to age groups 0-6, >6-12, >12-72 and >72 months were 44.4, 36.4, 41, 9, 35%, respectively.

KEYWORDS: *Cryptosporidium* sp, ziehl-neelsen, canines

ÍNDICE

	Pag
DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
I.INTRODUCCIÓN	6
II. MARCO TEÓRICO	8
III.MATERIALES Y METODOS	20
IV.RESULTADOS	25
V.DISCUSIÓN	27
VI.CONCLUSIONES	29
VII.RECOMENDACIONES	30
VIII.BIBLIOGRAFIA	31
ANEXOS	36

I. INTRODUCCIÓN

La criptosporidiosis es una enfermedad parasitaria zoonótica de distribución cosmopolita, producida por protozoos del género *Cryptosporidium* sp que afectan a una gran variedad de reptiles, peces, aves y mamíferos, incluyendo al humano y canino (1).

Actualmente, *Cryptosporidium parvum* es la especie de mayor interés dentro del género, dado que se multiplica preferentemente en las células epiteliales del intestino delgado de los mamíferos, desencadenando un proceso diarreico agudo autolimitado en individuos inmunocompetentes, pudiendo persistir hasta la muerte del hospedador. Debido a su escasa especificidad, puede transmitirse al humano, mamíferos diversos (2).

La importancia de *Cryptosporidium* es el efecto directo, donde el paciente se deshidrata abruptamente, ya que pueden defecar hasta veinte veces al día, y no hay tratamiento solo fluidoterapia, por ende, es dependiente de la respuesta inmunitaria

El estudio se ha desarrollado en el distrito de Villa María del Triunfo para determinar la presencia de Criptosporidiosis en caninos de tres Asentamientos Humanos: (Vivienda Laderas de Santa Cruz, Capilla, Defensores de la Familia). En la zona de estudio no se reporta cual es la presencia de *Cryptosporidium* en caninos, considerado reservorio para la diseminación de la enfermedad que es perjudicial para los humanos.

Los humanos y caninos pueden presentar signos clínicos diarreicos que muchas veces no pueden ser tratados por las deficiencias nutricionales del paciente y de la mala salubridad que presentan los pobladores de la zona de estudio.

El estudio tuvo como objetivo estimar la prevalencia de oóquistes de *Cryptosporidium* sp. en caninos criados en tres AA.HH del Distrito de Villa María Del Triunfo, Con los resultados hallados se informara a los tres AA.HH. y al municipio para tomar las medidas de prevención y control, dado que los caninos fueron asintomáticos y actuarían como animales reservorio. Al determinar la presencia de Criptosporidiosis se puede dar pautas de prevención y control, que puedan ser tomadas a mediano y largo plazo en base a medidas higiénicas sanitarias que puedan asegurar la salud de los animales y el hombre.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 *Cryptosporidium* sp.

2.1.1 Generalidades

La Criptosporidiosis es una enfermedad parasitaria zoonótica de distribución cosmopolita producida por protozoos del genero *Cryptosporidium*, es poco específico para su hospedador, afectando al aparato digestivo y respiratorio de animales vertebrados, como: reptiles, peces, aves, y mamíferos; incluyendo los humanos y caninos (1), es causante de un proceso diarreico agudo auto limitado en individuos inmunocompetentes. (2).

2.1.2 Taxonomía

Phylum	Apicomplexa
Clase	Sporozoa
Subclase	Coccidia
Orden	Eucoccidiida
Suborden	Eimeriina
Familia	Cryptosporidiidae
Género	<i>Cryptosporidium</i> (3)

2.1.3 Características morfológicas

En cuanto a la morfología, *Cryptosporidium* mide entre 4 y 6 μm , presenta ooquistes pequeños de forma esférica u ovalada y contiene en su interior 4 esporozoítos periféricos, en forma de plátano y un cuerpo residual central. El ooquiste presenta una pared que puede ser fina o gruesa, lo cual se relaciona con diferentes vías de desarrollo esporogónico y de infección. La pared está compuesta por tres capas visibles al microscopio electrónico y presenta una línea de sutura por donde emergen los esporozoítos (4,5). ANEXO 1

Interior del ooquiste se puede observar el cuerpo residual que presenta elementos esenciales para la supervivencia del parásito, y en su interior se encuentran una vacuola lipídica característica, inclusiones proteicas, ribosomas, cito membranas y gránulos de amilopectina, los que proveen nutrición a los esporozoítos.(5).

La estructura de los zoítos (merozoítos y esporozoítos) solo se distinguen con el auxilio de la microscopia electrónica. Se trata de elementos de cuerpo oval alargado, con forma de coma, con el extremo apical afinado y el posterior redondeado. Los microtúbulos, situados lateralmente por debajo de la membrana plasmática o película, recorren longitudinalmente el cuerpo del zoíto.

Estos microtúbulos finalizan en sus extremos en unas estructuras anulares, el anillo polar anterior, muy próximo a su región apical, y el anillo polar posterior, cercano al extremo posterior del zoíto. Ellos permiten su desplazamiento y actúan durante el proceso de invasión.

El complejo apical, compuesto por organelas secretorias (robtrias, micronemas, gránulos densos) y componentes no vesiculares (conoide y microtúbulos subpeliculares). Las robtrias y los micronemas le permiten al zoíto adherirse e invadir la célula del hospedador e inducirla a envolver al parásito en la vacuola parasitófora. Las robtrias son organelas de aspecto piriforme, cuyo contenido se descarga durante la internalización del parásito (5,6).

2.1.4 Transmisión

Existen dos tipos de ooquistes, el ooquiste de pared gruesa responsable de la transmisión de un reservorio a otro y el ooquiste de pared delgada responsable de un ciclo de autoinfección en el hospedador infectado a través del reciclaje continuo de los esporozoítos.

Las infecciones cruzadas son frecuentes en el caso de *C. parvum*; y el hombre puede contraer la infección por contacto con las heces de otras personas, perros, gatos, rumiantes, cerdos, equinos (1,7). En humanos, se ha demostrado la transmisión entre miembros de la familia, entre parejas sexuales, en guarderías, y entre pacientes y personal sanitario en hospitales (8).

La transmisión indirecta por los alimentos (frutas, verduras, zumos de frutas, moluscos, leche incorrectamente pasteurizada, etc.) y el agua, contaminados con ooquistes, también deben considerarse; sobre todo desde el punto de vista de la salud pública. Siendo cada vez más frecuente los hallazgos de *Cryptosporidium* en aguas para consumo humano y su asociación con brotes de diarrea en la población inmunocompetente (9,10).

2.1.5 Ciclo de vida

El *Cryptosporidium* tiene un ciclo de vida típico de los coccidios, presentando las fases de: merogonia o esquizogonia, gametogonia y esporogonia. La esporulación tiene lugar en el hospedador, además sus etapas de desarrollo (sexual y asexual) se completan dentro del tracto gastrointestinal de un único hospedador (monoxéno) (11).ANEXO 2.

El ciclo comienza una vez que el hospedador ingiere los ooquistes que se encuentran en el ambiente, que contienen cuatro esporozoítos, los cuales escapan a través de una fisura que se abre en la pared del ooquiste, a nivel del tracto gastrointestinal del hospedador. Al parecer las fluctuaciones de pH en el tracto gastrointestinal, las sales

biliares, la tripsina (enzima pancreática) y la temperatura corporal (en torno a 37°C) favorecen el desenquistamiento, probablemente, a causa del aumento de la permeabilidad de la pared del ooquiste, la movilidad de los esporozoítos dentro del ooquiste y la consecuente exposición de receptores (12).

