

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
División Regional de Ciencia Animal**



**“Frecuencia de criptosporidiosis en becerras lactantes de
la cuenca lechera de Tijuana, Baja California”**

Por

Oscar Octavio Mendoza Delgado

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE**

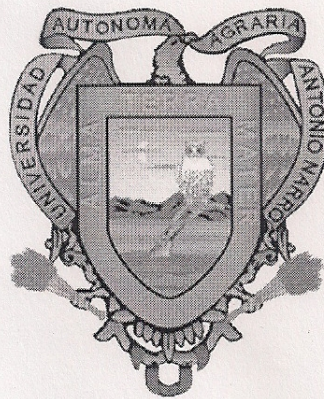
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Diciembre de 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

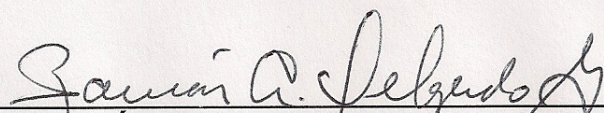


“Frecuencia de criptosporidiosis en becerras lactantes de la cuenca lechera de Tijuana, Baja California”

TESIS POR:

Oscar Octavio Mendoza Delgado

ASESOR PRINCIPAL


M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

Torreón, Coahuila, México

Diciembre de 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

TESIS

**“Frecuencia de criptosporidiosis en becerras lactantes de
la cuenca lechera de Tijuana, Baja California”**

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE REVISIÓN

ASESOR PRINCIPAL


M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL


M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México

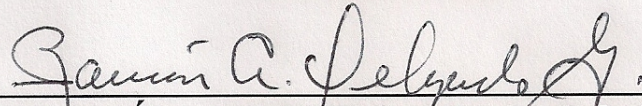
Diciembre de 2010

“Frecuencia de criptosporidiosis en becerras lactantes de la cuenca lechera de Tijuana, Baja California”

TESIS ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL
COMITÉ PARTICULAR DE ASESORIA Y APROBADA
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:

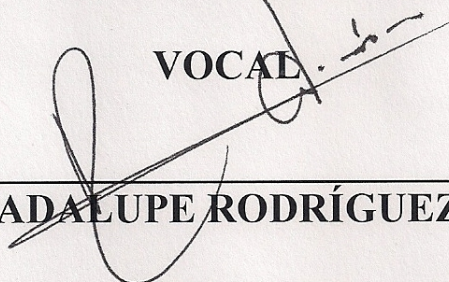
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESIDENTE



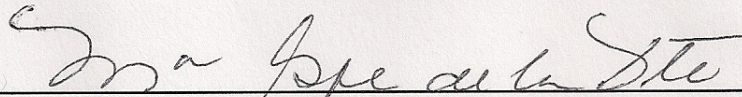
M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL



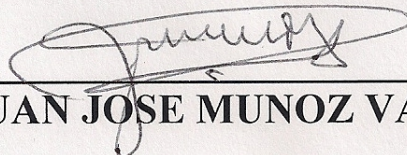
M.V.Z. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

VOCAL



M.C. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO

VOCAL SUPLENTE



M.C. JUAN JOSE MUNOZ VARELA

Torreón, Coahuila, México

Diciembre de 2010

DEDICATORIAS

.A las personas más grandes y maravillosas que existen y existieron en mi vida:

A mi madre:

Silvia Constanza Delgado González.

Por su desempeño y enseñanzas como mejor amiga, madre y padre a la vez, por su cariño y confianza que deposito en mi al iniciar la carrera, por darme la herencia más grande que se puede dar a un hijo el prepararme y ser alguien en la vida, por sus consejos que me ayudaron, me motivaron y me guiaron en los momentos de oscuridad por ello dedico este humilde trabajo a ti que no te importó el sacrificio hecho para que yo pudiese llegar a donde estoy y salir adelante, por eso y muchas cosas más te amo mama.

A mis hermanas:

Silvia.

Gisella.

Karina.

Que desde que éramos niños y en todo momento me mostraron cariño, comprensión y amor, así como también porque en los momentos tristes y de soledad siempre encontraban la manera de sacarme una sonrisa y hacerme sentir que no estábamos solos porque nos teníamos los unos a los otros, por poder contar con ustedes en cualquier momento, motivo que me inspiro a seguir siempre adelante. Y por esperarme ansiosas en vacaciones, para estar en familia. También quiero que sepan que a pesar de que no hemos estado juntos en muchos acontecimientos de nuestras vidas siempre las llevo en mi mente y en mi corazón. Para ustedes con todo mi amor (wardy, gis y tanina), las adoro.

A mis abuelos:

Juan Antonio Delgado Rocha (qepd).

Victoria González Macías (qepd).

Por ser como mis segundos padres y estar siempre en los momentos importantes de mi vida, por criarme y enseñarme a diferenciar las cosas buenas de las malas que tiene la vida, por educarme como una persona de bien desde que era niño, por apoyarme para salir adelante y por todos los consejos que me dieron que han sido de gran ayuda para mi vida, sobre todo el amor y cariño que me brindaron. Y aunque en estos momentos ya no me acompañan su apoyo y comprensión lo llevo grabado en el alma. Para ustedes papa Toño y mama Vicky siempre vivirán en mí.

A mi padre:

Luis Octavio Mendoza Molina.

Para ti que aunque no estés conmigo, aun así se que he tenido tu apoyo desde pequeño, tus estrictos consejos fueron también un empuje que me daba fuerza para proponerme hacer las cosas de una manera correcta, sé que me alientas aunque sea de una manera discreta y apoyándome a tu manera, por eso esto también es para ti un hombre que marco mi vida de muchas formas, a ti papa; lo logre. Te quiero.

A mis sobrinos:

Vanessa, Sylvia, Fernanda, José, Juan Carlos.

Para ustedes que con su sola presencia me hacen muy feliz, me dan ánimos y cuando las cosas van en decadencia el recordarlos me da esperanzas y fuerzas para luchar y seguir adelante. Ustedes me motivan a ser una mejor persona y me hacen ver las cosas hermosas que nos puede dar la vida, así como también valorar las cosas que se pueden lograr unidos y en familia gracias a los 5, los amo.

A mi familia:

Por ser siempre un gran apoyo en las buenas y en las malas, por darme cada uno a su manera su cariño. Esto también va para ustedes ya que ustedes también contribuyeron a la culminación de este sueño con sus pláticas, consejos y regaños los cuales en el fondo se que eran por mi bien, gracias por su apoyo. En especial a mis tíos: **Alicia Margarita Delgado González, Ramón Alfredo Delgado González, Emiliano Santillanes**. A mis primos: **Edgar Arturo Santillanes Delgado, Ricardo Guadalupe Santillanes Delgado y Victoria Margarita Santillanes Delgado** los cuales son como mis hermanos con quienes he compartido tristezas y felicidades. Los quiero mucho a todos.

A la UAAAN:

A mí ALMA TERRA MATER, la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, que me abrigó en su seno durante 5 años y que me dio muchas oportunidades entre las cuales destaca el estar, conocer, estudiar y trabajar en todas sus instalaciones. Además de prepararme para poder culminar una meta, que en un principio pareció ser dura, pero a pesar de tantos tropiezos siempre logre salir adelante, lo que al final solo me hace dirigirle unas palabras: gracias maravillosa y generosa universidad, gracias, a la UAAAN.

AGRADECIMIENTOS

Aunque no me acerco mucho a ti, te agradezco infinitamente Dios por cuidarme en todo momento y estar a mi lado evitando que cometa errores, por darme la fuerza necesaria para poder salir adelante en los momentos que parecían más sombríos, por darme paciencia para tomar las mejores decisiones y por darme salud para poder culminar un eslabón más en mi vida.

A mi madre, por haber depositado la confianza en mí y por sus frecuentes oraciones que noche a noche hacia por mí, para que pudiera dirigirme por buenos caminos durante mi ausencia. Por apoyarme en todo y por sus constantes consejos que sembró en mí y que hoy puedo decir que me han servido para poder tener la mente clara y tener la fuerza de abrir una puerta más en mi vida, toda la vida te estaré agradecido mama.

A mi universidad, por haberme permitido concluir parte de mi sueño y formarme como profesionalista, hombre noble y leal, así como también por darme las armas para defenderme de los problemas que me dará la vida.

A mi familia, por animarme e impulsarme en todo momento y por ser el motor que me movía para poder terminar mis estudios. Y a toda la familia que me ha apoyado para cumplir esta meta sin distinción ni nombres gracias a todos: mis abuelos, papas, tíos, hermanas, primos, sobrinos. Los quiero mucho.

A mis amigos, ya que se convirtieron en un apoyo muy importante al grado de llegar a ser parte de mi familia ya que con ellos conviví 5 años y siempre fueron un consuelo, un hombro para llorar y me tendieron su mano cuando los necesitaba gracias hermanos nunca los olvidaré, gracias: **Fernando, Roman, Tavo, José María y Diego.**

A mis maestros, a todos los que me impartieron clases, gracias por sus enseñanzas me llevo un poco de todos ustedes y de su sabiduría, siempre los recordaré.

A mi asesor M.C.V. Ramón Alfredo delgado González, por su desempeño apoyo incondicional, trabajo, experiencia y tiempo brindado para realizar este trabajo. Gracias médico.

Además quiero extender mi más sincero agradecimiento al **M.V.Z. José Guadalupe Rodríguez Martínez** por la amistad y el apoyo que me brindó desde el primer semestre y durante toda la carrera, aconsejándome en los momentos difíciles y en los momentos de angustia, muchas gracias médico, siempre lo recordaré como un amigo más.

Al igual que también agradezco a mis otros asesores: **M.C. Juan José Muñoz Varela** y **M.C. María Guadalupe de la Fuente Salcido** por su amabilidad, disponibilidad y tiempo para el desarrollo de este trabajo.

INDICE

	Página
Dedicatorias	i
Agradecimientos	iv
Índice	vi
Índice de cuadros	viii
Índice de figuras	viii
Resumen	ix
I. Introducción	1
II. Objetivos	4
1. Objetivo general	4
2. Objetivos específicos	4
III. Antecedentes	5
1. Historia	5
2. Taxonomía	8
3. Etiología	10
4. Epidemiología	13
a. Transmisión y patogenia	13
5. Ciclo biológico	19
6. Signos clínicos	23
7. Criptosporidiosis	25
a. Criptosporidiosis en rumiantes	27
b. Factores de riesgo para la infección de la criptosporidiosis	29

8. Diagnóstico de criptosporidiosis	32
9. Prevención y control	35
a. Tratamiento	35
IV. Material y métodos	39
1. Marco de referencia	39
2. Sitio de estudio	39
3. Fase de campo	41
4. Fase de laboratorio	41
V. Resultados y discusión	43
VI. Conclusiones y sugerencias	48
VII. Literatura citada	63

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ciclo biológico de <i>Cryptosporidium spp.</i>	21
Figura 2. Ubicación de los sitios y establos visitados de la cuenca lechera de Tijuana, Baja California.	40

INDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Frecuencia de <i>Cryptosporidium spp.</i> en becerras Holstein de Tijuana, baja California.	44
Cuadro 2. Prevalencia de la infección por <i>Cryptosporidium spp</i> según el grupo etario en becerras Holstein lactantes con diarrea, de Tijuana, Baja California.	45

Resumen

Se determinó la frecuencia de *Cryptosporidium* spp. en establos lecheros de Tijuana, Baja California. Se estudiaron 9 establos lecheros con una población promedio de 700 bovinos productores de leche de la raza Holstein. Se tomaron muestras de heces de 66 becerras en lactación, 8 machos y 58 hembra con una edad de 4 a 61 días, con signos clínicos de diarrea. Las heces se tomaron directamente del recto en recipientes estériles y se transportaron en refrigeración a la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, en Torreón, Coahuila. Se procesaron las muestras haciendo frotis en portaobjetos, estas se secaron al aire y se tiñeron con la técnica de Ziehl Neelsen modificada, con la finalidad de identificar ooquistes de criptosporidias los cuales, en caso de encontrarse, se observaron de color rojo intenso con medidas aproximadas de 4 a 6 μm . Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva encontrándose que 43 de 66 muestras de heces (65.15%) fueron positivas a la presencia de ooquistes. También se analizó la intensidad de excreción de ooquistes realizando el conteo de 25 campos con el microscopio fotónico a 400 aumentos, de acuerdo al siguiente criterio: De 1 a 10 grado incipiente, de 11 a 20 grado leve, de 21 a 40 grado moderado, más de 40 grado severo; el resultado que se encontró estuvo en los grados incipiente, leve y severo. Los ooquistes de *Cryptosporidium* spp fueron encontrados en todos los establos examinados.

