

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“Estudio microscópico de *Cryptosporidium* spp en palomas *Columba livia* capturadas en hatos lecheros de la Comarca Lagunera”

POR:

CELIA SOCORRO TOSCANO CAMPOS

T E S I S

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“Estudio microscópico de *Cryptosporidium* spp en palomas *Columba livia* capturadas en hatos lecheros de la Comarca Lagunera”

POR:

CELIA SOCORRO TOSCANO CAMPOS

T E S I S

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

T E S I S

**“Estudio microscópico de *Cryptosporidium* spp en
palomas *Columba livia* capturadas en hatos lecheros
de la Comarca Lagunera”**

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA

PRESIDENTE DEL JURADO

M.C. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

M.C. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS

“Estudio microscópico de *Cryptosporidium* spp en palomas *Columba livia* capturadas en hatos lecheros de la Comarca Lagunera”

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESIDENTE

MC. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA

VOCAL

M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL

M.V.Z. JOSÉ LUIS GÜÉMEZ JIMÉNEZ

VOCAL SUPLENTE

M.C. SERGIO IGNACIO BARRAZA ARAIZA

INDICE

	Página
DEDICATORIAS	i
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	v
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Etiología	4
2.2 Morfología	6
2.3 Ciclo Biológico	8
2.4 Diagnóstico	11
2.5 Epidemiología	14
2.6 Transmisión	17
2.6.1 Fuentes y rutas de transmisión	18
2.7 Signos y Lesiones	20
2.8 Patogenia	25
2.9 Tratamiento y Prevención	26
III. JUSTIFICACIÓN	29
IV. OBJETIVOS	30
V. MATERIAL Y METODOS	31
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
VII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS	36
VIII. LITERATURA CITADA	37

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

MIGUEL ANGEL TOSCANO SANCHEZ Y EMELIA CAMPOS

AVILA

A ti papá por guiar mis pasos, por protegerme y sobre todo por darme la oportunidad de seguir adelante, has sido el hombre mas admirable, el padre trabajador que se ha esforzado día con día para sacar a su familia adelante, gracias a tu sabiduría, alegría, dureza y rectitud he logrado terminar mi profesión, has sido el padre mas comprensivo y amoroso, gracias por creer siempre en mí, por estar siempre a mi lado, por darme tu apoyo incondicional, por inculcarme tus valores, me enseñaste a trabajar, y sobre todo por enseñarme a enfrentar mis problemas. “Solo tu sabes cuanto te quiero papá”.

A ti mamá que con tu cariño y amor siempre estuviste al pendiente de mí, por ser la mujer más valiente, la que se enfrento a todo para que saliera adelante, por guiar mis pasos para que no cayera y sobre todo por darme tus consejos, tu apoyo incondicional y por darme todo lo necesario para que pudiera realizarme como mujer y como profesionista, gracias por estar siempre a mi lado. “Tu mamá eres la mujer que mas admiro y amo”.

A MI HIJO

HECTOR MANUEL BOBADILLA TOSCANO

Gracias por enseñarme a ser una madre, fuiste una bendición cuando llegaste a mi vida, me has llenado de alegría, me enseñaste a sonreír, a valorar la vida, a conocer la paciencia, eres la fuente de mis esfuerzos, el motivo por el cual debo seguir adelante y sobre todo seguir esforzándome mas cada día. Ahora eres la luz de mi vida, el motivo más grande para no dejarme caer y seguir superándome como profesionista y como madre.

A MI ESPOSO

HECTOR MANUEL BOBADILLA DELGADILLO

Con todo mi amor para el hombre mas paciente, dulce y comprensivo; gracias por enseñarme a amar sin dar algo a cambio, por tu apoyo incondicional, ahora tu y mi hijo son mi presente y mi futuro, la fuerza que necesito para seguir preparándome como profesionista, como esposa y como madre. Gracias por pasar conmigo los mejores momentos, contigo he vivido muchas alegrías y tristezas, pero sobre todo gracias por darme un hijo maravilloso, el cual a cambiado nuestras vidas por completo.

A MIS HERMANOS

MIGUEL ANGEL Y ALEJANDRA TOSCANO CAMPOS

A mi hermana por apoyarme incondicionalmente, por ser la hermana más tierna, la de carácter inestable, gracias por ser la persona que me comprendió cuando más lo necesitaba, por ser mi cómplice y mi amiga, y por preocuparse siempre por mí, eres la mejor hermana.

A mi hermano por ser el hombre sensible, por cuidarme y sobre todo por ser el hermano que ha estado a mi lado y el que ha compartido muchas alegrías conmigo.