Una vez liberados, los esporozoítos alcanzan el borde luminal de los enterocitos (las micro vellosidades del intestino delgado), mediante movimientos de contracción extensión y deslizamiento, luego se adhiere a receptores de la membrana apical de la célula del hospedador. Este proceso induce la reorganización del citoesqueleto de actina y la protrusión de la membrana de la célula del hospedador, alrededor del esporozoíto a manera de “dedo de guante”, para formar una vacuola parasitófora, donde el microorganismo permanece en posición intracelular pero extracitoplasmática. Dentro de la vacuola, el parásito se redondea transformándose en un trofozoíto y comienza un ciclo de multiplicación asexual (merogonia o esquizogonia) y luego continúa con una multiplicación sexual (gametogonia).

Durante el ciclo de proliferación asexual se forman merontes TIPO I de los cuales emergen 8 merozoítos, que se liberan a la luz intestinal tras la ruptura de la vacuola parasitófora y penetran en las células adyacentes. Los merozoítos del tipo I pueden generar nuevas merogonias de primera generación o formar merontes del tipo II, que contienen 4 merozoítos. La reproducción sexuada o gametogonia se inicia cuando estos últimos parasitan nuevas células dando lugar a la formación de macrogamontes, que luego se transforma en gametos femenino o macrogametos y unos pocos se transforman en microgametos, que contienen 16 microgametos en su interior (13,14).

Los macrogametos poseen cuerpos formadores de la pared en la periferia, mientras que los microgametos carecen de flagelo y se dirigen hacia los macrogametos siguiendo el flujo intestinal o mediante la contracción y extensión de los microtúbulos intracitoplasmáticos. La fertilización se acompaña de la penetración del microgameto, a través de la vacuola parasitófora y de la membrana del microgameto. Luego se inicia el proceso de esporogonia mediante dos divisiones asexuales del cigoto, formando un ooquiste que contiene cuatro esporozoítos infectivos (12).

La formación de la pared del ooquiste acontece antes que la esporulación (formación de 4 esporozoítos) donde el 80% de los ooquistes presenta una doble cubierta (se denomina ooquiste de pared gruesa), constituyendo las formas de resistencia que encontramos en el ambiente y cuando se eliminan con las heces son directamente infectantes. Los ooquistes de pared fina (20%) están rodeados de una sola unidad de membrana y son los responsables de la autoinfección; su pared, relativamente débil. Estos liberan los esporozoítos en la luz intestinal y pueden ingresar en nuevos enterocitos, reiniciándose el ciclo de merogonia, gametogonia y esporogonia produciéndose la autoinfección endógena, que permiten la persistencia de la infección (9).

Si bien se asume que la localización normal en un hospedador inmunocompetente es el tracto gastrointestinal, en individuos inmunodeprimidos se han descrito fases extraintestinales en vías aéreas (bronco pulmonar), árbol biliar, hígado, vejiga y páncreas (12).

2.1.6 Signos clínicos

a) Animales

En los animales el principal signo clínico es la diarrea, asociada a la excreción de un gran número de ooquistes en las heces (9). En condiciones naturales, la mayoría de los animales se infectan durante los primeros días de vida, por lo que los brotes de la enfermedad se manifiestan durante el periodo neonatal (15). Generalmente en rumiantes se presenta diarrea, tenesmo, anorexia, pérdida de peso, dolor abdominal, fiebre, depresión y deshidratación (16).

En perros, la infección suele ser asintomática, en algunos casos pueden aparecer cuadros diarreicos. El color de las heces suele ser amarillento y no es frecuente la presencia de sangre. Se ha descrito asociado con condiciones de estrés e inmunodeficiencias, como: el moquillo canino, parvovirus, linfoma gastrointestinal; así

como asociado a virus entéricos (*Rotavirus*), bacterias (*Campylobacter*, *Salmonella*) y otros protozoos (*Giardia*) (9,17).

b) Humanos

La duración y severidad de los síntomas clínicos son variables y dependen en gran parte de la edad y del estado inmunológico de la persona infectada (12,18).

En individuos inmunocompetentes la criptosporidiosis es asintomática o cursan como una enfermedad autolimitante, caracterizada por diarrea acuosa, profusa y de mal olor. Los síntomas comienzan explosivamente uno o dos semanas de la infección, pueden ser intermitentes y durar entre 8-20 o hasta 30 días. A menudo hay dolor abdominal, náuseas, vómito, anorexia, fiebre leve de menos de 39°C y pérdida de peso, además la importante pérdida de fluidos puede provocar una deshidratación intensa. (1).

En las personas inmunodeficientes (ejemplo: con infecciones virales como sarampión y SIDA; en pacientes con cáncer, transplantados con tratamiento inmunosupresor, con malnutrición u otras enfermedades que afectan el sistema inmunológico) (19); los síntomas son más severos, con diarrea acuosas, profusa y con una frecuencia de 50 o más deposiciones y pérdidas de hasta 25 litros de agua por día (1).

2.1.7 Factores Epidemiológicos

2.1.7.1 Asociados al Parásito

a) Resistencia de los ooquistes

Los ooquistes de *Cryptosporidium* son infectantes desde el momento de ser excretados con las heces y están perfectamente adaptados para la supervivencia en el medio ambiente, siendo muy resistente a las condiciones variables de éste, con la única excepción de la desecación y la congelación; pudiendo conservar su infectividad durante 2-6 meses a 4°C (9).

Además estudios realizados en laboratorios han demostrado que muchos ooquistes se mantienen viables en soluciones acuosas entre 3 y 6 meses a temperatura ambiente (15-20°C), a -15°C algunos ooquistes pueden mantenerse infectantes hasta 7 días y se precisan temperaturas de -20°C y - 70°C durante 8 y 1 hora, y a 70° 1 minuto, 71.7°C 15 segundos, también asegura su destrucción, al igual que la desecación durante 4 horas. Por este motivo, las condiciones higiénicas deficientes también son el origen de numerosos brotes (15).

b) Dosis infectante

La infección no es dependiente de la dosis infectante, sin embargo, el periodo de prepatencia se alarga en infecciones experimentales con dosis bajas. La dosis mínima infectante en corderos puede ser un solo ooquiste (9), mientras que en primates la dosis infectiva puede ser de 10 ooquistes y en humanos se reporta en adultos voluntarios sanos, la dosis infectiva media es de 132 ooquistes, aunque algunas personas pueden ya infectarse con tan solo uno a 10 ooquistes (20).

2.1.7.2 Asociados al Hospedador

a) Especie

La mayoría de las especies de *Cryptosporidium* tiene algo de especificidad al hospedador, pero no son estrictamente de acogida específica. Por ejemplo, *Cryptosporidium parvum* tiene una escasa especificidad de hospedador, por ello puede transmitirse indistintamente entre humanos, rumiantes, llama, guanaco, alpaca, perros, gatos, cerdos, roedores y otros mamíferos; siendo reportado en 155 especies de mamíferos, los seres humanos son los hospedadores primarios de *C. hominis* (4).

b) Edad

La criptosporidiosis en el hombre es frecuente entre todos los grupos de edad, aunque los niños pequeños parecen ser más susceptibles a la infección, probablemente debido

al mayor riesgo de transmisión fecal-oral, a la relativa inmadurez inmunológica y a la falta de inmunidad por exposición previa (6).