Palabras clave: *Cryptosporidium*, criptosporidiosis, diarrea de las becerras, bovinos Holstein.

I. Introducción

La criptosporidiosis es una infección causada por protozoarios pertenecientes al género *cryptosporidium*. Hasta hace algunos años las infecciones con estos parásitos se consideraban asintomáticas para el hospedero, pero este concepto ha ido variando considerándose actualmente como una importante causa de enterocolitis en animales y el hombre. De esta manera se clasifica como una zoonosis donde varias especies de animales pueden constituir reservorios importantes de la cadena epidemiológica de transmisión. En animales inmunocompetentes, la infección puede ser asintomática o producir diarreas de corta duración. En animales inmunodeficientes, la infección puede ser causa de diarreas prolongadas, parecidas a las del cólera (6, 7, 71). Esta enfermedad caracterizada por afección gastrointestinal con particular predilección por las células epiteliales del tracto gastrointestinal y por células del aparato respiratorio de vertebrados incluyendo al hombre, se les atribuía comportamiento oportunista; no obstante ha quedado claro que puede producir enfermedad en individuos sanos, es decir actúa como patógeno primario causante de diarrea, siendo considerado como un enteropatogeno tanto en hospederos inmunocompetentes como en aquellos inmunocomprometidos (48).

Cryptosporidium es un parasito protozooario perteneciente al Phylum apicomplexa intracelular obligado, monoxeno, con fases de reproducción sexual y asexual que ha sido ampliamente estudiado en escala de vertebrados incluida la especie humana. Se ha establecido que sus ooquistes son más pequeños que los coccidios y se describen dos tipos: uno de pared gruesa que sale al exterior con las heces, resistente y transmisible por vía oral y el otro de pared delgada que posee una unidad de membrana simple, responsable de la infección endógena o autoinfección. La fase sexual ha sido muy bien estudiada por (Goebel y Braendler, 1982) quienes proporcionan una descripción detallada de la ultraestructura de la microgametogonia, microgametos, macrogametos y del inicio de la fecundación en ratones experimentalmente infectados, confirmando la localización intracelular y extracitoplasmática de *Cryptosporidium* (32). Los estadios del ciclo de vida del parásito incluyen ooquistes maduros e inmaduros, esporozoítos, trofozoítos, esquizontes tipo I (de primera generación), esquizontes tipo II (de segunda generación), merontes o gamontes, merozoítos, progametocitos que son los precursores de las células sexuales diferenciadas, llamadas microgametocitos y macrogametocitos además de cigotos. Actualmente se acepta que el género *Cryptosporidium* incluye aproximadamente 23 especies (28, 32), sin embargo, solo ha podido documentarse adecuadamente la infección por cuatro especies: *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium muris*, *Cryptosporidium baileyi*, y *Cryptosporidium meleagridis* (8).

Las infecciones por *C. parvum* y *C. muris* han sido reportadas en mamíferos. Teniendo en cuenta las características morfológicas del ooquiste, *C. parvum* es la especie hallada en todos los casos de criptosporidiosis humana adecuadamente documentados. Las infecciones por *C. baileyi* y *C. meleagridis* han sido encontradas en aves. Sin embargo, recientemente fue reportado el hallazgo de *C. baileyi* en un paciente infectado por el virus de la inmunodeficiencia humana. Las infecciones por otras 19 especies han sido descritas, aunque no suficientemente documentadas en mamíferos, aves, peces y reptiles (6).

Este parásito es el causante de la criptosporidiosis, enfermedad considerada principalmente una parasitosis gastrointestinal la cual es causa importante de enfermedad diarreica alrededor del mundo y cuya principal vía de contagio es la fecal-oral siendo el agua un importante agente para su diseminación (4, 28). En esta infección el estado inmunológico del individuo afectado es fundamental, siendo las especies pertenecientes a este género responsables de cuadros gastrointestinales y la severidad depende de varios factores: del hospedador, como son competencia inmunitaria, edad, estado nutricional, del número de parásitos causantes de la infección y del medio ambiente, ya que los ooquistes mantienen su infectividad durante un tiempo relativamente largo (28).

II. Objetivos

1. Objetivo General

Determinar la frecuencia de *Cryptosporidium* spp. en becerros en lactación, en hatos lecheros de Tijuana, en el estado de Baja California.

2. Objetivos Específicos

- a. Identificar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en heces, utilizando la técnica de *Ziehl Neelsen* modificada.
- b. Evaluar la intensidad de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp., de acuerdo al grado de severidad.

III. Antecedentes

1. Historia

La primera especie de este género se encontró infectando las glándulas gástricas de ratones de laboratorio, fue aislada y descrita detalladamente por Ernest Edward Tyzzer en 1907 a la cual le llamo *cryptosporidium muris* y en 1912 el mismo autor describió un organismo similar en ratones y lo nombró *cryptosporidium parvum*, con estadios de desarrollo solo en el intestino delgado de ratones, el cual tenía ooquistes más pequeños que *C. muris* (68). En la década de los 50 se le asocio con enfermedades diarreicas en aves de corral, Slavin en 1955 reporta *Cryptosporidium meleagridis* en pavos (28). Más adelante *Cryptosporidium parvum* cobro interés al descubrirse que también producía diarreas en ganado bovino. En 1971 se reportaron diarreas asociadas a infecciones por *Cryptosporidium parvum* en otros anfitriones entre los cuales destacaron los bovinos (51).

En 1976, casi simultáneamente Nime *et al.* Y Meisel *et al.*, reportan criptosporidiosis en humanos (44, 50). En 1977 Brownstein *et al.* Informan por primera vez en forma completa *Cryptosporidium* en reptiles (9). *Cryptosporidium* se reconoció relativamente y recientemente como patógeno humano, a pesar de que su identificación original había sido 70 años antes. En 1982, son reportados por “Centers for Diseases Control” de EE.UU. los casos de 21 hombres con criptosporidiosis en pacientes con SIDA de seis ciudades (33).

Desde ese año el número de casos reportados ha aumentado dramáticamente, este aumento fue observado inicialmente en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida pero los informes recientes indican que la criptosporidiosis también ocurre en personas con un sistema inmunológico normal. En 1987 Báez de Borges *et al.*, estudian la criptosporidiosis en Venezuela. En 1990, ocurre la aplicación de técnicas moleculares en la identificación de especies lo que contribuye a la clasificación, complejidad y conocimiento de especies y especificidad de hospederos de *Cryptosporidium* (28). En 1990, también se reportan aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en humanos (12) y en 1991, Current & García establecen la criptosporidiosis como una de las infecciones entéricas más comunes en el humano (18). En 1993 *Cryptosporidium* es reconocido como problema de salud pública asociado al agua de tomar en EE UU (42). En 1995, Bruzual y Arcay estudian la criptosporidiosis experimental y la influencia de agentes inmunosupresores sobre el ciclo biológico de *Cryptosporidium* y la diseminación tisular (4). En 2001 Chacín Bonilla reporta estudios realizados en el Estado Zulia que sugieren que la transmisión antroponótica es dominante, lo que favorece el predominio del genotipo humano (13).

En 2002, Arcay señala a *Cryptosporidium* como agente ubicuo en la naturaleza debido a asociaciones ecológicas y al agua como su principal agente de diseminación (4).

También se ha asociado a diarrea en corderos y cabritos, su patogenicidad hacia los cerdos es menos frecuente, además de esto se ha propuesto que solo un género de *cryptosporidium* puede ser capaz de infectar hasta siete diversas especies e inducir diarrea (61).

La emergencia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH/SIDA) hizo más evidente el problema que representaba este parásito. Los pacientes inmunocompetentes e inmunodeficientes no respondían al tratamiento antidiarréico conocido hasta entonces, y por esa causa morían. Este nuevo problema atrajo la atención de investigadores médicos. Al ampliarse las investigaciones se descubrió que esta enfermedad también afecta a personas con un sistema inmunológico normal, cualquiera que sea su edad, aunque las personas más susceptibles son los niños y los ancianos; y las personas con mayor riesgo de contraer la enfermedad son aquellas que cuidan niños pequeños (guarderías, preescolares) y el personal médico que maneja muestras en los análisis o que atiende enfermos que requieren ciertos cuidados (16, 31, 63).

En la actualidad, la infección ha sido descrita en 50 países y en aproximadamente 170 especies de animales entre las que se incluyen todas las especies de animales domésticos, generándose un creciente interés sobre este parásito, que recibió un nombre muy apropiado, puesto que en griego *cryptosporidium* significa "espora oculta" (48).

2. Taxonomía

El género de *cryptosporidium* consiste en varias especies diferentes y genotipos que infectan a un gran número de anfitriones, originalmente casi la mayoría se aislaron de pacientes humanos a los cuales se les asignó infección por *cryptosporidium parvum* donde se distinguieron el genotipo humano tipo 1, y el genotipo para el ganado tipo 2, ambos capaces de causar infección en humanos.

El género *Cryptosporidium* spp está clasificado de la siguiente manera:

- Reino *Protista*
- Phylum *Apicomplexa* (presentan complejo apical).
- Clase *Sporozoasida* (reproducción sexual y asexual con formación de ooquistes).
- Subclase *Coccidiasina* (el ciclo presenta merogonias, gametogonias y esporogonias).
- Orden *Eucoccidiorida* (hay esquizogonia).
- Suborden *Eimeriorina* (se desarrollan macro y microgametos de forma independiente, y el cigoto es inmóvil).
- Familia *Cryptosporidiae* (los ooquistes presentan cuatro esporozoitos y ciclo vital monoxeno, es decir con un solo hospedador).
- Género *Cryptosporidium*
- Especies: *parvum*, *muris*, *baileyi*, *meleagridis* entre otras variedades que ya han sido documentadas) (28, 60).

Los individuos infectados muestran una gran variedad de manifestaciones clínicas, pero la patogenicidad de *cryptosporidium* varía con la especie y tipo de parásitos implicados, la edad, y el estado inmune del anfitrión. En muchos animales, las infecciones por *Cryptosporidium* no se asocian con los signos clínicos o son asociadas solo a casos agudos autolimitando la enfermedad. En algunos animales, tales como reptiles infectados con *cryptosporidium serpentis* o individuos que están inmunodeprimidos, la infección es con frecuencia crónica y puede ser eventualmente letal. Por lo anteriormente expuesto, la taxonomía, la significación clínica y la epidemiología de estos parásitos no se conocen con exactitud. Sin embargo, aún cuando hacen falta muchos estudios, la aplicación de los recientes avances en la caracterización molecular de estos agentes infecciosos indica que no sólo los genotipos humanos y bovinos de *C. parvum* tienen importancia en Salud Pública, sino también otras especies. El esclarecimiento de la taxonomía de *Cryptosporidium* permitirá conocer el impacto de las diferentes especies en la salud del hombre, los factores de riesgos, los diferentes mecanismos de transmisión y el desarrollo de medidas preventivas efectivas para cada especie (43, 57).

3. Etiología

La criptosporidiosis es causada por un parasito protozoario *Cryptosporidium* sp. Crece y se reproduce en células epiteliales de los órganos digestivos del vertebrado. Las especies afectadas son peces, serpientes, aves, roedores, ardillas, venados, caballos, cerdos, ovejas, bovinos, gatos y perros entre otros. Algunos, como los roedores, son resistentes a la enfermedad, mientras que el ganado bovino o el hombre son susceptibles. No existe especificidad del parásito con el huésped, sino que presenta infectividad cruzada entre aves y mamíferos, pero no de aves a mamíferos ni al contrario (28, 43).