A MI ABUELITA

CELIA SOCORRO SANCHEZ FRANCO

Gracias por ser la abuelita más dulce, tierna y comprensiva, por apoyarme, cuidarme, por darme sus buenos consejos, los cuales me alentaban para regresar a culminar mis estudios, gracias por apoyarme cuando más lo necesite, y sobre todo por comprenderme. Usted ha sido el pilar más fuerte que he conocido, la abuelita que ha sostenido a una gran familia unida, la que con su amor, nos ha brindado un gran seno familiar.

AGRADECIMIENTOS

A MI ALMA TERRA MATER

Por darme la oportunidad de formarme como profesionista, y sobre todo por darme las herramientas para que pueda enfrentarme en la vida profesionalmente.

M.C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZALEZ

Con admiración y respeto, gracias por la paciencia y confianza que me otorgo y sobre todo por sus valiosos minutos, los cuales fueron primordiales para que pudiera realizar este trabajo. Sin su ayuda jamás hubiera realizado este trabajo.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

Quetzalcoatl, Yazmin, Ivonne, Nancy, Nena, David, Wilbert, Pat, Cinthia, con ustedes pase los mejores momentos durante esta instancia en esta Universidad.

RESUMEN

Se capturaron de 94 palomas *Columba livia* de 10 hatos lecheros de la Comarca Lagunera. Se sacrificaron humanitariamente y posteriormente se les practicó la necropsia para obtener muestras de heces directamente del intestino, se realizaron frotis con las heces, se tiñeron con la técnica de Ziehl Neelsen modificada y fueron observadas al microscopio a 40 aumentos. De los 10 hatos lecheros, 4 (40 %) fueron positivos a la presencia de *Cryptosporidium* spp. Se encontraron 16 (17.02 %) palomas positivas que eliminaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Con estos resultados se concluye que las palomas juegan un papel importante en la transmisión de *Cryptosporidium* spp en hatos lecheros de la Comarca Lagunera.

I. INTRODUCCION

Los parásitos *Cryptosporidium* spp son protozoarios intracelulares obligados del *Phylum* Apicomplexa (Pérez *et al.*, 2005), este organismo se desarrolla y multiplica en las células epiteliales de los aparatos digestivos y respiratorios de vertebrados (Ortega-Mora *et al.*, 2002). Las infecciones ocurren predominantemente en animales muy jóvenes, solo los humanos al parecer son susceptibles en cualquier etapa de su vida (Butler y Mayfield *et al.*, 1996). En hospedadores inmunocompetentes, la infección es típicamente aguda y se autolimita, mientras que en individuos inmunocomprometidos tales como personas que reciben drogas inmunosupresivas y pacientes con SIDA, es comúnmente una enfermedad crónica (Guyot *et al.*, 2002).

La criptosporidiosis es una enfermedad zoonótica mundial emergente (Champlaud *et al.*, 1998). En mamíferos las criptosporidias carecen de hospedador específico y por eso son agentes zoonóticos (Holland *et al.*, 1990). La transmisión de la enfermedad ocurre por la ruta oral-fecal (Champlaud *et al.*, 1998), pero la infección resulta del consumo de agua subterránea contaminada o alimento contaminado (Holland *et al.*, 1990), ya sea de persona a persona, o gente que trabaja con animales cerca, pero las fuentes de agua han sido implicadas (Boak y Packman *et al.*, 2001). Las aves migratorias de diversas especies juegan un papel muy importante en el transporte y dispersión de microorganismos, entre estos está *Cryptosporidium* spp (Hubàlek *et al.*, 2004). El ooquiste es el mas importante contaminante del agua potable en los Estados Unidos, representando una amenaza en la salud pública, habiendo

causado numerosos brotes de la infección por contaminación de agua potable y recreacional (Graczyk *et al.*, 1996). *C. parvum* es la única especie que infecta a humanos, pero también infecta un amplio rango de vertebrados incluyendo la mayoría de animales principalmente rumiantes neonatos (Butler y Mayfield *et al.*, 1996; De Graaf *et al.*, 1999).

La transmisión de aves a mamíferos no se ha logrado, pero sin embargo la transmisión inversa (mamíferos a aves) esta bien documentada, pero el *Cryptosporidium* que se aísla de mamíferos es infeccioso para otros mamíferos, el aislado de aves son generalmente infecciosos para otras especies aviarias (Butler y Mayfield *et al.*, 1996). La infección por *Cryptosporidium* spp puede ser detectada en más de 30 especies de aves incluyendo pollos domésticos, pavos, patos, gansos, faisanes, codornices y una amplia variedad de aves silvestres y en cautiverio (De Graaf *et al.*, 1999; Ng *et al.*, 2006; Rodríguez *et al.*, 1997).