Presentándose también en todas las especies domésticas, en especial en los animales muy jóvenes, que todavía están en periodo de lactación; estos son más susceptibles a la infección y a la enfermedad, que los adultos. En terneros, la infección aparece en las tres primeras semanas de vida (1).

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, frente a la infección, disminuyendo el periodo de duración de la diarrea y la eliminación de ooquistes (9).

c) Estado inmunitario

Se han descrito en animales de compañía, generalmente asociados a estados de inmunosupresión como el moquillo canino, parvovirus en perros; así como linfoma gastrointestinal (9).

La gravedad de la enfermedad depende de la capacidad inmunitaria del hospedador. La criptosporidiosis en el hombre es frecuente en individuos inmunocompetentes, con un proceso diarreico agudo auto limitado, como inmunodeprimidos (6), en estos últimos los síntomas son más severos pudiendo persistir hasta la defunción del enfermo, presumiblemente debido a la fuerte autoinfección (21).

En un estudio realizado en 217 pacientes con VIH-SIDA y diarrea, que acudiendo al Hospital Nacional Cayetano Heredia, y cuyas edades estaban entre 15-68 años, encontraron que la parasitosis más prevalente fue la criptosporidiosis (18.9%), hallazgo que coincide con lo descrito en la literatura mundial (22).

2.1.7.3 Asociados al Medio Ambiente

La transmisión de la criptosporidiosis se produce por ingestión de ooquistes eliminados previamente con las heces de otros animales parasitados que contaminan el medio ambiente. En los rumiantes domésticos, durante el periodo de máxima eliminación, los neonatos infectados pueden excretar entre 10^6 - 10^7 ooquistes por gramo de heces, mientras que los corderos y cabritos parasitados pueden eliminar en torno a 10^{10} ooquistes durante todo el periodo de patencia. Por ello la incidencia de nuevos casos es superior al final de la época de partos, como consecuencia de la contaminación progresiva de la explotación a lo largo de la paridera, por el gran número de nacimientos que ocasionando con frecuencia el hacinamiento de los animales y las condiciones higiénicas deficientes, se consideran factores de riesgo (9, 15).

Además que en ambientes moderadamente fríos y húmedos, los ooquistes probablemente sobreviven por varios meses; pues son muy resistentes a las condiciones ambientales, entre 30 y 600 veces más que los quistes de *Giardia sp* (16). También se encuentra presente en el agua de ríos, lagos, parques acuáticos, incluso en aguas para consumo humano si es que no tiene un buen procesamiento en la planta de potabilización (10).

2.1.8 Diagnostico

2.1.8.1 Pruebas Directas

En este grupo están incluidas: la técnica de flotación, (Ziehl-Neelse) modificada y las histopatológicas.

Técnica de Flotación con solución de sulfato de zinc

Es una técnica donde se obtienen datos cualitativos, presentando una densidad de 1,18. Igualmente es recomendado debido a que favorece la concentración de quistes

de protozoarios los cuales no sufren distorsiones en sus estructuras. Si no se contara con el reactivo otra alternativa es la solución de Sheather pero menos confiable.

c).Técnica de tinción.- Ziehl- Neelsen Modificada

Se basa en las propiedades de ácido-resistencia del parásito. Se considera la más óptima porque demuestra 100% de especificidad y 86,9% de sensibilidad. Adicionalmente es una técnica sencilla, segura, confiable, fácil de leer, ofreciendo buen contraste de coloración entre el ooquiste, levaduras y material fecal. Apreciándose los ooquistes de color rojo o fucsia, con algunos granulomas oscuros en su interior, que contrastan con el fondo verde o azul. Además pueden utilizar la tinción de Giemsa o Heine (23).

2.1.8.2 Pruebas Indirectas

Dentro de las técnicas inmunodiagnósticas se encuentran la aglutinación en latex, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizando anticuerpos policlonales o monoclonales y ELISA de inmunocaptura de antígenos parasitarios en heces (3). Estas técnicas se han aplicado con el propósito de mejorar la calidad del diagnóstico. El método de mayor confiabilidad se reporta a la técnica de IFI con una sensibilidad de 78,3% al comparar con la técnica de Ziehl-Neelsen que reporta un 86,9% (24).y entre otras pruebas inmunológicas tenemos: Inmunoanálisis enzimático (ELISA), Diagnóstico molecular (PCR).

2.1.9 Tratamiento Prevención y Control

A pesar del elevado número de antibióticos o antiprotozoarios que se han evaluado, en la actualidad no se dispone de un fármaco que sea realmente eficaz para el tratamiento de la criptosporidiosis en animales y humanos (15).

En un estudio realizado en tres caninos donde usaron un tratamiento con azitromicina a una dosis de 7 mg/kg/12 horas, durante siete días y posterior al tratamiento se realizó nuevamente el análisis coproparasitológico con la técnica de flotación (metodo Faust o de sulfato de Zinc 33%), en donde todos los casos el resultado fue negativo, por lo que puede considerarse una alternativa terapéutica para esta enfermedad (25) y se instaura el tratamiento de soporte con líquidos intravenosos cuando sea necesario (17).

La nitazoxanida otro quimioterápico utilizado en el tratamiento de la criptosporidiosis intestinal, el cual está aprobada para uso en niños y adultos inmunocompetentes; la dosis recomendada es de 100 mg (5ml) para los niños entre 12 y 47 meses, 200mg (10ml) para aquellos entre 4 y 11 años y 500 mg para los niños mayores de 12 años y adultos, en los tres casos cada 12 horas durante 3 días (26).

Debido a la ausencia de fármacos realmente eficaces en el tratamiento de la criptosporidiosis, las medidas higiénicas y de manejo constituyen la herramienta de prevención y control más eficaz, con el fin de destruir los ooquistes presentes en el medio de reducir la transmisión de la enfermedad a los animales durante las primeras semanas de vida (15).

Se debe evaluar las heces de todos los perros con diarreas de intestino delgado persistentes para evaluar la presencia de ooquistes de *C. parvum*, para prevenir la infección accidental, ya que, la criptosporidiosis es una enfermedad zoonótica con casos descritos de transmisión de perros a seres humanos; particularmente si en el mismo ambiente reside una persona inmunodeficiente o niños de corta edad (dos años), donde los síntomas se presentan en forma más severa. La forma más eficaz de prevención es evitar la exposición (27).

En el hombre se deben tomar precauciones, para prevenir el contagio evitando el contacto directo con las heces de una persona infectada con criptosporidiosis (19). Lavarse las manos con agua corriente y jabón antes de comer, preparar alimentos, atender niños o pacientes inmunodeficientes y si se ha tocado a nuestra mascota. También se debe evitar la ingesta de agua directamente de ríos, lagos o manantiales, así como tomar en forma accidental aguas de áreas de recreación como piscinas, por ello se recomienda beber agua preparada para el consumo o hervir el agua, por lo menos durante un minuto de ser bebida (26).

Así como medidas de control mediante desinfección, para eliminar la infectividad de los ooquistes Para ello se necesita 30 minutos de exposición con formalina al 10%, amoníaco al 50% o hipoclorito de sodio comercial al 70%; de 5-10 minutos a temperatura ambiente (9).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Espacio y Tiempo

El estudio se llevó a cabo en canes domésticos, aparentemente sanos, cuyos propietarios pertenecieron a tres Asentamientos Humanos: Vivienda Laderas de Santa Cruz, Capilla y Defensores de la Familia del Distrito de Villa María del Triunfo del departamento de Lima. El estudio se llevó a cabo entre febrero y marzo de 2016.