La infección es adquirida por la ingestión de ooquistes esporulados. Estos son resistentes a los efectos del pH ácido del estómago del hospedero y la exquistación debe ocurrir más adelante, en el intestino delgado. En este segmento del tubo digestivo, la acción de condiciones reductoras, de enzimas pancreáticas y de sales biliares debilita la pared de los ooquistes y emergen de los mismos cuatro esporozoitos que invaden rápidamente los enterocitos. En estas células, los esporozoitos, y los estadios que siguen, residen en una vacuola parasitófora confinada al borde en cepillo, justo debajo de la membrana celular. De esta manera, el parásito tiene una ubicación intracelular y extracitoplasmática. Esto diferencia a *Cryptosporidium* de otros coccidios, como *Eimeria* e *Isospora*, cuyos estadios de evolución se localizan en una vacuola parasitófora situada en la región perinuclear de la célula parasitada (35).

Los esporozoitos se diferencian a trofozoítos uninucleares. Cada trofozoíto, en un proceso conocido como merogonia o esquizogonia y caracterizado por varias divisiones nucleares asexuadas, se convierte en un meronte tipo I inmaduro (célula con ocho núcleos) Este, después de madurar, da lugar a ocho merozoítos de primera generación que después de su liberación en el lumen intestinal, invade otra célula epitelial y en ella puede seguir dos cursos:

1. Reiniciar otro ciclo de divisiones nucleares asexuadas y convertirse en un meronte tipo I inmaduro que, después de madurar, dará lugar a otros merozoítos de primera generación.
2. Realizar dos divisiones nucleares asexuadas y convertirse en un meronte tipo II inmaduro que, después de madurar, dará lugar a otros merozoítos de segunda generación.

Los merozoítos de segunda generación, después de su liberación en el lumen intestinal, invaden otras células epiteliales y en ellas inician la fase sexual del ciclo. El primer paso será la conversión en macrogamontes (estadio femenino) y en microgamontes (estadio masculino). Ambos sufren considerables transformaciones, para dar lugar a microgametos y microgametos donde después de la fertilización dan origen al cigoto. La formación de una pared alrededor del cigoto da origen al ooquiste.

Esta cubierta es el resultado de la unión de los cuerpos formadores de pared presentes en el microgameto antes de ser fertilizado. Los ooquistes, dado que esporulan in situ, ya son infectantes cuando son liberados en las heces (54, 56).

Los ooquistes restantes (20 %, aproximadamente) desarrollan una pared delgada, de una sola capa, la que puede fragmentarse tan pronto los ooquistes salen de los enterocitos. De ocurrir la fragmentación, quedarían libres cuatro esporozoitos, que invadirían nuevas células epiteliales y reiniciarían un nuevo ciclo. De no tener lugar la fragmentación, los ooquistes de pared delgada podrían ser encontrados en las heces. Queda claro que pueden ocurrir ciclos de autoinfección a partir de dos estructuras: Los merontes tipo I y los ooquistes de pared delgada. Estos ciclos explicarían el desarrollo de infecciones severas en hospederos expuestos a un pequeño número de ooquistes de pared gruesa, y las infecciones intensas y persistentes que se observan en pacientes inmunodeficientes, sin exposiciones repetidas a los ooquistes de pared gruesa. Por su alta capacidad autoinfectiva y su rápido ciclo de vida en terneras experimentales, la producción de ooquistes puede llegar a cantidades que van desde los 2 mil hasta los 20 mil millones diarios (35, 54, 56, 57).

Después de ser arrojados al ambiente los esporozoitos mueren, mientras los ooquistes pueden permanecer latentes más de un año en agua o en suelo húmedo.

4. Epidemiología

a. Transmisión y patogenia

Este parásito ocasiona en terneros neonatos una diarrea asociada a deshidratación, cólicos y complicaciones de diversas etiologías. La enfermedad no produce síntomas en terneros bien inmunizados, a pesar de ser portadores de ooquistes, lo que conlleva a la pregunta de que algo debe ocurrir para el desencadenamiento de la diarrea. Debido al trabajo de investigación realizado en 1995, y al encontrarnos que en el 100% de los establecimientos examinados presentaban cryptosporidiosis, los terneros investigados en un 80% del universo eran portadores y con una tasa de 25% de diarreicos (57).

La forma infectante de este protozoo es el ooquiste esporulado. Ello es así porque los ooquistes, después de eliminados en las heces mantienen las características siguientes:

1. Conservan su capacidad infectante en las propias heces, en las aguas y en el suelo durante largos períodos, incluso meses.
2. Preservan su viabilidad debajo de las uñas durante al menos 1 hora.
3. Resisten condiciones adversas, como la acción del cloro a las concentraciones que regularmente son utilizadas para el tratamiento de las aguas de uso humano. También son muy resistentes a la acción de otros desinfectantes comunes, como yodoformo a 4 %, cloruro de benzalconio a 10 % y ácido cresílico a 5 %.
4. Sobreviven a la exposición al ácido clorhídrico y a las enzimas digestivas presentes en el tracto gastrointestinal (35, 56, 57).

La criptosporidiosis humana se transmite prácticamente en todas las formas de diseminación fecal-oral, especialmente a partir de heces de evacuadores humanos de ooquistes esporulados. Las más comentadas son:

1. La contaminación de vegetales.
2. La contaminación de alimentos por hábitos higiénicos deficientes.
3. La contaminación de las aguas para consumo humano.
4. La transmisión por contacto directo (ano-mano-boca).
5. La transmisión posible de ooquistes desde heces de animales infectados al hombre (35, 56, 57).

En países en vías de desarrollo, las infecciones por *cryptosporidium* ocurren más comúnmente en niños menores de 5 años, con una incidencia alta de infecciones y diarrea en niños menores de 2 años. Los niños pueden tener múltiples episodios de criptosporidiosis, indicando que la inmunidad adquirida por las infecciones por *cryptosporidium* es de breve duración o nunca se ha desarrollado por completo. En países industrializados, la criptosporidiosis epidémica puede ocurrir en adultos por la ruta de los alimentos o agua de bebida. En personas inmunocomprometidas como pacientes positivos al virus de inmunodeficiencia humana, la incidencia y severidad de la criptosporidiosis aumenta así como también disminuye el conteo de linfocitos CD4, especialmente cuando cae por debajo de las 200 células/micro litro (35, 56, 66)

La causa de que *cryptosporidium spp.* infecte seres humanos y a una amplia variedad de animales es debido a la presencia ubicua de ooquistes en el ambiente, los seres humanos pueden adquirir infecciones por *cryptosporidium* por medio de varias vías de transmisión. En poblaciones pediátricas y ancianos, especialmente en guarderías y clínicas de reposo como asilos etc., la transmisión por el personal desempeña probablemente el papel principal en la extensión de las infecciones por *cryptosporidium*. En zonas rurales, se ha hablado de infecciones zoonóticas por el contacto directo con los animales del campo, pero la importancia relativa de la transmisión zoonótica directa de la cryptosporidiosis no se ha aclarado completamente. Los numerosos brotes de cryptosporidiosis debido al alimento contaminado o al agua (de bebida o recreacional) se han reportado en varias naciones industrializadas, y algunos estudios identifican claramente al agua como una vía de transmisión importante de *cryptosporidium* en áreas donde la enfermedad es endémica (26, 63, 71).

Sin embargo las fuentes y el potencial contagioso en humanos de los ooquistes de *Cryptosporidium* en agua, aún son en gran parte confusos. Un problema grave en la comprensión de la transmisión de la infección es la carencia de las características morfológicas que distinguen claramente a un tipo de *cryptosporidium* de muchos otros. Por lo tanto, no se puede estar seguro de que especie de *cryptosporidium* está involucrado cuando se examinan ooquistes de especímenes clínicos debajo de un microscopio (35, 56, 66).

Los problemas en la taxonomía y nomenclatura de las varias especies de *cryptosporidium* se asocian con la importancia de la salud pública. Sin las características claras del diagnóstico que permiten la diferenciación de *Cryptosporidium spp*, no se puede saber el número exacto de la especie que infecta a los seres humanos, la carga de la enfermedad (esporádica y relación de brotes) atribuidos a las diversas especies o cepas/genotipos, y el papel de las especies y cepas/genotipos en la virulencia y transmisión en seres humanos. Estas preguntas presentan desafíos a nuestra comprensión acerca de la epidemiología de la cryptosporidiosis. La revisión de la taxonomía de *cryptosporidium*, es por lo tanto, de importancia para la comprensión de la biología, la epidemiología y de salud pública (17, 43, 61).

El periodo de prepatencia (tiempo entre la infección y la eliminación de ooquistes), varía de 2 a 14 días, en la mayoría de los animales domésticos mientras que el periodo de patencia (duración de la excreción de ooquistes), es variable dentro de las diferentes especies de hospedadores, desde varios días a varios meses. En humanos inmunocompetentes, estimando la fecha de infección accidental, se ha calculado un periodo de prepatencia entre 5 y 28 días, con una media de 7,2 días y un periodo de patencia que puede oscilar entre 8 y 31 días, aunque pudiera prolongarse de forma intermitente. En los pacientes con SIDA la eliminación de ooquistes puede ser indefinida (15, 17, 38).

La dosis infectiva de *Cryptosporidium* spp. En humanos, es aproximadamente de 132 ooquistes, aunque un voluntario fue infectado con tan solo 30. Parece que tanto el hombre como los animales tienen distintos grados de susceptibilidad a este parásito y el inóculo probablemente puede variar de un individuo a otro (38).

En las guarderías se produce la diseminación de una persona a otra por la vía fecal-oral y en muchos brotes ocurridos a gran escala la transmisión ocurre por agua contaminada. Se estima que en el brote de Milwaukee se infectaron casi 400.000 personas y fallecieron 7, siendo la epidemia más importante transmitida por agua en EE.UU. Se estima que es posible encontrar ooquistes de *Cryptosporidium* spp. En aproximadamente el 90% de las muestras de aguas residuales, en el 75% de las aguas fluviales y en el 28% del agua potable (20). *Cryptosporidium* spp. Se encuentra en el intestino de muchas aves y mamíferos. También se sabe que es un parásito que infecta roedores, aves de corral, monos, bovinos y otros herbívoros (52, 70).

Antes, los epidemiólogos pensaban que la mayor parte de las infecciones en humanos se adquirirían por parte de cachorros de perros, gatos, roedores, peces, ganados bovino y otros herbívoros. Sin embargo, la evidencia que se deriva de mejores métodos para detectar el microorganismo y así los brotes de criptosporidiosis, indican que la contaminación de humano a humano es un medio importante de transmisión. También se han descrito casos de infección cruzada intrahospitalaria (6, 16).

La mayoría de los parásitos que viven en el lumen intestinal y son patógenos para el humano, infectan el aparato gastrointestinal y ocasionan diarrea como, *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Dientamoeba fragilis*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp., *Isospora belli*, *Ciclospora cayetanensis* y microsporidias. *Cryptosporidium* spp. Es altamente transmisible e infectante en el medio familiar, con tasas de transmisión similares a las de otros patógenos entéricos como *Shigella* spp. (6, 12, 16, 20).

En las guarderías se produce la diseminación de una persona a otra por la vía fecal-oral y en muchos brotes ocurridos a gran escala, la transmisión ocurre por agua contaminada (12, 16). La criptosporidiosis se transmite a través de heces de humanos o de animales infectados y de agua o alimentos contaminados por heces portadoras de los ooquistes. Los casos leves son comunes en granjeros. En el caso de personas de alto riesgo como es el caso de sujetos inmunocomprometidos o en las edades extremas de la vida, es necesario evitar contacto con heces de animales y prestar atención especial a las condiciones sanitarias (16, 20, 48, 49).