Las pérdidas económicas asociadas con esta enfermedad no solo se deben al resultado de la mortalidad, sino también al retraso del crecimiento de los animales que se recuperan, costo de medicamentos, asistencia veterinaria y el incremento del trabajo involucrado (De Graaf *et al.*, 1999; Quílez *et al.*, 2003).

En la Comarca Lagunera se ha informado de una frecuencia del 30 % de criptosporidiosis en diarrea de las terneras y por medio del presente estudio se pretende relacionar a las palomas como fuentes de infección de las becerras o contaminación del agua y del alimento (Delgado *et al.*, 2007).

II. ANTECEDENTES

El *Cryptosporidium* sp fue descrito por primera vez en 1907 por Tyzzer pero fue reconocido como patógeno humano en 1976. Tuvo real importancia a comienzos de la década del 80, asociado a las personas que padecían el síndrome de inmunodeficiencia adquirida en quienes el protozoo causa severas diarreas (Kosteski *et al.*, 2000).

Entre 1907 y 1955, *Cryptosporidium spp.*, se describió en muchas especies de animales y se creyó ser no patógeno. Durante los siguientes 20 años, las infecciones por criptosporidias fue asociada con enterocolitis en varios animales incluyendo pavos, serpientes de cascabel, el zorro común de Europa, pollos, conejillos de india, ovejas, monos Rhesus, perros, gatos, vacas, caballos, cerdos, ciervos, cabras, ardillas grises y mapaches (Parisi y Tierno *et al.*, 1995).

Cryptosporidium meleagridis, un protozoo primeramente observado en pavos, ha sido ligado por bastantes investigaciones a la criptosporidiosis en humanos. El *C. meleagridis* es la única especie conocida de *Cryptosporidium* que infecta tanto a especies aviarias como mamarias (Akiyoshi *et al.*, 2003).

Cryptosporidium fue primero reconocido como un patógeno transmitido por el agua durante una epidemia en Braun Station, Texas, donde mas de 2,000 individuos padecieron criptosporidiosis (EPA, 2001b).

La especie de mayor interés es *C. parvum*, que infecta las células epiteliales del intestino delgado y tiene además importancia desde el punto de vista sanitario, puesto que debido a su escasa especificidad de hospedador puede transmitirse al hombre a partir de los animales (Quílez *et al.*, 2003). Muchas especies de *Cryptosporidium* están presentes en animales de las cuales *C. parvum* y *C. hominis* son las causas mas importantes de criptosporidiosis en humanos y rumiantes (Zhou *et al.*, 2004).

Dos especies de *Cryptosporidium* son actualmente consideradas como patógenos validos en las especies de aves (*C. meleagridis* y *C. baileyi*) (EPA, 2001b). *C. meleagridis* junto con *C. parvum*, están asociados con la criptosporidiosis en humanos (Akiyoshi *et al.*, 2003). A pesar de que *C. parvum* no es infeccioso para vertebrados acuáticos y semiacuáticos, estos animales poiquilotérmicos pueden diseminar también los ooquistes ingeridos (Graczyk *et al.*, 1996).

Los gansos de Canadá pueden servir como transportadores accidentales de criptosporidias infecciosas en humanos y probablemente jueguen un papel menor en la transmisión del ciclo del patógeno de animal a humano (Zhou *et al.*, 2004).

2.1 Etiología

El género *Cryptosporidium* es el único género conocido de la familia *Cryptosporidiidae*. Las familias *Cryptosporidiidae*, *Sarcocystidae* y *Eimeriidae*

constituyen el suborden Eimeria. Los géneros de la familia *Sarcocystidae* (*Sarcocystis* y *Toxoplasma*) y de la familia *Eimeriidae* (*Eimeria* e *Isospora*) son patógenos bien conocidos para diferentes especies animales. Existen 4 características que distinguen a *Cryptosporidium spp* de otros protozoarios coccidianos, (i) Carencia de hospedador específicos, (ii) diferenciación después de la fijación dentro de una membrana parasitófora en una localización celular extracitoplasmática, (iii) un ooquiste que tiene 4 esporozoítos desnudos, (iv) los ooquistes son completamente esporulados antes de pasar por las heces (Holland *et al.*, 1990).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Cryptosporidium*

CLASIFICACION	NOMBRE	CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS
Phylum	<i>Apicomplexa</i>	Formas invasoras tiene complejo apical con revestimiento polar, roptrías, micronemas, conoides y microtúbulos
Clase	<i>Sporozoasida</i>	Locomoción de formas invasoras por flexión motora del cuerpo, o ondulación
Subclase	<i>Coccidiasina</i>	Ciclo de vida con merogonias, gametogonias y esporogonias
Orden	<i>Eucoccidiorida</i>	Se encuentran merogonias en hospedadores vertebrados
Suborden	<i>Eimeriorina</i>	Desarrolla gametos masculinos y femeninos independientemente
Familia	<i>Cryptosporidiidae</i>	Monoxeno (el ciclo de vida en un hospedador) con desarrollo de etapas justo bajo la membrana de la célula del hospedador; el ooquiste sin esporoquistes y con 4 esporozoitos; microgametos sin flagelo.