El distrito de Villa María del Triunfo es uno de los distritos más grandes del Perú con aproximadamente 370 mil habitantes y 280 asentamientos humanos. Tiene una extensión territorial de 70.50 km². Su clima es templado y seco. Los muestreos fueron realizados en los Asentamientos Humanos de zonas rurales, conformado por personas de escasos recursos económicos, agua potable y saneamiento.

3.2 Tamaño de Muestra

El tamaño de la muestra fue determinado mediante la fórmula para estimación de una proporción, de poblaciones infinitas (28) y utilizando una prevalencia referencial de 26,8% (29), llegando a recolectar 80 muestras de caninos mestizos de diferente edad, que comprendieron de 1 mes a 12 años, entre hembras y machos; cuyos propietarios residían en los AAHH antes mencionados. Luego se programó campañas sanitarias (desparasitación para endo y ecto parásitos), Los muestreos fueron realizados los fines de semana en horas de 9 am a 1 pm, se trabajo con muestras fecales de caninos mestizos.

$$n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{(e)^2} = 75,36$$

Dónde:

$z=1,96$ (95% de nivel de confianza)

$p= 0.268$ ($p=26.8\%$) (29)

$q=0.732$ (complemento de la prevalencia referencial)

$e=0,1$ (error máximo admisible)

3.3 Diseño de Investigación

El estudio es de tipo no experimental con diseño descriptivo y de corte transversal. La obtención de muestra se coordinó con los presidentes o delegados de cada (AAHH)., las variables de carácter cualitativo fueron agrupadas en categorías para su análisis. Se evaluó el sexo (macho, hembra), edad (0 a 6, >6 a 12, >12 a 72, >72 meses) y lugar de procedencia de la muestra AA.HH (Defensores de la Familia, Vivienda Laderas de Santa Cruz, Capilla).

3.4 Equipos y Procedimientos

Para motivar la colaboración de la comunidad en la toma de muestras, se realizó campañas de desparasitación. Otorgándose a los propietarios de los caninos domésticos envases de plástico (200 ml), de boca ancha con tapa rosca, La muestra fue obtenida directamente del recto, indicando al propietario que recolecte una cantidad de 10 gramos de heces aproximadamente (30); entregándose a cambio una dosis de antiparasitario para sus mascotas.

Se recolecto una sola muestra coprológica por participante, las cuales fueron rotuladas indicándose procedencia, numero de muestra, edad y sexo, siendo transportadas en cajas térmicas con geles refrigerantes al laboratorio central de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Alas Peruanas. Dónde se realizó los frotices fecales, y se dejaron secar al medio ambiente, para luego ser fijadas en metanol durante 5 minutos en vaso koplín posteriormente fueron teñidas mediante la técnica de tinción para organismos ácido-resistentes Ziehl-Neelsen Modificada (*Cryptosporidium sp.*), según técnicas descritas (31). Los reactivos se prepararon según protocolos establecidos (29,32).

3.5 Análisis coprológico de las muestras

Tinción de Ziehl-Neelsen Modificada: Permite observar ooquistes de *Cryptosporidium sp* (31).

A. Reactivos:

a). Fucsina Básica Fenicada

Se disolvió 3 g de fucsina básica en 100 ml de alcohol de 95°, luego se agregó 55 ml de fenol líquido, se agito y agrego agua destilada hasta completar 1 litro. Se dejó reposar por 24 horas, para después filtrar con papel filtro n 1, antes de ser usada.

b). Verde Malaquita

Se disolvió 5 g de verde malaquita en 100 ml de agua destilada, se dejó reposar por 24 horas, luego se filtró antes de ser usada.

c) Ácido Sulfúrico al 2%

Con la pipeta se dejó escurrir 2 ml de ácido sulfúrico por las paredes del matraz, que contiene 98 ml de alcohol de 70° grados y luego homogenizar la mezcla.

B. Procedimiento:

- Se hizo una extensión o frotis fecal sobre un portaobjeto y dejar secar.
- Se fijó en metanol absoluto por 5 minutos y dejar secar.
- Teñir el frotis con fucsina básica fenicada durante 20 minutos y lavar enseguida con agua destilada.
- Se decolora con ácido sulfúrico al 2% durante 20 segundos para luego ser lavadas con agua destilada.
- Teñir con solución verde malaquita durante 5 minutos, luego lavar con agua destilada y dejar secar al medio ambiente.
- Se colocó 1 gota de aceite inmersión y cubrir con un cubre objeto.
- Se observó al microscopio de luz a un aumento de 400X y 1000X en inmersión.

C. Lectura de Láminas:

- Antes de comenzar la lectura de las láminas, se colocó una gota de aceite de inmersión y cubrir con un cubre objeto.
- La lectura se realizó con un microscopio de luz modelo (LEICA DM 750), previamente calibrado.
- Primero se observó con un aumento de 400X para la ubicación del parásito.
- Luego se usó el aumento de 1000X para identificar y confirmar las muestras positivas, empleando un ocular micrométrico para la medición de los ooquistes.

Se consideró como muestra positiva aquella que presentaban ooquistes de forma oscuras en su interior, estas últimas constituyen un cuerpo residual grande, que se ve como una mancha refringente; contrastando con un fondo verde y que estuvieran

dentro del rango de 3 a 6 μm ver ANEXO 4. Se diferenci6 de las levaduras que adquieren coloraciones similares, diferenci6ndose de los ooquistes por sus caracter6sticas morfol6gicas tintoriales, diversidad de tama1o y la tinci6n homog6nea que presentan. Para ello se us6 una l6mina patr6n proporcionada por el INS (Instituto nacional de salud) y el apoyo de personal capacitado.

3.6 An6lisis Estad6stico

Las variables de car6cter cualitativo fueron agrupadas en categor6as para su an6lisis. Estas son: sexo (macho, hembra), edad (en categor6as), lugar de procedencia de la muestra. La frecuencia de parasitosis se expres6 en forma porcentual de acuerdo a los resultados parasitol6gicos, con sus respectivos intervalos de confianza del 95%. Las posibles asociaciones de *Cryptosporidium* sp con edad, sexo y localidad se analizaron mediante la prueba de Chi cuadrado.

Para estimar la prevalencia se utiliz6 la siguiente formula (36).

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

Los resultados fueron expresados con un intervalo de confianza del 95% utilizando la f6rmula:

$$IC = P \pm Z\sqrt{(pq)/n}$$

D6nde: P= Prevalencia

q= 1-p

.....z= 95% de nivel de confianza (1,96).

.....n= Tama1o muestral

IV. RESULTADOS

De un total de 80 muestras fecales analizadas, se encontraron 31 muestras de caninos que resultaron positivas a *Cryptosporidium* sp. mediante la técnica de Ziehl - Neelsen modificada, obteniendo una prevalencia general de 38,8% con intervalo de confianza total que va desde 28,1-49,5. Según el tipo de AA.HH: Defensores de la Familia, Vivienda Ladera Santa Cruz y Capilla del Distrito de Villa María del Triunfo, donde se encontraron prevalencias de 24%, 44% y 46,7%; respectivamente. Y con la variable sexo de un total de 52 muestras pertenecieron a los machos y 28 pertenecieron a las hembras, hallándose prevalencias del 46,2 y el 25% respectivamente. De acuerdo a la edad, menores de seis meses, más de seis a doce meses, mayor un año hasta seis años y más de seis años, se hallaron positivas el 44,4,% 36,4%, 41,9%, y 30%, respectivamente.