5. Ciclo biológico

El ciclo biológico de *C. parvum* se inicia después de la ingestión de ooquistes esporulados. Estos constituyen los únicos estadios exógenos y son excretados con las heces, aunque también pueden ser eliminados por la secreción respiratoria o nasal (26). Cada ooquiste contiene 4 esporozoitos, estadios infectivos, que al quedar en libertad (exquistación), penetran en las células epiteliales del tracto gastrointestinal o respiratorio (26).

Un estudio del desarrollo endógeno de *C. parvum* revela que, en el interior de las células hospedadoras, el parásito experimenta multiplicación asexual (mero o esquizogonia). Como resultado, se desarrollan los merontes tipo 1 con 6 u 8 merozoítos, los cuales, una vez liberados, invaden nuevas células donde pueden manifestar desarrollo cíclico como tipo 1 o desarrollar merontes tipo 2, constituidos por solo 4 merozoítos. Los merozoítos tipo 2 no exhiben desarrollo cíclico pero darán origen a los estadios sexuales (gametogonias) diferenciándose unos en macrogamontes y otros en microgamontes. Estos últimos, sufren fisión múltiple dentro de la célula hospedadora y producen aproximadamente 16 microgametos, que una vez liberados se adhieren, penetran y fertilizan a los macrogametos maduros, originando el cigoto, único estadio diploide del ciclo de vida. Se constituyen así, los ooquistes que mediante el proceso de meiosis, darán origen a 4 esporozoitos. Esta fase del ciclo (esporogonia), también ocurre dentro del hospedero infectado. Aproximadamente, el 80% de los ooquistes producidos, presentan doble pared y luego de la esporulación pasan inalterados a través del intestino y son eliminados con las heces (19).

Entre tanto, cerca del 20% de los ooquistes, están rodeados, solamente, por una membrana que se desarrolla alrededor de los esporozoitos. A estas formas, se les denomina: ooquistes de paredes delgadas estimándose que pueden liberar los esporozoitos cuando aun están dentro del intestino e infectar nuevas células (19).

Se infiere, por lo tanto, que los criptosporidios tienen gran capacidad para reproducirse y diseminarse, ya que por un lado, presentan 2 ciclos endógenos capaces de efectuar la auto infección, el primero por reciclamiento continuo de los merontes tipo 1 y el segundo, a través de los esporozoitos liberados por la ruptura de los ooquistes de paredes delgadas. Por otro lado, los ooquistes esporulan dentro del hospedero infectado y son eliminados en estado infeccioso con las heces, siendo capaces de sobrevivir en el ambiente por un largo periodo de tiempo (19).

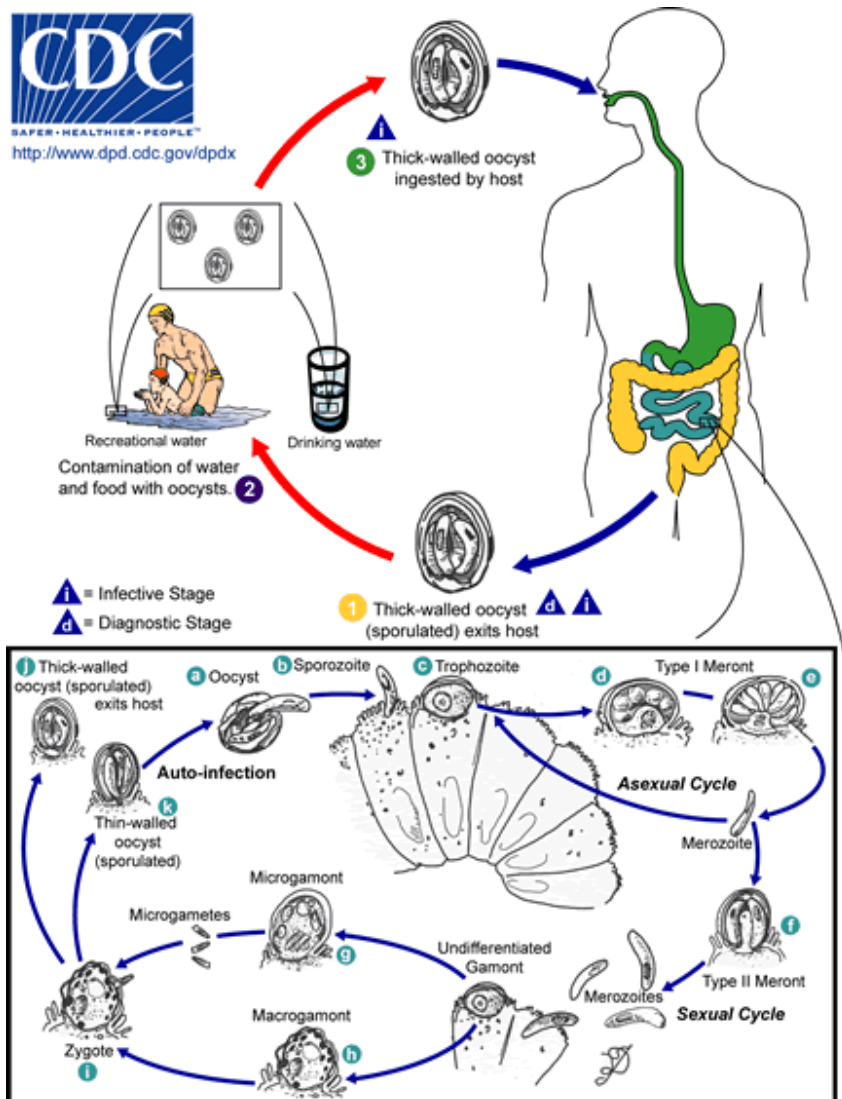


Figura 1. Ciclo biológico de *Cryptosporidium* spp.

(www.uvg.edu.gt/.../cryptosporidium.htm)

Cuando los animales infectados defecan, se eliminan al ambiente ooquistes produciendo así un problema de salud pública por el hecho de que los ooquistes solo tienen 4 a 6 mm de diámetro, demasiado pequeños como para ser eliminados con facilidad por los filtros de arena que se emplean en las plantas de tratamiento

de agua; además, *Cryptosporidium* spp. Es extremadamente resistente a desinfectantes como el hipoclorito de sodio (cloro doméstico).

El problema se agudiza aún más por la baja dosis infectante requerida, alrededor de 10 a 100 ooquistes, y por el hecho de que en un ambiente húmedo los ooquistes pueden mantenerse viables durante 2 a 6 meses (12, 20, 56).

La supervivencia de los ooquistes disminuye con las temperaturas extremas y con la desecación. La congelación a -20°C durante 72 horas o mediante calentamiento hasta $45-55^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos reducen considerablemente la infectividad. La desecación a temperatura ambiente de una suspensión acuosa de ooquistes durante 4 horas elimina la viabilidad y se ha demostrado que la mayoría de los desinfectantes de uso doméstico y en otros ambientes como el hospitalario y en guarderías infantiles, tienen poco efecto sobre los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. (12, 14, 29, 56).

Un estudio epidemiológico de la criptosporidiosis durante 10 años en una población con VIH del condado de Los Ángeles, California, EE.UU. que abarcó casi 17.000 sujetos, reportó una incidencia global del 3,8% (31, 63).

Hasta 1982 sólo se habían publicado entre 7 y 11 casos en humanos. A partir de 1983 se produce el despegue del estudio del conocimiento de este patógeno emergente con el advenimiento del VIH que había hecho su aparición en Junio de 1981 en EE.UU. Los pacientes con VIH presentan gastroenteritis por agentes etiológicos diversos: bacterianos, parasitarios, virales y micóticos (20, 39, 47).

Los géneros de protozoarios parásitos generalmente incluyen coccidios (*Cryptosporidium*, *Cyclospora cayetanensis* e *Isospora*), por lo menos dos géneros diferentes de microsporidios (*Enterocytozoon* y *Encephalitozoon*), *Giardia* y *Entamoeba*. Giardiasis y amibiasis se asocian a factores de riesgo como viajes a zonas endémicas y prácticas sexuales oro-anales; criptosporidiosis y microsporidiosis tienen amplia distribución y son complicaciones tardías típicas del VIH (20, 39, 47).

6. Signos clínicos

Aunque existen algunas diferencias en las cifras reportadas. Con un periodo de incubación que oscila entre 5 y 28 días, con una media de 7,2 días. Las manifestaciones clínicas que se producen, y la evolución de estas, dependen de la inmunocompetencia del individuo infectado y, en menor medida, del número de ooquistes ingeridos. El síntoma más frecuente es la diarrea, que puede ser de tipo colérico y en algunos casos hay otros síntomas los cuales son dolor abdominal, náuseas, fiebre, astenia (16, 49).

Las manifestaciones clínicas de la criptosporidiosis intestinal están directamente relacionadas con el estado inmunológico del hospedador (41).

Así, en el individuo inmunocompetente se presenta como una diarrea autolimitada, que puede acompañarse de cólicos abdominales y persisten durante 3 a 12 días, rara vez más de 2 semanas (16, 20, 49)

Clínicamente no se puede distinguir de otras enfermedades diarreicas ya que en algunos casos puede ser de gran intensidad, que generalmente dura de una a dos semanas, pero que se resuelve sin tratamiento específico. Todo lo contrario ocurre en el sujeto inmunocomprometido, quien desarrolla una diarrea crónica que puede comprometer su vida (16, 20, 49).

Cryptosporidium produce una forma de diarrea que pone en peligro la vida de individuos con VIH. Los pacientes pueden perder hasta 17 litros de líquido intestinal al día (16).

En los casos de inmunosupresión grave, el microorganismo invade el conducto biliar y produce fiebre, ictericia, dolor en hipocondrio derecho y vómito. En casos poco frecuentes, los pacientes con SIDA padecen criptosporidiosis pulmonar, colecistitis alitiásica e incluso pancreatitis (1, 39, 41).

Las diarreas suelen ser acuosas, profusas y pueden contener moco, pero casi nunca sangre o leucocitos. Estas diarreas son la manifestación de un cuadro de enteritis, que afecta fundamentalmente al yeyuno e íleon. En personas desnutridas, sobre todo en niños, las diarreas son particularmente intensas y prolongadas. Estas diarreas, en unos casos acentúan la desnutrición y en otros, los más graves, llevan a trastornos hidroelectrolíticos severos que, a veces, pueden conducir a la muerte del paciente. En individuos con inmunodeficiencias reversibles, la intensidad y duración de las diarreas dependen del grado de incompetencia del sistema inmunológico. Generalmente, estas personas se recuperan cuando la causa de la inmunodepresión se elimina.

Así ocurre con los enfermos que reciben tratamiento inmunodepresor por trasplantes o cáncer; en pacientes con infecciones virales que producen inmunodeficiencia transitoria, como sarampión o varicela; y en individuos desnutridos. En pacientes con sarampión se ha reportado la extensión de la infección al resto del sistema digestivo y al aparato respiratorio. En algunos de estos casos se ha podido demostrar la presencia de ooquistes en el esputo y en el fluido obtenido mediante lavado bronqueoalveolar (6, 33, 22, 25, 58).

7. Criptosporidiosis

Recientemente, el interés en *cryptosporidium spp.* Como causa de diarrea en animales, particularmente becerros neonatales, y más recientemente en seres humanos, ha crecido rápidamente. La criptosporidiosis es considerada importante en el síndrome neonatal de la diarrea en becerros. Los organismos se han observado histológicamente en intestinos de los becerros sometidos a laboratorio veterinario. Este procedimiento de diagnóstico es muy insensible, se utiliza la coloración ácido rápida de frotis fecales, para determinar el grado de esta infección tanto en la carne y los rebaños. Durante los últimos 25 años la criptosporidiosis en ganado bovino, causada por *Cryptosporidium parvum* ha sido catalogada como una importante enfermedad entérica, con severas implicaciones en la salud y con efectos negativos en la industria ganadera al causar disminución de la ganancia de peso y mortalidad. A partir de la primera descripción de *Cryptosporidium parvum* en ganado bovino, esta infección ha sido reportada prácticamente en todos los continentes (14, 23, 24, 35).