(Current y García *et al.*, 1991)

El número exacto de especies de *Cryptosporidium spp* no ha sido definido claramente. Sin embargo, *Cryptosporidium spp* ha sido nombrado según la

especie de hospedador del cual se aisló o que este sea capaz de infectar (Holland *et al.*, 1990). La clasificación taxonómica de los ooquistes de *Cryptosporidium* esta basada en la morfología del ooquiste, la especificidad del huésped y el sitio anatómico de la infección (Jellison *et al.*, 2004; Champlaud *et al.*, 1998).

Otras especies de *Cryptosporidium* morfológicamente distintos tienden a encontrarse en reptiles, aves y mamíferos pero no tienen nombre (Xiao *et al.*, 2004). De acuerdo con Barer y Wright (1990), hay al menos cuatro especies ampliamente aceptados actualmente sobre esto: Dos que infectan aves (*C. baileyi*, *C. meleagridis*) y dos que infectan mamíferos (*C. muris*, *C parvum*) (Butler y Mayfield *et al.*, 1996).

2.2 Morfología

Aunque los ooquistes de muchos *Cryptosporidium* spp son morfológicamente similares, las medidas morfométricas de los ooquistes pueden jugar un papel vital en la diferenciación de algunos *Cryptosporidium* spp. Por ejemplo, las especies establecidas en aves y reptiles pueden ser fácilmente diferenciadas en base al tamaño y forma del ooquiste (Xiao *et al.*, 2004).

Los ooquistes son de forma ovoide y pequeño tamaño de 5 X 4.5 micrómetros son las formas de resistencia que se eliminan con las heces de los animales parasitados y son los estadios de mayor importancia para la dispersión,

supervivencia e infectividad del parásito, así como para su detección e identificación (Quílez *et al.*, 2003).

Cuadro 2. Especies de *Cryptosporidium* consideradas validas.

Especies	Autor	Hospedador
<i>C. ganí</i>	Barrer and Carbonell, 1974	<i>Ovies aries</i> (oveja domestica)
<i>C. ameivae</i>	Arcay y Bastardo 1969	<i>Ameiva ameiva</i> (Lagarto)
<i>C. anserinum</i>	Proctor y Kemp, 1974	<i>Anser anser</i> (Ganso doméstico)
<i>C. baileyi</i>	Current <i>et al.</i> , 1986	<i>Gallus gallus</i> (Pollo doméstico)
<i>C. bovis</i>	Barrer y Carbonell, 1974	<i>Bos Taurus</i> (ox)
<i>C. crotali</i>	Triffit, 1925	<i>Crotalus confluens</i> (Serpientes)
<i>C. ctenosauris</i>	Duszynski, 1969	<i>Lagarto costarricense</i>
<i>C. cuniculus</i>	Inman y Takeuchi, 1979	<i>Oryctolagus cuniculus</i> (Conejo doméstico)
<i>C. felis</i>	Iseki, 1979	<i>Felis cati</i> (Gato doméstico)
<i>C. garnhami</i>	Bird, 1981	<i>Homo sapiens</i> (Hombre)
<i>C. lampropeltis</i>	Anderson <i>et al.</i> , 1968	<i>Lampropeltis calligaster</i> (Lagarto)
<i>C. meleagridis</i>	Slavin, 1955	<i>Meleagris gallipavo</i> (Pavo)
<i>C. muris</i>	Tyzzzer, 1907	<i>Mus musculus</i> (Ratón doméstico)
<i>C. nasorum</i>	Hoover <i>et al.</i> , 1981	<i>Naso literatus</i> (Peces)
<i>C. parvum</i>	Tyzzzer, 1912	<i>Mus musculus</i>
<i>C. reís</i>	Levine, 1981	<i>Macaca mulatta</i> (Mono rhesus)
<i>C. serpentis</i>	Levine, 1981	Serpientes
<i>C. tyzzeri</i>	Levine, 1961	<i>Gallus gallus</i> (Pollo doméstico)
<i>C. vulpis</i>	Wetzel, 1938	<i>Vulpes culpes</i> (Zorro común de Europa)
<i>C. wrairi</i>	Vetterling <i>et al.</i> , 1971	<i>Cavia porcellus</i> (Conejillo de india)

Fayer y Ungar *et al.*, 1986.

El ooquiste contiene 4 esporozoitos, los esporozoitos son móviles de 1 micrómetros, los cuales se adhieren e invaden las células epiteliales absorbentes que revisten el tracto gastrointestinal (Clark *et al.*, 1999).