Cuadro 1: Prevalencia de *Cryptosporidium* sp. en caninos , según AA.HH, sexo y edad, del distrito de Villa María del Triunfo, mediante la tinción de Ziehl-Neelsen modificada (febrero-marzo, 2016).

	VARIABLES	Nº Muestras	Nº Positivas	% ± IC
AA.HH	Defensores de la Familia	25	6	24
	Vivienda Laderas de Santa Cruz	25	11	44
	Capilla	30	14	46,7
Sexo	Macho	52	24	46,2
	Hembra	28	7	25
Edad (meses)	0-6	18	8	44,4
	>6-12	11	4	36,4
	>12-72	31	13	41,9
	>72	20	6	30
	TOTAL	80	31	38,8±10,7

Cuadro 2.- Valor de “p” Chi cuadrado asociación entre dos variables sexo de animales procedentes de tres AA.HH del Distrito de Villa María del Triunfo.

	C1	C2	Total
MACHO 1	24 20.15	28 31.85	52
HEMBRA 2	7 10.85	21 17.15	28
Total	31	49	80

$$\chi^2 \text{ cal} = 0.736 + 0.465 + 1.366 + 0.864 = 3.431$$

P-Value = 0.064

V. DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó la prevalencia de *Cryptosporidium* sp., en un 38,8% de las muestras, con un intervalo de confianza que va desde 28,1 a 49,5% (cuadro 2) en caninos de los tres AA.HH: Defensores de la Familia, Vivienda Ladera Santa Cruz y Capilla, del Distrito de Villa María del Triunfo. Estos resultados son similares a los estudios realizados en Lima Metropolitana por Romero en el 2014, (39) donde obtuvo una prevalencia de 25,4% de 185 perros, y Sotelo 2013 (44) con una prevalencia de 29,7% de 300 muestras fecales de perros aparentemente sanos. En ambos estudios los caninos fueron de ambos sexos, diversas razas y con edades entre 1 mes a 12 años. Los autores mencionados determinan que *Cryptosporidium* estaría en forma latente y asociado a los factores de riesgo como: el ambiente, respuesta inmunitaria, ya que estaría presente en poblaciones susceptibles relacionado al nivel socioeconómico; por la falta de agua, bajas condiciones sanitarias, conllevando a mala higiene personal, consumo de alimentos contaminados, vivir en hacinamiento por parte del hombre y todo esto también repercute en los animales. Estos factores también estarían presentes para la investigación.

Sin embargo, prevalencias mayores fueron encontradas en el estudio de Celis (38) realizado en el departamento de Junín donde halló un 92,59% de *Cryptosporidium* en una zona rural, el sustenta que el riesgo de adquirir esta parasitosis se incrementa en la población canina procedente de familias de bajo nivel socio económico, predisponiendo al animal a tener una mala nutrición; aunado a la falta de servicios de agua y desagüe.

Con respecto al sexo en la presentación de *Cryptosporidium* sp., los resultados hallados fueron para los machos de 46,2% y para las hembra 25%. Según Ortega (9),

los caninos de ambos sexos tienen las mismas oportunidades de infección, en un ambiente insalubre con la presencia de aguas no tratadas y animales portadores (9). Sin embargo, los resultados obtenidos al realizar la prueba de Chi-Cuadrado fueron de $P=0,064$, lo que nos indica que la variable sexo estaría asociada con la presencia del *Cryptosporidium*, donde los machos tienen mayor predisposición a presentar *Cryptosporidium*. Estos resultados se pueden relacionar a lo señalado por Romero (29), donde mencionan que en zonas marginales los machos son los que deambulan libres en las calles, mientras que las hembras salen menos para disminuir la preñez.

Con respecto a la influencia de la edad en la presentación de *Cryptosporidium* sp, la mayor tasa de prevalencia en animales menores de un año fue de 44,4% y la prevalencia en animales mayores de 72 meses fue 35%, podría ser explicada por la mayor susceptibilidad de los animales jóvenes ante un pobre desarrollo inmunológico (9, 1), así como la baja capacidad de respuesta inmune en animales geriátricos (3); sin embargo, otros estudios no han encontrado una relación significativa entre edad y el hallazgo de *Cryptosporidium* sp en heces (38, 39). Pero También se observó en animales mayores de 6 meses hasta 72 meses con un porcentaje de 44.4% a 35%, lo que dice que todos los animales sin importar edad estarían predispuestos a adquirir la parasitosis, y esto lo menciona Cordero y Ortega (3, 9). Además, se debe de considerar que estos animales vienen de zonas de pobladores con deficiencias económicas, y los caninos podrían estar desnutridos, y se observó que los caninos presentaban baja condición corporal, lo que podría conllevar a que su sistema inmunológico este comprometido.

VI. CONCLUSIONES

La prevalencia general de *Cryptosporidium* sp. fue de 38,8%, en caninos aparentemente sanos con un intervalo de confianza del 28,1 al 49,5% en los tres asentamientos humanos: Defensores de la familia, Vivienda Laderas de Santa Cruz, y Capilla, pertenecientes al Distrito Villa María del Triunfo del departamento de Lima.

Se encontró una asociación significativa entre la presencia de *Cryptosporidium* sp con la variable sexo (valor $P = 0,064$), donde los machos tendrían mayor predisposición a contraer la parasitosis.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios con la población humana, para evaluar el riesgo zoonótico.
- Realizar el estudio con otras pruebas de laboratorio que corroboren la presencia de *Cryptosporidium parvum* el único con carácter zoonótico.
- Difundir los resultados a las autoridades correspondientes para prevenir la parasitosis en la población humana y animal.
- Mejorar las condiciones de saneamiento ambiental y capacitar a la población de la importancia de las medidas básicas de higiene, mediante charlas educativas dirigidas a la comunidad.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRFICAS

1. Acha PN, Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3º ed. Washington: OPS. 398 p.
2. Pérez-Cordón G, Rosales-Lombardo MJ, Sánchez-Moreno M. 2005. Procesamiento de muestras fecales en el estudio de *Cryptosporidium sp.* mediante PCR. Rev. Perú. Biol. 12(1): 158-160.
3. Cordero del Campillo M, Rojo Vasquez FA, Martinez AR, Sanchez MC. Parasitología veterinaria. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 968p.
4. Fayer R. 2004. *Cryptosporidium*: a wáter-borne zoonotic parasite. Veterinary Parasitology 126:37-56.
5. Del Coco VF, córdoba MA, Basualdo JA. 2009. Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. Rev Argent Microbio 41: 185-196.
6. Gallego J. 2007. Manual de parasitología. Morfología y Biología de los parásitos de interés sanitario. 2 a ed. Barcelona: UB. 516 p.
7. Barr SC. 2000. Criptosporidiosis y ciclosporiasis. En: Greene CE, ed. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. México: Graw Hill Interamericana. P 570-576.
8. Rodriguez JC, Royo G. 2001. *Cryptosporidium* y Criptosporidiosis. Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Elche (Alicante). España.(Internet), (11 marzo 2009). Disponible en: <http://www.seimc.org/control/reviPara/pdf/crypto.pdf>