En provincias de España el 63,3% de las explotaciones ganaderas estaban infectadas con este parásito; en Francia, se obtuvo una prevalencia de infección por *Cryptosporidium parvum* de 17,9%, empleando como técnica de diagnóstico el ELISA. En el mismo orden se han establecido prevalencias de 8,5% para *Cryptosporidium sp.* En granjas Alemanas. En América Latina, Colombia, se determinó la más alta prevalencia de criptosporidiosis bovina 87%, en contraste con México, Brasil y Perú que muestran prevalencias de 25%, 9,75% y 26%, respectivamente. En Venezuela, la información sobre criptosporidiosis bovina es limitada, solo se tienen registros de los estados Falcón, 42,86%; Monagas 30,1%; Zulia, 32% y 50,8% y Táchira, 53,84%. (14, 23, 24, 35).

Los estudios realizados en Aragón han puesto de manifiesto la importancia de esta parasitosis en diversas especies animales, con una prevalencia que alcanza el 20,7% en ganado ovino, 19,7% en ganado vacuno y 21,9% en ganado porcino, si bien los porcentajes son mucho más importantes en rumiantes lactantes y en lechones en periodo de destete. La Criptosporidiosis como enfermedad parasitaria tiene gran impacto en la economía de los países, puesto que afecta el normal desarrollo y crecimiento del bovino, fundamentalmente los neonatos, pudiendo incluso producir su muerte. Además, puede ser transmitida al hombre, por lo que se considera un problema de gran importancia en sanidad animal y salud pública. En las explotaciones, la principal fuente de infección la constituyen los animales jóvenes con diarrea. La alta morbilidad y rápida difusión de la enfermedad se explica por el elevado número de ooquistes que eliminan en sus heces y el hecho de que sean directamente infectantes (23, 24, 35).

Los portadores asintomáticos, representados fundamentalmente por animales adultos, constituyen una fuente de infección adicional para los neonatos. Se ha comprobado que las ovejas eliminan un mayor número de ooquistes, coincidiendo con los días del parto, lo que facilita la infección de los corderos tras el nacimiento y explicaría el inicio en las explotaciones de los brotes de diarrea. La forma de infección más habitual es la transmisión directa por vía fecal-oral. Los ooquistes contaminan con facilidad el pelo o lana de los animales, las ubres de las madres, la cama, alimentos y bebederos. Es también destacable la transmisión indirecta por ingestión de agua o alimentos contaminados, debido a la resistencia de los ooquistes a los tratamientos de cloración del agua potable. La transmisión aerógena del ooquiste se considera una vía de infección en las aves, en las que la criptosporidiosis respiratoria es bastante frecuente. También cabe destacar la posibilidad de que los humanos se infecten por contacto con diversas especies de mamíferos. Gran parte de casos de transmisión zoonótica están asociados al manejo de ganado infectado, especialmente terneros (23, 24, 35).

a. Criptosporidiosis en rumiantes

Los rumiantes, según los estudios epidemiológicos son muy receptivos a la infección por *C. parvum*, considerado uno de los agentes etiológicos más comunes del síndrome de diarrea neonatal. La criptosporidiosis bovina afecta fundamentalmente a terneros menores de 4 semanas. El periodo de incubación oscila entre 2 y 10 días, y la diarrea persiste entre 2 y 14 días, coincidiendo con el periodo de patencia (46, 52, 70).

En corderos y cabritos, la criptosporidiosis se observa entre la primera y la tercera semana de vida, y la diarrea tiene una duración aproximada de 4 días. (Parece ser que los cabritos son especialmente sensibles a *C. parvum* y los escasos estudios publicados en España señalan una prevalencia del 70%, con elevados porcentajes de mortalidad). La infección es menos frecuente en los rumiantes mayores de 1 mes. En éstos, habitualmente cursa de forma subclínica y con baja eliminación de ooquistes, aunque desde el punto de vista epidemiológico tienen gran interés como portadores asintomáticos. La manifestación clínica característica de la criptosporidiosis es un síndrome diarreico agudo, acompañado de gran número de ooquistes. Los animales afectados eliminan heces no sanguinolentas, acuosas y abundantes y presentan deshidratación, debilidad, pérdida de peso y anorexia, lo que provoca un retraso en el crecimiento. En la necropsia, las lesiones corresponden a una enteritis catarral aguda, con congestión y edema del intestino afectado, especialmente la parte final del yeyuno e íleon, que presentan un contenido amarillento y acuoso. Histológicamente, se observa atrofia de las vellosidades, con sustitución del epitelio dañado por un epitelio cúbico. En las criptas se mantiene el epitelio cilíndrico, pero con abundantes figuras mitóticas. La lámina propia aparece infiltrada de células inflamatorias, incluyendo neutrófilos, linfocitos y ocasionalmente eosinófilos. En las explotaciones afectadas por criptosporidiosis, la morbilidad puede alcanzar el 100%. La mortalidad suele ser baja, si bien puede darse un considerable índice en aquellas infecciones mixtas de *C. parvum* con virus o bacterias enteropatógenas. La infección cursa con diarrea en aproximadamente el 75% de los animales (46, 52, 70).

b. Factores de riesgo para la infección de la criptosporidiosis

a) Tamaño del hato.

Estudios conducidos con la finalidad de identificar los factores que pueden estar asociados con el riesgo de infección por *C. parvum* en el ganado bovino, revelan una asociación positiva entre el número de animales del rebaño y el riesgo de infección. Éste es mayor, en aquellas explotaciones ganaderas con alta carga animal, donde el hacinamiento favorece la transmisión del parásito. Un rebaño numeroso, contaría con mayor número de becerros, los cuales, son particularmente susceptibles a la infección. Además, podría suceder, que las instalaciones y los pastizales permanezcan ocupados por más tiempo, favoreciendo la continua acumulación de ooquistes y contribuyendo a incrementar la contaminación del ambiente (30, 45).

b) Edad de los animales.

Los becerros neonatos son en particular susceptibles a la infección por *C. parvum*, y si bien, el parásito ha sido observado a partir de los 2 días de nacido, diversos autores coinciden en señalar que la mayor prevalencia ocurre alrededor de las dos semanas de edad, período en el cual son más frecuentes las manifestaciones clínicas. Estos datos sugieren que los becerros se infectan en los primeros días de vida, por lo tanto, las medidas emprendidas para reducir la morbilidad y la difusión de *C. parvum*, deberían ser dirigidas directamente hacia este grupo de alto riesgo (30, 45).

Al considerar la presencia del parásito en animales mayores de un mes, las tasas de excreción de ooquistes disminuyen sensiblemente. *C. parvum*, también ha sido descrita en becerros de mayor edad e incluso en bovinos adultos, en los que generalmente cursa de forma subclínica y con bajos niveles de infección. Sin embargo, se han reportado altas prevalencias y excreción de hasta $1,8 \times 10^4$ ooquistes por gramo de heces en vacas aparentemente sanas, por lo que no se desestima el papel potencial de los bovinos adultos como reservorios de esta especie (21, 30, 69).

c) Condiciones higiénicas sanitarias y sistemas de manejo.

Debido a que la criptosporidiosis es una enfermedad de los becerros, el período neonatal resulta el más crítico para la exposición, por ello, las condiciones higiénico sanitarias de las áreas frecuentadas por los animales recién nacidos, pueden afectar el riesgo de infección. El lavado de las instalaciones parece ser el método más efectivo para controlar la contaminación por *C. parvum*, pero debido a que los ooquistes se excretan esporulados, resulta difícil, sino imposible, liberar el ambiente de dichas formas infectivas. Sin embargo, medidas adecuadas de higiene ayudarían a reducir la carga ambiental de este y otros patógenos, los cuales, pueden exacerbar la enfermedad clínica. Sistemas de manejo que favorezcan el contacto entre becerros, también están asociados con el riesgo de infección, ya que, se incrementaría la probabilidad de la transmisión del parásito entre animales infectados y susceptibles (27, 30).

Igualmente, esta probabilidad aumenta en las explotaciones ganaderas que cuentan con instalaciones de maternidad colectivas para el alojamiento de vacas y en aquellas donde los becerros son amamantados por las madres. Por el contrario, en la alimentación manual, se elimina el contacto entre las vacas y sus becerros, disminuyendo el tiempo de permanencia en estas áreas y reduciendo así, el riesgo de transmisión de la infección. (27, 30).

En un estudio, se plantea que la exposición inicial ocurre en los potreros de parición, como consecuencia de la eliminación fecal de ooquistes por vacas periparturientas, especialmente en el período de parto. En otro, se considera que dichos animales no representan la principal fuente de criptosporidios. No obstante, existen datos que sugieren que los bovinos adultos asintomáticos, pueden desempeñar un rol importante en la epidemiología de la criptosporidiosis en becerros. Los ooquistes eliminados por las madres contaminan las ubres, así como, la cama, bebederos y alimento. Tanto la presencia como el número de otras especies de animales de explotación pecuaria, también están asociadas con la infección en los bovinos (26, 30, 45).

d) Papel del calostro.

Debido a que los becerros usualmente se infectan con criptosporidios al inicio del período neonatal, se ha examinado la capacidad de las inmunoglobulinas específicas vía calostro materno, para proporcionar protección contra la infección.

La administración temprana de calostro bovino hiperinmune preparado contra *C. parvum*, disminuye significativamente el período patente, el de excreción de ooquistes y el tiempo de duración de la diarrea en becerros neonatos desafiados con ooquistes, en relación a los animales controles que recibieron calostro normal. En su defecto, la alimentación de los animales recién nacidos con calostro de vacas inmunizadas pero no hiperinmunes, no tuvo efecto protector. Como el calostro utilizado en dicho estudio, fue conservado a -20°C, los autores señalan desconocer el efecto que la congelación pudo haber ejercido sobre otros factores mediadores de la inmunidad, presentes en el calostro. Igualmente se ha reportado que en los becerros recién nacidos alimentados con calostro fresco, se reduce significativamente el riesgo de infección con *C. parvum* cuando se compara con el uso de calostro fermentado o congelado (26, 30, 45).

8. Diagnóstico

El diagnóstico clínico de la criptosporidiosis intestinal es difícil porque existen pocas características diferenciales de otras patologías diarreicas, por lo que debe confrontarse con otras posibles etiologías de diarrea acuosa y, entre las más frecuentes a considerar tenemos las producidas por: *Giardia intestinalis*, *Isospora belli*, *Ciclospora cayetanensis*, *Microsporidium*, *rotavirus*, otros virus entéricos y *Escherichia coli* enterotoxigénica (16).

Los primeros casos de criptosporidiosis se diagnosticaron mediante la detección de los estadios endógenos del parásito en cortes histológicos de intestino obtenidos por biopsia o necropsia (16, 49).

El aumento en el reconocimiento de estos patógenos muchas veces depende de nuevos métodos de diagnóstico. *Cryptosporidium* spp., no se detectó hasta que se aplicaron nuevos métodos de tinción a los extendidos de heces (20, 48).

La criptosporidiosis se diagnostica al demostrar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. En muestras de heces diarreicas o no, o esquizontes y gametocitos en biopsias de tejido intestinal principalmente. Para el diagnóstico, las heces u otras muestras de fluidos corporales pueden ser remitidas al laboratorio frescas o preservadas en formol al 10%, o en formalina-ácido acético-acetato de sodio (16, 49).

Como en otras infecciones parasitarias, la eliminación de los ooquistes puede ser intermitente o muy baja en infecciones subclínicas. Los estudios realizados para determinar el número de muestras a estudiar para minimizar el número de falsos negativos reportaron una serie de tres muestras para el sujeto inmunocompetente, y en el caso de pacientes inmunocomprometidos, como sería en el caso de pacientes con SIDA, sería suficiente el estudio de dos muestras (7, 16, 49).