2.3 Ciclo biológico

El ciclo biológico es monoxeno y todas sus fases sexuales y asexuales ocurren en un mismo hospedador, este se parece estrechamente a otros protozoarios coccidianos (Ortega-Mora *et al.*, 2002; Holland *et al.*, 1990).

Los ooquistes maduros son vertidos en las heces del hospedador infectado, entonces a través de la contaminación del medio ambiente, agua o comida los ooquistes son ingeridos por otros hospedadores adecuados (Butler y Mayfield *et al.*, 1996). En los rumiantes domésticos, el ciclo comienza cuando estos ooquistes son ingeridos seguido por el desenquistamiento en el tracto gastrointestinal del hospedador, liberándose del ooquiste los cuatro esporozoitos (Ortega-Mora *et al.*, 2002). La temperatura corporal de los mamíferos (alrededor de los 37 °C), las sales biliares y, posiblemente, la tripsina son los factores que más influyen en esta fase (Ortega-Mora *et al.*, 2002; Holland *et al.*, 1990). Una vez liberados, los esporozoitos alcanzan el borde luminal de los enterocitos mediante movimiento de contracción, extensión y deslizamiento. Allí se invaginan a manera de dedo de guante, siendo englobados por la membrana de la célula hospedadora, que encapsula al parásito en el interior de una vacuola parasitófora (Ortega-Mora *et al.*, 2002). Los esporozoitos y todo el subsiguiente desarrollo de etapas ocurren dentro de

la vacuola parasitófora localizado en la superficie de la célula. Este sitio intracelular extracitoplasmático es único de *C. parvum*. Dentro de la vacuola parasitófora, el esporozoito se diferencia en trofozoito. El núcleo de cada trofozoito maduro sufre una división asexual (merogonia ó esquizogonia), resulta en el desarrollo de merontes tipo I y Tipo II (Holland *et al.*, 1990; Butler y Mayfield *et al.*, 1996; De Graáf *et al.*, 1999). El meronte tipo I (primera generación de merontes) con seis a ocho merozoítos, los cuales una vez liberados, invaden nuevas células donde pueden manifestar desarrollo cíclico como merontes tipo I u originar merontes tipo II, constituidos sólo por cuatro merozoítos. Los merozoítos tipo II no exhiben desarrollo cíclico, pero darán origen a los estadios sexuales (gametogonia) diferenciándose unos en macrogamontes (femeninos) y otros, en microgamontes (masculinos). Estos últimos, sufren fisión múltiple dentro de la célula hospedadora y producen aproximadamente dieciséis microgametos, que una vez liberados se adhieren, penetran y fertilizan a los microgametos 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 cuatro esporozoitos. Esta fase del ciclo (esporogonia), también ocurre dentro del hospedador infectado (Díaz *et al.*, 2002b). El cigoto se desarrolla dentro de un ooquiste de membrana gruesa o membrana delgada contienen 4 esporozoitos desnudos. Los ooquistes de membrana gruesa son pasados en las heces y estos son infectivos fácilmente en huéspedes susceptibles. Los ooquistes de membrana delgada se rompe en el huésped liberando esporozoitos estos pueden invadir las células epiteliales adyacentes, reiniciándose el ciclo endógeno. Los esporozoitos liberados por los ooquistes de membrana delgada permiten a las

criptosporidia mantener infecciones persistentes en hospedadores inmunocomprometidos (Holland *et al.*, 1990; Butler y Mayfield *et al.*, 1996; De Graáf *et al.*, 1999).

Los microgametos carecen de flagelo y se dirigen hacia los macrogametes 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. La esporogonia tiene lugar en el interior de la célula hospedadora (Ortega-Mora *et al.*, 2002).

El 80 % de los ooquistes presenta una pared gruesa, constituyen las formas de resistencia que encontramos en el ambiente y son los responsables de la transmisión entre hospedadores. Los ooquistes de pared fina (20 %) están rodeados de una sola unidad de membrana (Ortega-Mora *et al.*, 2002), este se rompe tras la salida de la célula hospedadora, permitiendo la liberación de los esporozoitos que invaden nuevas células epiteliales. Este fenómeno, conocido como autoinfección, no se produce en la mayoría de los coccidios y se considera responsable de la persistencia de las infecciones por *Cryptosporidium* en ausencia de reinfección exógena y de una respuesta inmune protectora (Quílez *et al.*, 2003).