9. Ortega ML, Gómez M, Rojo FA. 1999. Criptosporidiosis. En: Cordero del Campillo M, Rojo FA, Martínez AR, Sánchez MC, Hernández S, Navarrete I, Díez P, Quiroz H, Carvalho M. eds. Parasitología Veterinaria. Madrid: Mc. Graw Hill Interamericana, 968 p.
10. Vergara C, Quilez J. 2004. Criptosporidiosis: Una zoonosis parasitaria. MVZ-Córdoba 9(1):363-372.
11. Jubb PC, Kennedy NP. 1990. Patología de los animales domésticos. 3 er ed. Montevideo: Agropecuaria Hemisferio Sur. 571 p.
12. Lujan N, Garbossa G. 2008. *Cryptosporidium*: cien años después. Acta Bioquim Clin Latinoam 42(2): 195-201.
13. Sánchez Acedo C, Quilez J, Del Cacho E, Gallego M, López F, Estrada A. 2009. Diarreas neonatales de los pequeños rumiantes: Criptosporidiosis. Sociedad española de ovinotecnia y caprinotecnia 10(1):23-29.
14. Smith HV, Nichols RAB, Grimason AM. 2005. *Cryptosporidium* excystation and invasión: getting to the guts of the matter. Trends Parasitol 21: 133-42.
15. Quilez J, Sánchez-Acedo C, Del Cacho E. 2003. Criptosporidiosis de los pequeños rumiantes. Sociedad española de ovinotecnia y caprinotecnia 4(2):22-30.
16. Barriga O. 2002. Las enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos en la América Latina. Santiago: Germinal. 247 p.
17. Morgan RV, Bright RM, Swartout MS. 2003. Clínica de pequeños animales. 4 a ed. Madrid: Elsevier. 1189 p.

18. Chen XM, Keithly JS, Paya CV, La Russo NF. 2002. Criptosporidiosis. N Engl J Med 346:1723-31.
19. López-Vélez R, Martín Echavarría E, Pérez Molina JA. 2008. Guía de enfermedades infecciosas importadas Madrid: Ministerio de sanidad y consumo. 210p.
20. Steiner TS, Pape JW, Guerrant RL. 2002. Infecciones intestinales por coccidios. En: Guerrant RL, Walker, DH, Weller, PF. Eds. Enfermedades infecciosas tropicales. Madrid: Elsevier. P 353-359.
21. Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jenmngs FW. 2001. Parasitología Veterinaria. 2 a ed. Zaragoza: Acriba. 335 p.
22. García C, Rodríguez E, Do N, López de castilla D, Terashima A, Gotuzzo E. 2006. Parasitosis intestinal en el paciente con infección VIH-SIDA. Rev Gastroenterol 26:21-24.
23. Current W, Garcia L. Cryptosporidiosis. Clin. Microbiol Rev. ,1991;4(3):225-258.
24. Atias A. 1994. Parasitologia clínica 3 er ed. Chile: Publicacion Tecnicas Mediterraneo, 618 p.
25. Hernández Avalos I, Ruiz Cervantes JG, Miranda Cortes AE, González García RJ, Castillejos Méndez I. 2008. Valoración del efecto de un macrólido en cuatro casos clínicos afectados por *Cryptosporidium sp.* Revista AMMVEPE 19(5):119-123.
26. De la Parte-Pérez MA, Bruzual E, Brito A, Hurtado M. 2005. *Cryptosporidium spp.* y Criptosporidiosis. Rev Soc Ven Microbiol 25(1):06-14.

27. Nelson RW, Couto CG. 2006. Manual de medicina interna de pequeños animales. Madrid: Elsevier. 912 p.
28. Daniel D. 1996. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 5ª ed. México: Limusa. 1996; 878p.
29. Romero M, Chávez A, Casas E. 2000. Determinación de la presencia de *Cryptosporidium parvum* y *Cyclospora sp.* en caninos domésticos (*Canis familiaris*) en los distritos de Lima Metropolitana. Rev Inv Vet Perú 11:26-31.
30. Beltrán M, Tello R, Naquira C. 2003. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Lima: Ministerio de Salud, INS. 90p.
31. Rojas M. 2004. Nosoparasitismo de los rumiantes domésticos peruanos. 2º ed. Lima: UNMS. 146 p.
32. Ministerio de Salud. 1999. Procedimientos de Laboratorio. INS. Perú: Amarilys. 474 p.
33. Dabanch PJ. 2003. Zoonosis. Rev Chil infectol 20 (Supp1.1):47-51.
34. Botero D, Restrepo M. 2006. Parasitosis humanas. 4 a ed. Colombia: CBI. 506 p.
35. Devera R, Angulo V, Amaro E, Finali M, Franceschi G, Blanco Y, Tedesco RM, Requena I, Velásquez V. 2006. Parásitos intestinales en habitantes de una comunidad rural del Estado Bolívar, Venezuela. Rev Biomed 17:259-268.
36. Pagano M, Gauvreau K. 2001. Fundamentos de la bioestadística 2º ed Mexico: Thomson Learning. 525p.

37. Minaya Paula. 2016. Identificación y frecuencia *Cryptosporidium sp.* en canes de la Sais Tupac Amaru en el distrito de Canchaylo, Jauja-Junin. Tesis de Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
38. Celis NN. 2015. Criptosporidiasis en caninos criados en comunidades campesinas de tres distritos del departamento de Puno. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ Nacional Mayor de San Marcos. 48p.
39. Romero 2014. Determinación de la presencia de *Cryptosporidium parvum* y *Cyclospora sp.* en caninos domésticos (*Canis familiaris*) en los distritos de Lima Metropolitana. Tesis de Médico Veterinario: Universidad Mayor de San Marcos 55p.
40. Gorman T, Soto A, Alcalino H. 2006. Parasitismo gastrointestinal en perros de comunas de Santiago de diferente nivel socioeconómico *Parasitol Latinoam* 61:126-1429.
41. Lallo MA, Bondan EF. 2006. Prevalencia de *Cryptosporidium spp.* en canes de instituciones de ciudad de Sao Paulo. *Rev Saude Publ, Sao Paulo* 1(2):20-22.
42. Robertson Lj, Gjerde B. 2001. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw waters in Norway. *Scand J Public Hlth* 29:200-207.
43. Ochoa Y. 2014. Estimación de la población de perros callejeros en los distritos de Los Olivos, Lima, Perú. *Rev Inv Vet Perú* 2014; 25(3): 366-373.
44. Sotelo H, Chavez, A, Casas E, Pinedo R, Falcon N. 2013. Giardiasis y criptosporidiasis en caninos de los distritos del cono oeste de Lima Metropolitana. *Rev Inv Vet Peru* 24:353-359. Doi:10.1538/rivep.v24i3.2584