El método de preferencia consiste en concentrar los microorganismos en muestras de heces por técnica de flotación y después identificarlos por microscopia de contraste de fase o métodos de tinción. Las tinciones estándar para protozoarios intestinales no tiñen *Cryptosporidium* de manera adecuada, por lo cual las muestras se tratan con tinción ácida, tinción de auraminarhodamina o anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína (16, 20, 48, 49).

El diagnóstico se efectúa por demostración de ooquistes en la muestra fecal, para lo cual se procede a la coloración del extendido fecal por el método de Ziehl Neelsen modificado o de Kinyoun. Estas técnicas son las más ampliamente usadas y generalmente, son las de elección por el laboratorio de diagnóstico clínico y facilitan la identificación, diferenciando los ooquistes de las levaduras, que tienen forma y tamaño similar; los ooquistes se tiñen de rojo por ser ácidoalcohol resistente, mientras que las levaduras no toman esta coloración. También se ha utilizado una nueva técnica de tinción tricrómica y ácido alcohol para la detección simultánea de *Cryptosporidium* y especies de *Microsporidias* en heces (57).

Se han desarrollado técnicas rápidas de inmunoanálisis enzimático (ELISA) e inmunofluorescencia directa, las cuales son de gran utilidad diagnóstica. Se trata de métodos con alta sensibilidad y especificidad en casos de heces diarreicas, pero tiene uso limitado para estudios epidemiológicos y diagnóstico de casos asintomáticos. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) caracterizada por su gran sensibilidad y especificidad, es de gran utilidad para el diagnóstico y estudios taxonómicos, aunque su uso está restringido a algunos laboratorios. Tanto en animales como en humanos, se han detectado anticuerpos IgG e IgM, en suero mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) o ELISA. En inmunocomprometidos podrían no detectarse anticuerpos. Igualmente se han detectado antígenos circulantes en suero mediante técnicas de ELISA (16, 43).

9. Prevención y control

En general, las medidas que actualmente se aplican para el control y prevención de la criptosporidiosis pueden ser agrupadas de la manera siguiente:

1. Prevención de la transmisión fecal oral:

El modo de transmisión de la criptosporidiosis es la ingestión de aguas y, posiblemente, de alimentos contaminados con ooquistes de este coccidio; por tanto, el primer grupo de medidas para el control de esta parasitosis está relacionado con la necesidad de eliminar la transmisión fecal oral del parásito.

2. Saneamiento ambiental:

Una de las vías más eficaces para prevenir la criptosporidiosis es, como en el caso de otras parasitosis de transmisión fecal-oral, dotar a la población que vive en áreas endémicas de esta parasitosis de mecanismos seguros para la eliminación de sus desechos, de manera particular proveerla de instalaciones sanitarias que impidan la contaminación de aguas y alimentos con ooquistes de *C. parvum*.

3. Fuentes de abasto de agua:

El desarrollo de brotes epidémicos de criptosporidiosis originados por la contaminación del agua con ooquistes de *C. parvum* es una prueba irrefutable de que la transmisión de esta parasitosis está también relacionada con la calidad del líquido a disposición de la población.

4. Higiene personal y de los alimentos:

Para la prevención de la criptosporidiosis, y de otras enfermedades de transmisión digestiva, son útiles las medidas de higiene personal y de los alimentos. Hasta que no se disponga de vacunas y drogas efectivas, las medidas de control basadas en las prácticas de manejo, nutrición e higiene del rebaño, que contribuyan a minimizar el grado de exposición al agente infeccioso y que aumenten el nivel de resistencia de los neonatos, pueden reducir significativamente la morbilidad y difusión del parásito (10, 16, 18, 57, 67).

a. Tratamiento

No existe un tratamiento específico eficaz contra la criptosporidiosis. En condiciones de inmunocompetencia, en las cuales las diarreas son autolimitadas, suele ser suficiente la rehidratación oral o endovenosa del paciente, no así en condiciones de inmunodeficiencia. En estos casos, la ausencia de un tratamiento específico eficaz muchas veces pone en peligro la vida del paciente. Se han utilizado antibióticos, quimioterapéuticos, coccidiostáticos, antivirales, antidiarreicos, inmunoterapia e inmunomoduladores. Se han ensayado sin éxito alrededor de un centenar de esquemas terapéuticos y preventivos para la criptosporidiosis en pacientes inmunocomprometidos. La eficacia de las drogas utilizadas con actividad preventiva o curativa es limitada o dudosa, especialmente para el tratamiento de la criptosporidiosis extraintestinal. Generalmente, los pacientes con inmunidad normal no requieren tratamiento específico y cuando se estén administrando inmunosupresores pudiera estar indicado suprimirlos.

En pacientes inmunocomprometidos se ha utilizado espiramicina 50 mg/kg/día/ durante 15 días, la cual puede ser transitoriamente eficaz (13, 16, 33, 42).

Recientemente ha sido probado, con resultados clínicos y parasitológicos alentadores, el antibiótico paromomicina (un aminoglucósido que se absorbe poco en el intestino y se administra a la dosis de 25 a 35 mg/kg/día durante 14 días). Un estudio controlado del tipo placebo y doble ciego, utilizando la paromomicina en pacientes con criptosporidiosis intestinal y VIH, demostró su eficacia para reducir la sintomatología y la excreción de ooquistes. Otros informes de casos clínicos y estudios no controlados describen mejoría clínica con la paromomicina pero también reportan recaídas, especialmente si no se continúa con tratamiento de mantenimiento. Hasta el presente, el tratamiento médico de pacientes y portadores no es posible (2, 65).

La azitromicina también ha sido probada para el tratamiento de la criptosporidiosis. Estudios clínicos previos han fallado en demostrar su efectividad como monoterapia sin embargo, algunos informes sobre casos clínicos le otorgan algún valor como droga para tratamiento. Altas dosis de azitromicina en combinación con paromomicina en un estudio clínico abierto demostró mayor disminución de la excreción de ooquistes que cuando se usaron por separado. La nitazoxanida otro quimioterapéutico utilizado en el tratamiento de la criptosporidiosis intestinal, mostró eficacia en estudios realizados en pacientes con VIH y en aquellos con recuento celular de CD4 mayores de 50/mm. La dosis recomendada es de 500 a 1000 mg BID durante 15 días (3, 5, 7, 34, 64, 71).

También se ha utilizado roxitromicina a dosis de 300 mg BID durante 4 semanas con algunos resultados. Actualmente no existe quimioprofilaxis ni vacuna para la prevención de la infección o la recurrencia de esta parasitosis (7, 34, 64, 71).

IV. material y métodos

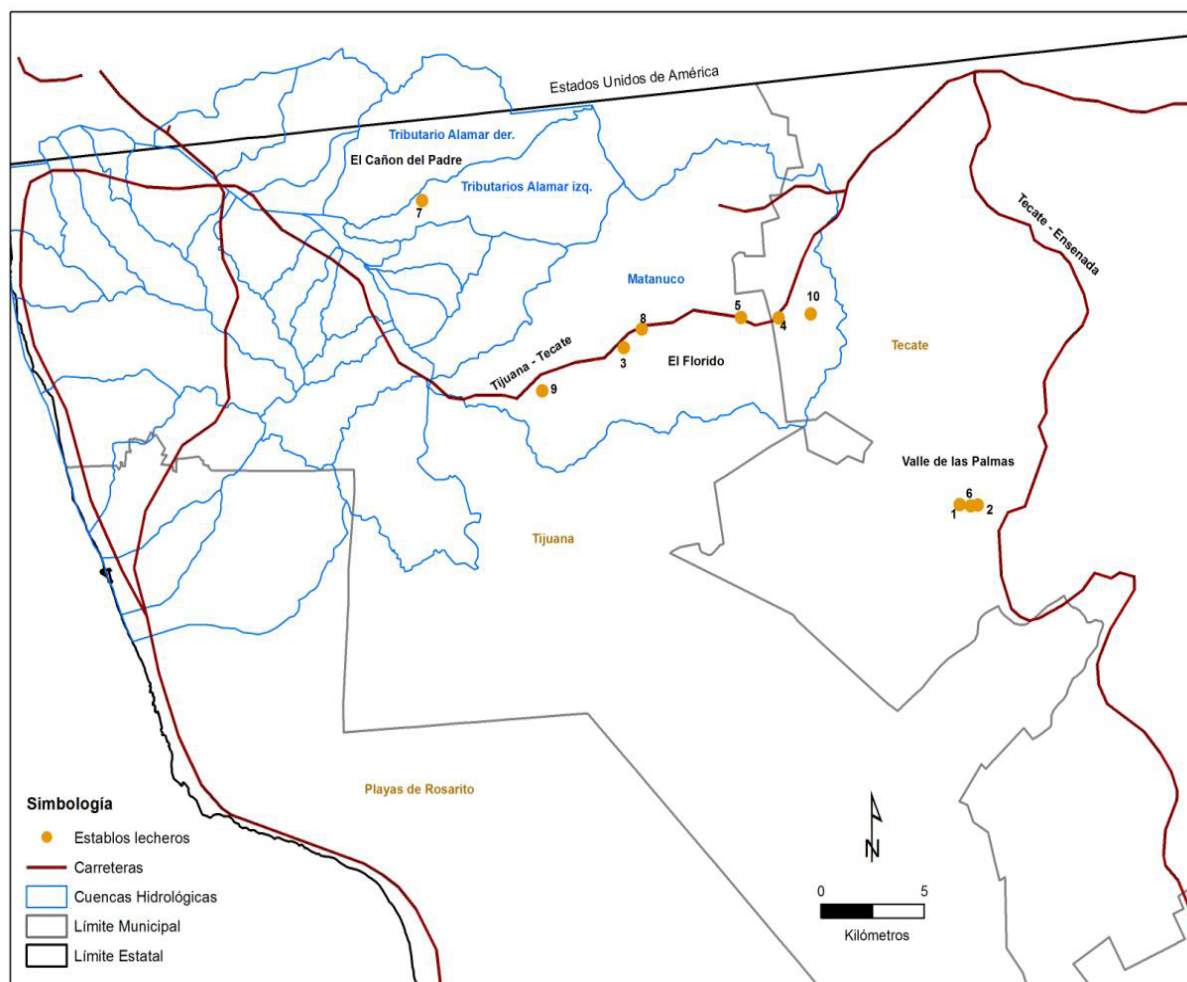
a. Marco de referencia

En Tijuana existen 75 establos lecheros, el presente estudio se llevó a cabo en la ciudad de Tijuana, municipio del estado de Baja California, uno de los 31 estados que conforman los Estados Unidos Mexicanos. El municipio de Tijuana se sitúa entre las coordenadas geográficas extremas 32° 24' al norte, al sur 32° 05' de latitud norte; al este 116° 34', y al oeste 117° 08' de longitud oeste. Representa 2.6 por ciento de la superficie total del estado. Colinda al norte con los Estados Unidos de América y el municipio de Tecate; al este con los municipios de Tecate y Ensenada; al sur con el municipio de Ensenada, el municipio de Playas de Rosarito y el Océano Pacífico; y al oeste con el Océano Pacífico (INEGI, 2003). El municipio de Tijuana cuenta con cinco localidades principales llamadas Tijuana, La Joya, San Luis, Ejido Tierra y Libertad, y Maclovio Rojas (INEGI, 2003).

b. Sitio de estudio

La cuenca lechera estudiada pertenece a la Asociación Ganadera de Productos de Leche de Tijuana. La Asociación Ganadera la conforman 53 miembros y la distribución de los 42 establos en los sitios es la siguiente: 15 establos en "El Florido", 12 establos en "Valle de las palmas", siete establos en el "El Cañón del Padre". Existen además, tres establos en el municipio de Rosarito, tres en "Valle Redondo" sobre la carretera de cuota Tijuana-Tecate. De los dos establos restantes no se obtuvieron datos de su ubicación. Los establos elegidos están en tres sitios al oriente de la ciudad de Tijuana: El Cañón del Padre, El Florido y Valle de las Palmas.

Figura 2. Se observa la situación geográfica de los sitios y de los establos incluidos en el estudio.