Por lo tanto, los criptosporidios tiene gran capacidad para reproducirse y diseminarse, ya que por un lado, presentan dos ciclo endógenos capaces de perpetuar la auto-infección, el primero por reciclamiento continuo de los

merontes Tipo I y el segundo, a través de los esporozoitos liberados por la ruptura de los ooquistes de paredes delgada. Por otro lado, los ooquistes esporulan dentro del hospedador infectado y son eliminados en estado infeccioso con las heces, siendo capaces de sobrevivir en el ambiente por un largo período de tiempo (Díaz *et al.*, 2002b).

Cada generación de parásitos puede desarrollarse y madurar de 12 a 14 horas. El rápido ciclo de vida mas los ciclos de auto infección pueden llevar a enormes cantidades de células parasitarias en el intestino, y la consecuente infección de sitios del duodeno y el intestino grueso. En los individuos inmunosuprimidos los parásitos han sido encontrados en el estomago, en el ducto biliar, en el ducto pancreático y tracto respiratorio (Holland *et al.*, 1990).

El periodo de prepatencia en los rumiantes domésticos es de 3-4 días, aunque en dependencia de la edad y de la dosis infectante puede prolongarse hasta 6 o 7 días (Ortega-Mora *et al.*, 2002).

2.4 Diagnóstico

El diagnóstico de la criptosporidiosis depende de la identificación del ooquiste esférico o componentes del ooquiste en el excremento o la etapa intracelular dentro de la muestras de una biopsia de la mucosa gastrointestinal en humanos. En tejidos, la simple tinción de hematoxilina y eosina son suficientes para identificar la morfología de las etapas de vida intracelular del parásito en su única localización apical dentro de las células epiteliales del intestino (Clark

et al., 1999; Power *et al.*, 2005; Holland *et al.*, 1990). Múltiples exámenes fecales pueden ser necesarios porque los animales arrojan los ooquistes periódicamente, sin embargo, los ooquistes son usualmente arrojados durante el curso de la enfermedad clínica (Holland *et al.*, 1990).

La demostración histológica de la etapa endógena unida al borde del cepillo de las células epiteliales es suficiente para el diagnóstico (Tpizori *et al.*, 1983). Entre las técnicas de tinción histológicas se ha empleado la hematoxilina-eosina, azul de toluidina, tinción de Masson, tinción de Maquiavelo y técnicas inmunohistoquímicas, como la peroxidasa-antiperoxidasa. Estos métodos no se emplean actualmente en el diagnóstico in vivo de la enfermedad, debido a su carácter invasivo, al costo humano y material y a su escasa sensibilidad (Ortega-Mora *et al.*, 2002).

Otros métodos usados para identificar los ooquistes incluye la técnica de flotación modificada con Sulfato de Zinc, técnica de flotación de heces y la tinción con Giemsa, técnica Ziehl-Neelsen modificada (Tpizori *et al.*, 1983), considerada ser la mejor prueba para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* en muestra de heces, recomendada sobre 14 métodos evaluados (Holland *et al.*, 1990), especialmente en combinación con el método de Sheater de concentración con solución glucosada (Parisi y Tierno *et al.*, 1995;).

Se puede utilizar la técnica de auramina/rodamina, seguida por la tinción de Ziehl Neelsen, esta es muy sensible y específica aprovechada como

herramienta para la identificación de los ooquistes de *Cryptosporidium* (Clark *et al.*, 1999).

También se ha utilizado la sedimentación en formol-eter, formol etilacetato. Tras la concentración, los ooquistes del parásito pueden observarse directamente al microscopio, aplicando alguna de las técnicas de tinción o bien utilizando alguna técnica inmunológica (Ortega-Mora *et al.*, 2002). Esta técnica resulta de gran importancia en infecciones asintomáticas o en estudios epidemiológicos (Díaz *et al.*, 2002a).

Entre las técnicas inmunológicas para la detección de ooquistes en las heces se encuentran la aglutinación en látex, ELISA captura antígenos parasitarios en heces (Ortega-Mora *et al.*, 2002), y la técnica de inmunofluorescencia para examinar la prevalencia del parásito en las heces y fuentes de agua (Tilley *et al.*, 1990). De todos estos métodos la inmunofluorescencia es la que presenta mayor sensibilidad y especificidad y es la técnica más frecuente empleada en el diagnóstico en el hombre (Ortega-Mora *et al.*, 2002; Holland *et al.*, 1990).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* pueden ser identificados en secciones de tejidos embebidos en parafina, por técnicas de inmunofluorescencia indirecta de anticuerpos, usando anticuerpos monoclonales específicos de *Cryptosporidium* (Current y García *et al.*, 1991).

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) proporciona un nuevo método que puede ayudar a detectar *Cryptosporidium* en los suministros de agua o portadores asintomáticos. Sin embargo, se ha reportado que algunos métodos

de PCR no pueden diferenciar entre *Cryptosporidium meleagridis* y varios genotipos de parásitos de *C. parvum* (Guerrant *et al.*, 1997; Sreter *et al.*, 2000). En un estudio se demostró que el PCR tiene el potencial a mejorar la actual detección estableciendo la capacidad del principal patógeno humano de las especies no patógenas (Lowery *et al.*, 2000).