ANEXOS 1

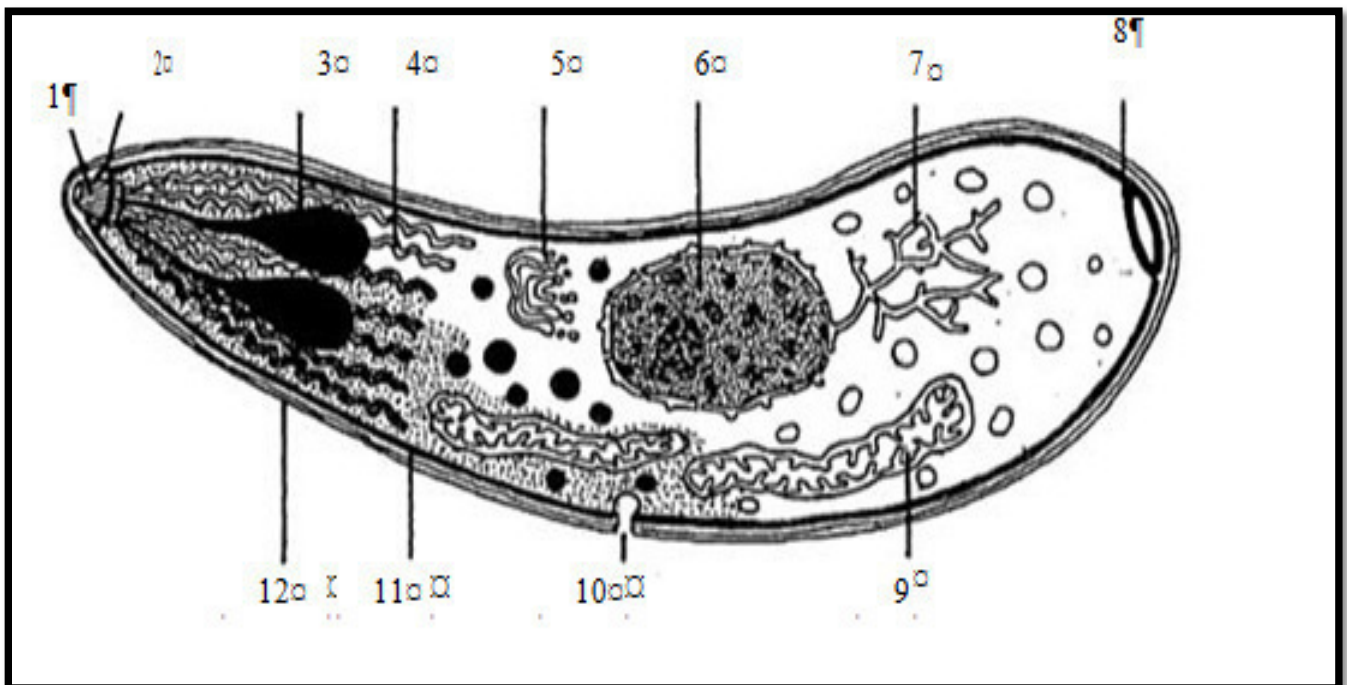


Figura 1. Morfología al M.E. de in zoíto. 1. Conoide, 2. Anillo polar anterior, 3. Robtria, 4. Micronemas, 5. Aparato de Golgi, 6. Núcleo, 7. Retículo endoplásmico, 8. Anillo polar posterior, 9. Mitocondria, 10. Microporo, 11. Microtúbulos subpeliculares y 12. Película.

Fuente: Barriga: 2002 (16).

Anexo 2

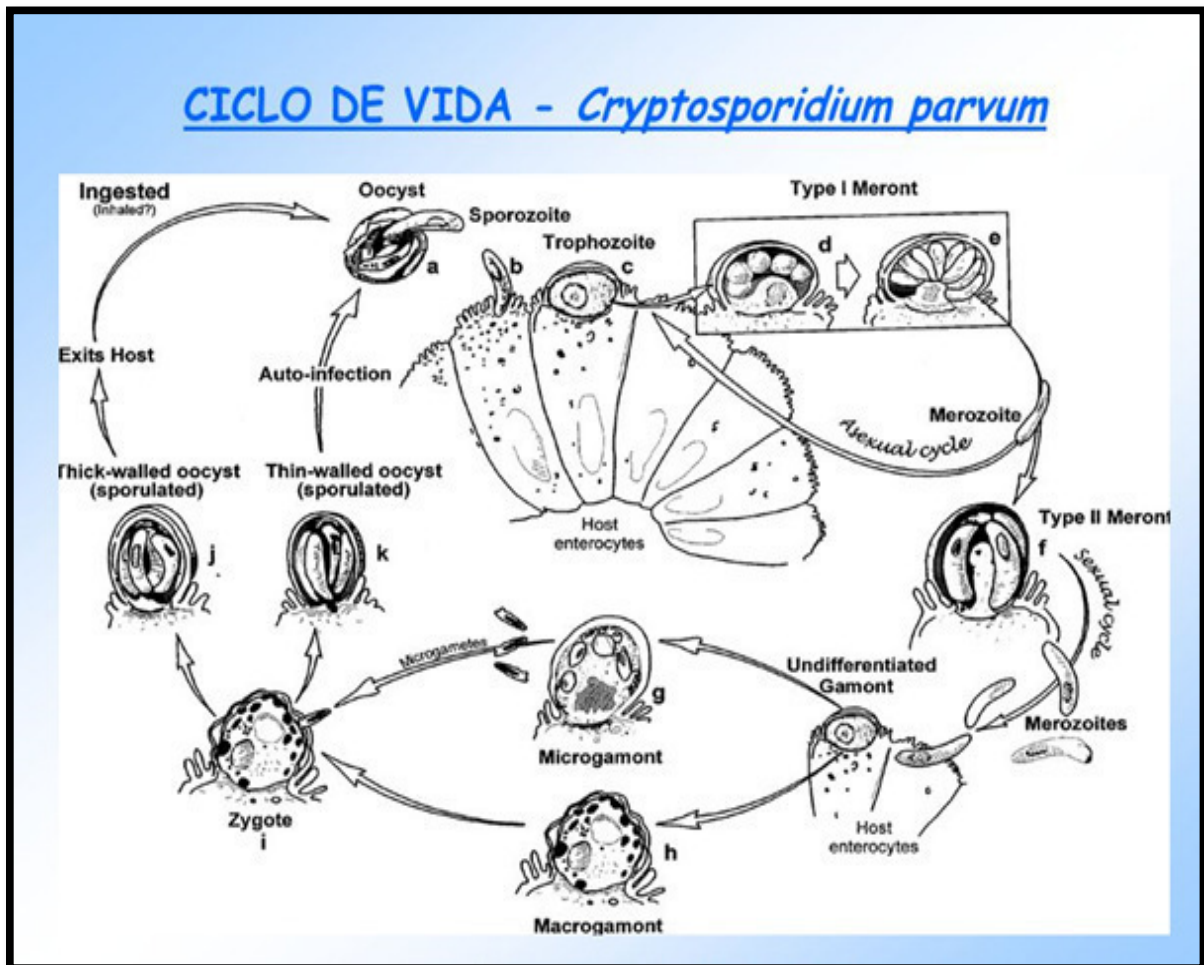


Figura: 2

Fuente: Barriga O. 2002 .(16).