El primer sitio fue el llamado “El Cañón del Padre”, ubicado en la colonia Otay, al oriente de la ciudad de Tijuana, En ese sitio se ubicaban siete establos.

El segundo sitio es el llamado “El Florido”. Se distribuye a lo largo de 12 km de la carretera libre Tijuana-Tecate, con dirección oriente, y ocupa 2.3 km del Corredor Tijuana 2000. En este sitio se ubicaron 15 establos.

El tercer sitio es el llamado “Valle de las Palmas”, ubicado en la carretera libre Tijuana-Ensenada a la altura del kilómetro 26. En este sitio se encuentran instalados 12 establos.

Por lo tanto, la producción lechera en el estado de Baja California es una actividad relevante a nivel local.

c. Fase de campo

Se realizó en becerras Holstein de 4 a 61 días de edad, con o sin diarrea, de 9 establos lecheros de la cuenca lechera de Delicias, Chihuahua. Se tomaron muestras de heces del 100% de los animales con diarrea, durante la época de invierno, primavera y verano. En total fueron 66 muestras de heces fecales.

Las muestras se tomaron con guantes estériles directamente del recto y se guardaron en bolsas de plástico estériles y se transportaron en refrigeración al lugar de procesamiento de las mismas.

d. Fase de laboratorio

En el laboratorio de parasitología de la Unidad de Diagnóstico se realizó frotis de heces, se secaron al aire y se tiñeron con la técnica de Ziehl Neelsen modificada para la identificación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. La interpretación fue visual bajo un microscopio de luz, para la observación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp que tiñeron de un color rojo intenso.

El análisis fue de tipo descriptivo y el estudio estadístico de los resultados se analizó mediante porcentajes.

Técnica de Ziehl Neelsen. Se filtró la fucsina, se colocaron los portaobjetos con los frotis de heces y se dejaron 30 minutos, se lavaron en agua corriente y se decoloraron en alcohol ácido al 1% hasta que dejaron de soltar colorante.

Posteriormente se tiñeron con azul de metileno durante cuatro minutos y se enjuagaron en agua corriente. Se aclararon con alcohol del 96%, alcohol absoluto y xilol, para después cubrir con cubreobjetos utilizando resina sintética.

Para medir la intensidad de excreción de ooquistes se observaron 25 campos cuando encontraron ooquistes (positivo a excreción de ooquistes) y hasta 40 campos cuando no se encontraron (negativo a excreción de ooquistes), se utilizó el objetivo seco fuerte (40X) y la interpretación de la observación de ooquistes se llevó a cabo considerando el siguiente criterio:

Intensidad de excreción de ooquistes

Criterio	Grado de severidad	Intensidad de excreción
No se observaron ooquistes	Negativo	(-)
1 a 10 ooquistes	Incipiente	(+)
11 a 20 ooquistes	Leve	(++)
21 a 40 ooquistes	Moderado	(+++)
Más de 41 ooquistes	Severo	(++++)

V. Resultados y Discusión

De acuerdo a los objetivos planteados en el presente trabajo se encontraron 43 de las 66 muestras, positivas a la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp, con una frecuencia de 65.15%. La intensidad de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. observada fue de 26.7% en el grado incipiente, 26.7% en el grado leve, y 46.6% en el grado severo; el 34.84%. Por lo tanto, resultaron negativas 23 de 66 (34.84%) muestras de heces. Los 9 establos se encontraron positivos a la presencia de criptosporidiosis con rangos de 12.5% a 85.7%. Los animales tuvieron una edad promedio de 11 días con rangos de 4 a 61 días y los más afectados estuvieron dentro de los 8 a 21 días de edad.

Las manifestaciones patológicas de criptosporidiosis son más frecuentes en animales lactantes de 5 a 21 días de edad (24), aunque eventualmente los animales afectados se encuentran entre las 6 y 12 semanas de edad (25).

La intensidad de la excreción de ooquistes en las heces fue muy manifiesta en el grado 4 (++++).

Se utilizó la técnica de Ziehl Neelsen modificada. Se encontraron varios criterios para categorizar los grupos para medir la intensidad de eliminación de *Cryptosporidium* spp en heces.

Cuadro 1. Frecuencia de *Cryptosporidium* spp. en becerras Holstein de Tijuana, baja California.

Establo	n	Por hato n (+)	Por hato % (+)
1	10	6	60%
2	8	1	12.5%
3	7	5	71.4%
4	10	8	80%
5	6	4	66.6%
6	4	2	50%
7	7	5	71.4%
8	7	6	85.7%
9	7	6	85.7%
Total	66	43	65.15%

n = Número de animales muestreados por hato

n (+) = Número de animales positivos por hato

% (+) = Porcentaje de positivos por hato

Se detectaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp utilizando la técnica de Ziehl Neelsen modificada (ZNm); se documenta la frecuencia de presentación de la criptosporidiosis por edad en días de las becerras, se manifiesta la intensidad con la que se eliminaron ooquistes en las heces diarreicas y se discute sobre los hallazgos en vacas y vaquillas. A nivel nacional no se encontraron investigaciones que describan la frecuencia de criptosporidiosis en becerras Holstein.

La técnica de ZNm se utilizó porque es la forma más económica y rápida para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* spp.

Cuadro 2. Prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* spp según el grupo etario en becerros Holstein lactantes con diarrea, de la Comarca Lagunera.

Edad (días)	Total Becerras n	No. becerros Positivas %n	No. becerros Negativas %n
1-7	6	4 (9.3)	2 (90.7)
8-14	17	14 (32.55)	3 (67.45)
15-21	13	11 (25.58)	3 (76.75)
22-28	13	8 (18.6)	5 (81.4)
29-35	11	4 (9.3)	6 (88.38)
> 36	6	2 (4.7)	4 (95.3)
Total	66	43 (65.15)	23 (34.85)

De acuerdo a Kehl y col. (1995) y Rodríguez-Hernández y col. (1994), el análisis microscópico de los frotis fecales teñidos es el método más utilizado para el muestreo tamiz para el diagnóstico de *Cryptosporidium* en laboratorios de diagnóstico clínico, además de que se ha demostrado que los métodos de detección inmunológica no son significativamente más sensibles que la microscopía convencional (Quilez y col., 1996). Sin embargo, otros estudios demuestran que la reacción en cadena de la polimerasa tiene una sensibilidad y especificidad de 100% comparado con un 83 % de sensibilidad y un 98 % de especificidad para la microscopía (Morgan y col., 1998).

La ocurrencia de diarrea causada por *Cryptosporidium* spp en la primer y segunda semana de edad con eliminación de criptosporidios es frecuente y comúnmente se encuentran otros patógenos asociados a la infección (Anderson, 1998). Se

constató que las becerras de 8 a 14 días de edad presentan diarrea asociadas a *Cryptosporidium* spp, con mayor frecuencia que en animales con otros rangos de edad, y similarmente es manifestado por otros investigadores (Reynolds y Morgan, 1986). La alta prevalencia e intensidad de infecciones por *Cryptosporidium* spp en becerras de algunos hatos de la Comarca Lagunera indican que estos son parásitos comunes en esta región. Otros estudios muestran prevalencias que van desde 20 hasta 88% (Bednarska y col., 1998). La frecuencia de criptosporidiosis detectada es relativamente baja en becerras con diarrea en la primera semana pero se incrementa considerablemente la segunda semana para disminuir hasta los 45 días de edad.

Analizando los resultados obtenidos, la susceptibilidad a *Cryptosporidium* varía de acuerdo con la edad, y a otros factores de riesgo atribuyendo a la expansión de la infección, alterando la mucosa intestinal en becerras de mayor edad. La ausencia de criptosporidios en la primer semana de vida coincide con la ingestión precoz de calostro (Ortolani y astro, 2003). Emre y col. (1998), mencionan que *E. coli* y Rotavirus, contribuyen en asociación con *Cryptosporidium* para la presentación de la diarrea en becerras.

Se han publicado varios criterios para medir la intensidad de eliminación de *Cryptosporidium* spp en heces. Bednarska y col. (1998), los agrupan en tres grados, el primero (+) con menos de 5 ooquistes, el segundo grado (++) al observar de 5 a 10 ooquistes, y el tercero (+++) con más de 10 ooquistes observados en 20 campos ópticos a 400 aumentos. Emre y col. (1998) observaron

20 campos a 1000 aumentos y los gradúan en 1 (+) de 1 a 5 ooquistes, grado 2 (++) de 6 a 20 ooquistes y grado 3 (+++) más de 20 ooquistes. Al respecto, la literatura es limitante sobre estas comparaciones de excreción. Espinoza (2007), al evaluar estos criterios, encontró una mayor coincidencia con Ortolani y Castro (2003). Estos investigadores comentan que el grado 1 se presenta en animales asintomáticos o prepatentes, mientras que los grados 2 y 3 predominan en becerros con diarrea.

Podemos entonces inferir que entre los grados de intensidad de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp, se detectan los grados de infección en forma incipiente (+), leve (++), moderada (+++) y severa (++++), de acuerdo a los signos clínicos, aunque con muy poca variación en la interpretación con los otros autores, para tal caso se requieren más estudios para relacionar la intensidad de eliminación con la severidad de la infección.

VI. Conclusiones y sugerencias

Se sugiere realizar estudios en vacas y vaquillas exactamente durante el parto para correlacionar el grado de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en animales adultos, con el grado de infección en becerras, además de buscar otras fuentes de infección para las becerras como la fauna que rodea a los establos, analizar el agua y los alimentos, además de tomar medidas preventivas de salud pública ya que representa un peligro potencial por ser una enfermedad zoonótica.

Es importante comparar la técnica de ZNm con otras pruebas como la de ELISA y PCR, para identificar animales portadores no enfermos.

El presente estudio aporta información sobre la incidencia de la eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* en becerras de 9 establos lecheros de Tijuana, Baja California, donde se concluye que La intensidad de la excreción de ooquistes en las heces se manifestó en los grados 1 (+), 2 (++) y 4 (++++).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* fueron encontrados en todos los establos con rangos de 12.5% a 85.7%. La frecuencia de *Cryptosporidium* spp. en Tijuana, Baja California fue de 65.15%.

VII. Literatura citada

1. Anderson BC. (1985). Moist heat inactivation of *Cryptosporidium* sp. Am J Public Health. 75: 1433-1434.
2. Angus KW, Sherwood D, Hutchison G & Campbell I. (1982). Evaluation of the effect of two aldehyde-based disinfectants on the infectivity of faecal cryptosporidia for mice. Res. Vet. Sci. 33: 379-381.
3. Antunes F. (1993). Parasitic Diseases and AIDS. Instituto de Higiene y Medicina Tropical. Facultad de Medicina de Lisboa, Lisboa, Portugal.
4. Arcay L y Bruzual E., (1993). *Cryptosporidium* en ríos de Venezuela. Encuesta epidemiológica de una población humana y fauna en convivencia. Parasitología al día. 17: 11-18.
5. Argenzio RA *et al.* (1994). Glutamine stimulates prostaglandin sensitive Na⁺-H⁺ exchange in experimental porcine cryptosporidiosis. Gastroenterology. 106: 1418-1428.
6. Baxby D, Hart CA & Taylor C. (1983). Human cryptosporidiosis: a possible case of hospital cross infection. Br Med. J. 287: 1760-1761.
7. Blanshard C, Shanson DC and Gazzard BG. (1997). Pilot studies of azithromycin, letrazuril, and paromomycin in the treatment of cryptosporidiosis. Int. J. STD. AIDS. 8: 124-129.
8. Boray-Llinares *et al.* (1999). Identification of *Cryptosporidium felis* in a cow by morphologic and molecular methods. 65: 1455-1458
9. Brownstein D, Strandberg J, Montali R, Bus M, Fortner J. (1977). *Cryptosporidium* in Snakes with hypertrophic gastritis. Vet Pathology. 14: 606-17.
10. Campbell I, Tzipori S, Hutchinson G & Angus KW. (1982). Effect of disinfectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts. Vet Rec. 111: 414-415.
11. Casemore DP. (1987). The antibody response to *Cryptosporidium*: development of a serological test and its use in a study of immunologically normal persons. Journal of Infection. 14: 125-134.
12. Casemore DP. (1990). Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. Epidemiology Infect. 104: 1-28.
13. Chacín-Bonilla L. (2001). Importancia de las diferentes especies y genotipos de *Cryptosporidium* en Salud Pública. Investigación Clínica. 42(2): 83-85.
14. Clark DP & Sears CL. (1996). The Pathogenesis of Cryptosporidiosis. Parasitology Today 12(6): 221-225.
15. Clavel A, Arnal AC, Sánchez EC, Varea M, Castillo FJ, Ramírez de Ocariz I, Quílez J & Cuesta J. (1995). Evaluation of the Optimal Number of Faecal Specimens in the Diagnosis of Cryptosporidiosis in AIDS and Immunocompetent Patients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14: 46-48.
16. Cordell RL & Addiss DG. (1994). Cryptosporidiosis in child care settings: a review of the literature and recommendations for prevention and control. Pediatric Infectious Disease. 13:310-317.