2.5 Epidemiología

La transmisión de la criptosporidiosis se produce por ingestión de ooquistes eliminados previamente con las heces de otros animales parasitados que contaminan la cama de la explotación. El número elevado de ooquistes que excretan los animales enfermos durante la fase aguda de diarrea hace que constituyan la principal fuente de infección (Quílez *et al.*, 2003). Los becerros infectados típicamente reportan eliminación de 10^5 y 10^7 ooquistes por gramo de heces. Animales adultos asintomáticos también eliminan bajas concentraciones de ooquistes, superior a 10^4 por gramo de heces (Davies *et al.*, 2004).

Los animales silvestres y transportadores mecánicos como aves, insectos, fómites y humanos pueden actuar en la diseminación del parásito. La extrema resistencia de los ooquistes a las condiciones adversas del medio exterior es un factor importante en la epidemiología (Quílez *et al.*, 2003), puesto que pueden permanecer viables en el suelo o en el agua durante semanas o meses, dependiendo de las condiciones ambientales y son resistentes a la mayoría de los desinfectantes, incluyendo el cloro en las concentraciones

usadas en la purificación del agua (Díaz *et al.*, 2002a). Los ooquistes son capaces de conservar su infectividad durante 2 a 6 meses a 4 °C. Sin embargo, ésta se altera por el calor a 65 °C durante 30 minutos o por el frío a -18 °C durante 24 horas (Ortega-Mora *et al.*, 2002). La pasteurización de la leche a 71,7 °C durante 15 segundos, también aseguran su destrucción (Quílez *et al.*, 2003).

La ingestión de agua para beber contaminada con ooquistes es el mayor medio de transmisión (EPA. 2001a), se estima que del 80 al 96 % de fuentes de agua en los Estados Unidos están contaminados con *Cryptosporidium* (Kuhn *et al.*, 2002).

C. meleagridis es la única especie de *Cryptosporidium* conocido que infecta naturalmente a especies mamíferas (humanos) y aviarias (pavos) (Akiyoshi *et al.*, 2003). *C. baileyi* es también reconocida como una causa importante de enfermedad respiratoria en pollos (Current y García *et al.*, 1991). La criptosporidiosis aviar (*C. meleagridis* y *C. baileyi*) exhiben características que son únicas y eso las diferencia de la criptosporidiosis en mamíferos. Estos organismos tienen una predilección para infectar el epitelio del tracto respiratorio y digestivo de las aves (Holland *et al.*, 1990).

Se han descrito más de 79 especies de hospedadores. Los factores que contribuyen con la emergencia de criptosporidiosis en animales incluyen los rasgos biológicos del organismo, la carencia de tratamientos efectivos o

preventivos incrementan la contaminación del medio ambiente, y la tendencia en la producción de ganado (Mosier y Oberst *et al.*, 2000).

La distribución de la criptosporidiosis en los rumiantes domésticos es cosmopolita. En el ganado bovino, la criptosporidiosis afecta tanto a razas de carne como de leche y la prevalencia de la infección por *C. parvum* en terneros con diarrea es del 10 a 80 %. La prevalencia de hatos se ha calculado en un 59 % y el número en terneros infectados varía desde al 22 a 30 % (Delgado *et al.*, 2007).

En vacas, corderos y cerdos, la criptosporidiosis intestinal es caracterizada por alta morbilidad y alta mortalidad si está asociada con simultáneas infecciones bacterianas y virales (Holland *et al.*, 1990). Se estima que del 15 al 56 % de vacas productoras de leche excretan criptosporidios y quizá más del 90 % de los hatos de vacas productoras de leche en los Estados Unidos pueden tener *Cryptosporidium* spp (Roy *et al.*, 2004).

En la especie humana, la prevalencia es mayor en las áreas menos desarrolladas como Asia, África y América del Sur, con porcentajes entre el 3 y 20 %, con una especial repercusión en la población infantil de las zonas más desfavorecidas. En Europa y América del Norte los porcentajes son menores (Ortega-Mora *et al.*, 2002). En Haití y parte de África, mas del 50 % de los pacientes con SIDA están infectados con *Cryptosporidium* spp. Se ha reportado desde 6 continentes y en pacientes de 3 a 95 años de edad (Parisi y Tierno *et al.*, 1995).