Anexo 3

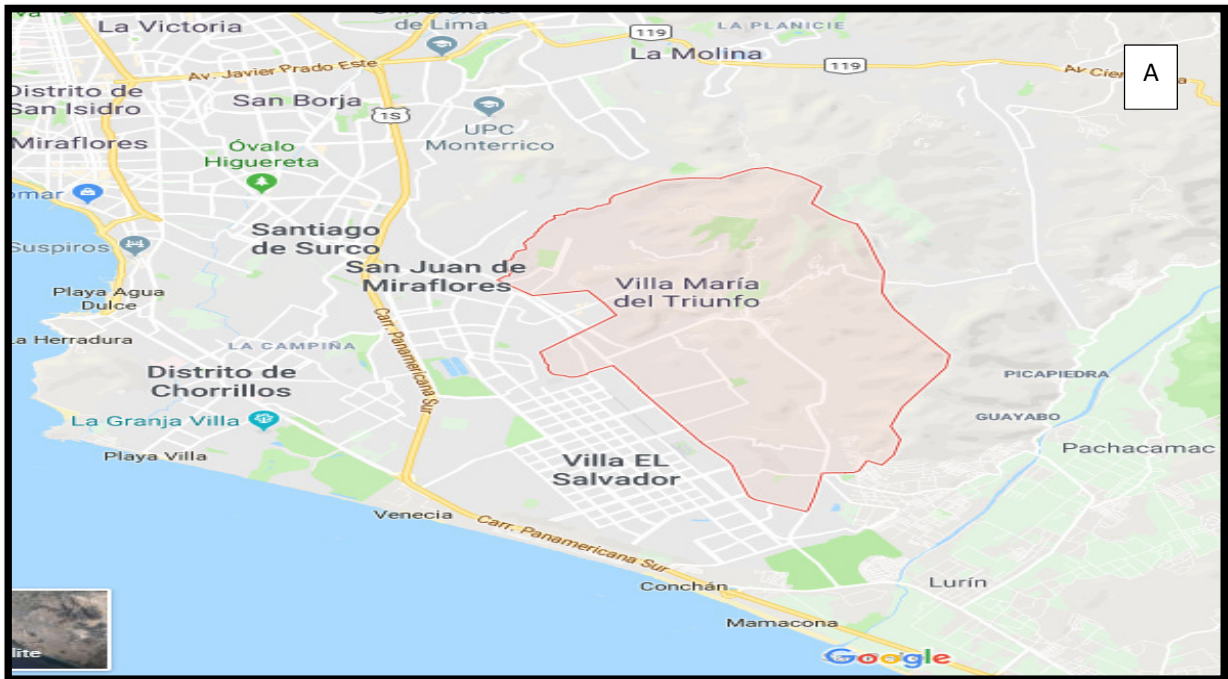


Figura: 3

A: Distrito V.M.T

Fuente: internet google maps

B: Asentamiento Humanos.

Anexo 4

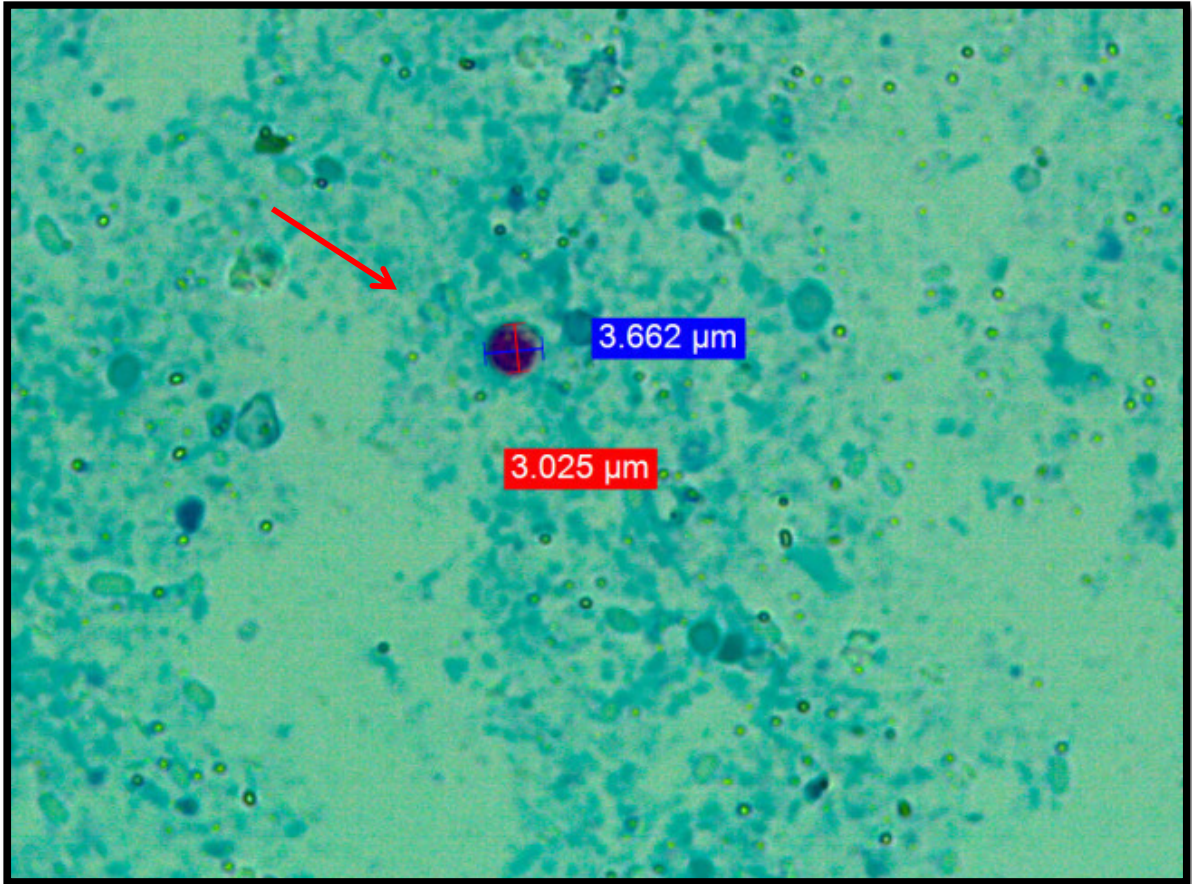


Figura: 4

Microfotografía de ooquiste de *Cryptosporidium* sp. Técnica de ZNM, un aumento de 1000X. *Cryptosporidium parvum* con diámetro que varía entre 3 y 6 μm (16).

Fuente: propia.

Anexo 5

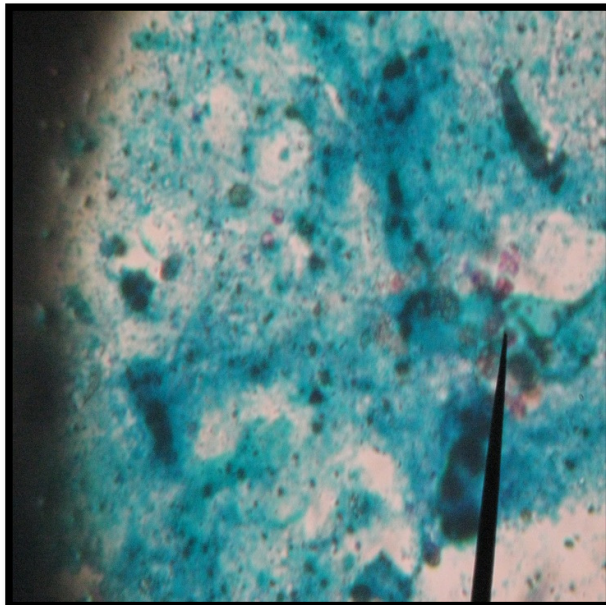
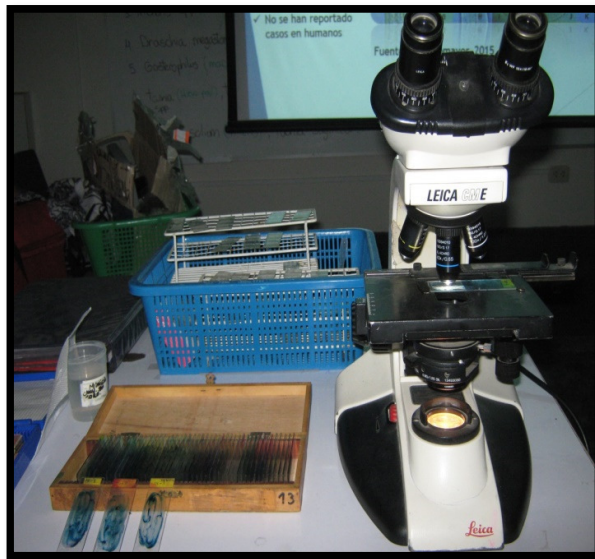


Figura: 5 Fuente: Propia