17. Current WL & Bick PW. (1989). The immunobiology of *Cryptosporidium* spp. Pathology and Immunopathology Research. 8: 141-160.
18. Current WL & Garcia LS. (1991). Cryptosporidiosis. Clinic Microbiology Rev. 4: 325-328.
19. Current WL, Resse NC, (1986). A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. J. Protozool. 33: 98-108.
20. Current WL. (1988). The biology of *Cryptosporidium*. ASM News .54: 605-611.
21. De la fuente R, Luzón M, Ruiz SQJA, García A, Cid D, Orden JA, García S, Sanz R, Gomez BM. (1999). *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30 day old diarrheic dairy calves in central Spain. Vet. Parasitol. 80: 179-185.
22. DuPont HL, Chapell CL, Sterling CR, Okhuysen PC, Rose JB & Jakubowski W. (1995). The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. 332: 855-859.
23. Elroy DM, Laila HS, Gudrun E. (1987). *Cryptosporidium* antibodies in Manitoba cattle: a pilot study using an indirect fluorescent antibody procedure. Can Vet. J. 28: 126-128.
24. Elroy DM, Laila HS, Koschik C. (1986). Infection with *Cryptosporidium* spp. In humans and cattle in Manitoba. Can J Vet. Res. 50: 174-178.
25. Fayer R, Guidry A and Blagburn BL. (1990). Immunotherapeutic efficacy of bovine colostrum immunoglobulins from a hyperimmunized cow against cryptosporidiosis in neonatal mice. 58: 2962-2965.
26. Fayer R, Speer CA, Dubey JP. (1997). The general biology of *Cryptosporidium*. P. 40-41.
27. Fayer R, Trout JM, Graczyk TK, Lewis EJ. (2000). Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Eimeria* infections in post weaned and adult cattle on three Maryland farms. Vet. Parasitol. 93: 103-112.
28. Fayer R. (2004). *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. Veterinary Parasitology. 126: 37-56.
29. Finch GR, Black EK, Gyurek L & Belosevic M. (1993). Ozone inactivation of *Cryptosporidium parvum* in demand free phosphate buffer determined *in vitro* excystation and animal infectivity. Appl. Environ Microbiology. 59: 4203-4210.
30. Garber LP, Salman LD, Hurd HS, Keefe T, Schlater JL, (1994). Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. JAVMA. 205: 86-91.
31. Genta RM, Chappell CL, White AC Jr, Kimball KT & Goodgame RW. (1993) Duodenal morphology and intensity of infection in AIDS-related intestinal cryptosporidiosis. Gastroenterology. 105:1769-75.
32. Goebel EF & Braendler U., (1982). Ultrastructure of Microgametogenesis, Microgametes and ametogamy of *Cryptosporidium* sp in the small intestine of Mice. Protistologica T. XVIII. 3: 331-334.
33. Goldfarb J, Tnnowitz H, Grossner R, Bonanno C, Kaufman D, Ma P et al. (1982). Cryptosporidiosis assessment of chemotherapy of males with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Morbid Mortal Weekly Rep. 31: 589-591.

34. Harp JA, Wannemuehler MW, Woodmansee DB & Moon HW. (1988). Susceptibility of germfree or antibiotic treated adult mice to *Cryptosporidium parvum*. *Infect and Immunity*. 56: 2006-2010.
35. Hashim A, Mulcahy G, Bourke B, and Clyne M. (2006). Interaction of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum* with primary human and bovine intestinal cells. *Inf. And Inm*. Vol. 74, No. 1: 99-105.
36. Heine J, Moon HW & Woodmansee DB. (1984). Persistent cryptosporidiosis infection in congenitally athymic (nude) mice. *Infect Immunology*. 43: 856-859.
37. Henriksen S & Pohlenz J. (1981). Staining of *Cryptosporidium* by modified Ziehl-Neelsen technique. *Act. Vet. Scand*. 22: 594-596.
38. Ignatius R, Lehmann M, Miksits K, Regnath T, Arvand M, Engelmann E, Futh U, Hahn H and Wagner J. (1997). A New Acid-Fast Trichrome Stain for Simultaneous Detection of *Cryptosporidium parvum* and Microsporidial Species in Stool Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 35(2): 446-449.
39. Kelly P, Thillainayagam V, Smithson J, Hunt JB, Forbes A, Gazzard BG & Farthing MJG. (1996). Jejunal Water and Electrolyte Transport in Human Cryptosporidiosis. *Digestive Diseases and Sciences*. 41(10): 2095-2099.
40. Kim CW. (1994). Laboratory animal models for experimental cryptosporidiosis: a mini-review. *Research and Reviews in Parasitology*. 54(1): 13-28.
41. Lawson LD & Powell DW. (1987). Bradykinin stimulated eicosanoid synthesis and secretion by rabbit ileal components. *Am J Physiol*. 252: 783-790.
42. Mackenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE et al. (1994). A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. 331: 161-167.
43. Masuno K, Yanai T, Hirata A, Yonemaru K, Sakai H, Satoh M, Masegi T and Nakai Y. (2006). Morphological and Immunohistochemical features of *Cryptosporidium andersoni* in cattle. *Vet. Pathol*. 43: 202-207.
44. Meisel JL, Perera DR, Meligro C, Rubin CE. (1976). Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in a immunosuppressed patient. *Gastroenterology*. 70: 1156-1160.
45. Mohammed HO, Wade SE, Schaaf S. (1999). Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Vet. Parasitol*. 83: 1-13.
46. Montero JA, Sinnott JT, Holt DA & Lloyd C. (2001). Biliary Cryptosporidiosis: Current Concepts. *Infect. Med*. 18(6): 305-311.
47. Moore R et al. (1995). Temporal changes in permeability and structure of piglet ileum after site specific infection by *Cryptosporidium parvum*. *Gastroenterology*. 108: 1030-1039.
48. Navin TR. (1985). Cryptosporidiosis in humans: review of recent epidemiologic studies. *Eur J. Epidemiology*. 1: 77-83.

49. Newman RD, Zu SX, Wuhib T, Lima AAM, Guerrant RL & Sears CL. (1994). Household Epidemiology of *Cryptosporidium parvum* Infection in an Urban Community in Northeast Brazil. *Ann. of Intern. Med.* 120(6): 500-505.
50. Nime FA, Burek JD, Page DL, Holscher MA, Yardley JH. (1976). Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology.* 70: 592-598.
51. Panciera RJ, Thomassen RW, Garner FM. (1971). Cryptosporidial infection in a calf. *Veterinary Pathology.* 8: 479-484.
52. Parte Pérez MA, Bruzual E, Brito A, Hurtado MP. (2005). *Cryptosporidium* spp. y Criptosporidiosis *Rev. Soc. Ven. Microbiol. V. No. 25:* 1-3.
53. Peeters JE, Villacorta E, Vanopdenbosch E, Vandergheynst D, Naciri M, Mazas EA, Yvone P. (1992). *Cryptosporidium parvum* in calves: Kinetics and immunoblot analysis of specific serum and local antibody responses (Immunoglobulin A [IgA], IgG, and IgM) after natural and experimental infections. 60: 2309-2316.
54. Prescott LM, Harley JP & Klein DA. (1999). *Microbiología.* McGraw-Hill. Interamericana, 4ª Ed. Madrid. 21. Stuart Walker T. (1999). *Microbiología,* 1ª Ed. Mc Graw Hill Interamericana, México.
55. Reif JS, Wimmer L, Smith JA, Dargatz DA, Cheney JM. (1989). Human cryptosporidiosis associated with an epizootic in calves. *Vol. 79:* 1528-1530.
56. Robertson LJ, Campbell AT & Smith HV. (1992). Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. 58: 3494-3500.
57. Romero MRD, Pedrozo PRH y Vera E. (1996). La cryptosporidiosis en terneros recién nacidos, su etiología, patogenia, síntomas, tratamiento y profilaxis. *Facultad de ciencias veterinarias. Revista de ciencia y tecnología.* Vol. 1, No. 3: 99-107.
58. Ronald SV & Andrew AL. (2005). HIV swiftly guts the immune system. *Nature Medicine.* 11(5): 469-470.
59. Roseblatt JE and Sloan LM. (1993). Evaluation of an enzyme linked immunosorbent assay for detection of *Cryptosporidium* spp. In stool specimens. *J. Clin. Microbiol.* 31: 1468-1471.
60. Ruest N, Faubert GM, Couture Y, (1998). Prevalence and geographical distribution of *Giardia* spp. And *Cryptosporidium* spp. In dairy farms in Quebec. *Can Vet. J.* 39: 697-700.
61. Sanford SE, Josephson GKA. (1982). Bovine cryptosporidiosis: clinical and pathological findings in forty-two scouring neonatal calves. *Can Vet. J.* 23: 343-347.
62. Skeels MR, Sokolow R, Hubbard CV and Foster LR. (1986). Screening for Coinfection with *Cryptosporidium* and *Giardia* in Oregon Public Health Clinic Patients. *American Journal of Public Health.* 76(3): 270-271.

63. Sloper KS, Dourmashkin RR, Bird RB, Slavin G & Webster ADB. (1982). Chronic malabsorption due to cryptosporidiosis in a child with immunoglobulin deficiency. *Gut*. 23: 80-82.
64. Smith NH, Cron S, Valdez LM, et al. (1998). Combination drug therapy for cryptosporidiosis in AIDS. *J. infect. Dis.* 178: 900-903.
65. Soave R, Johnson WD. (1988). *Cryptosporidium* and *Isospora belli* infections. 157: 225-229.
66. Sorvillo FJ, Lieb LE, Kerndt PR, Ash LR. (1994). Epidemiology of cryptosporidiosis among persons with acquired immunodeficiency syndrome in Los Angeles County. *Am J Trop. Med. Hig.* 51(3): 326-331.
67. Sundermann CA, Lindsay DS & Blagburn BL. (1987). Evaluation of disinfectants for ability to kill avian *Cryptosporidium* oocysts. 1: 36-39.
68. Tyzzer E., (1912). *Cryptosporidium parvum*, a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch Protistenkd.* 26: 394-412.
69. Uga S, Matsuo J, Kono E, Kimura K, Inoue M, Rai SK, Ono K, (2000). Prevalence of *C. parvum* infection and pattern of oocysts shedding in calves in Japan. *Vet. Parasitol.* 94: 27-32.
70. Varela, N. (2002). Grupo de Estudio de Animales Silvestres, Universidad Nacional de Colombia (Boletín GEAS). Volumen V, No.1: 4-13.
71. Vargas SL, Shepnep JL, Flynn PM, et al. (1993). Azithromycin for treatment of severe *Cryptosporidium* diarrhea in two children with cancer. *J. Pediatric.* 123: 54-56.
72. Wilson PJ, Acres SD. (1982). A comparison of dichromate solution floatation and fecal smears for diagnosis of cryptosporidiosis in calves. *Can Vet. J.* 23: 240-246.