2.6 Transmisión

La transmisión ocurre vía ingestión de los ooquistes infecciosos, eliminados en las heces de un hospedador infectado (Power *et al.*, 2005), los animales adultos que actúan como portadores asintomáticos posibilitan el mantenimiento de la infección (Quílez *et al.*, 2003), la transmisión ocurre a través de la ruta oral-fecal, pero la infección puede resultar mediante la ingestión de agua subterránea contaminada o alimento contaminado o por contacto con fomites (Holland *et al.*, 1990; Quílez *et al.*, 2003). Los humanos pueden adquirir las infecciones de *Cryptosporidium* por varias rutas de transmisión directa (Xiao *et al.*, 2004), de persona a persona o gente que trabaja con animales, o por contacto con objetos contaminados, aunque la relativa importancia de estas rutas no es conocida (Butler y Mayfield *et al.*, 1996; Boak y Packman *et al.*, 2001, Roy *et al.*, 2004).

En los rumiantes domésticos, la principal fuente de infección son las heces excretadas por los animales neonatos con diarrea, aunque también hay que considerar la eliminación de ooquistes por los adultos que actúan como portadores asintomáticos (Ortega-Mora *et al.*, 2002). La ingestión del agua potable contaminada con los ooquistes es el principal modo de transmisión (De Graáf *et al.*, 1999).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* son resistentes al medio ambiente, y la transmisión por medio del agua ha emergido como un problema de salud pública en todo el mundo. Especies de fauna, incluyendo ciervos, mapaches,

ardillas y otros roedores salvajes y aves, han sido identificadas como una fuente importante de contaminación por *Cryptosporidium* en cuencas. Además, muchos de estos hospedadores han sido implicados en la transmisión zoonótica (Power *et al.*, 2005).

La transmisión de aves a mamíferos no se ha logrado, pero sin embargo la transmisión inversa (mamíferos a aves) esta bien documentada, pero el *Cryptosporidium* que se aísla de mamíferos es infeccioso para otros mamíferos, el aislado de aves son generalmente infecciosos para otros especies aviarias (Butler y Mayfield *et al.*, 1996).

2.6.1 Fuentes

Las fuentes de infección y el modo de transmisión son muy variados, cepas de una especie de animal puede infectar a un amplio espectro de otras especies. De esta forma, cepas aisladas del hombre, terneros, corderos y cabritos han sido transmitidas por vía oral a corderos, terneros y lechones. Asimismo existen evidencias de transmisión interhumanas (Kosteski *et al.*, 2000).

Las fuentes de contaminación de agua superficial incluyen flujos de aguas residuales, descargas de aguas de desecho, desechos de rastros, desecho de materia animal fecal directa en el agua, la sedimentación indirecta vía desecho de tierra en donde el ganado pasta y/o vida salvaje, dispersión de estiércol y aguas residuales, y descarga de agua proveniente de tormentas. Los ooquistes de *Cryptosporidium* presentes en la tierra de depósitos animales han sido ligados cualitativamente y casualmente a eventos relacionados con el

incremento de concentración de patógenos en arroyos y pantanos (Davies *et al.*, 2004).

Los ooquistes localizados en fuentes de agua provenientes de materia fecal animal o humano entran en el agua corriente o subterránea, a veces como resultado de desplazamiento sobre la superficie después de una fuerte precipitación o por pobres prácticas de agricultura tales como fugas en tiendas de abono. Los cuerpos de agua corriente esta obviamente más en riesgo, y hasta recientemente se creía que los mantos subterráneos estarían protegidos por la acción de la filtración de la tierra y rocas entre la superficie y el cuerpo de agua. Sin embargo, ahora se sabe que los ooquistes pueden alcanzar agua subterránea y sobrevivir, incluso en condiciones anaeróbicas (Boak y Packman *et al.*, 2001).

La contribución de las aves acuáticas migratorias completa un riesgo para la salud pública de criptosporidiosis sigue siendo confusa. El transporte de ooquistes a través de las aves acuáticas migratorias ha sido demostrado. De hecho, una investigación con algunas especies aviarias demostró que los ooquistes conservan su infectividad después de pasar a través del tracto intestinal de los animales (EPA, 2001b). En un estudio se indicó que los gansos de Canadá juegan un papel de transportadores mecánicos de infecciones con *C. parvum* y diseminan el ooquiste infeccioso en el medio ambiente (Graczyk *et al.*, 1998; Zhou *et al.*, 2004).

Las aves acuáticas pueden servir como un mecanismo de esparcimiento a través del agua de este patógeno y puede diseminar el ooquiste infeccioso en un ambiente acuático. Muchas de las actividades diarias de un ave acuática involucran comer pasto en tierra y entrar en aguas superficiales con defecación dentro del agua. Se ha demostrado que comer pasto frecuentemente es un factor que predispone a las aves acuáticas a entrar en contacto con el patógeno que puede ser transmitido por vía acuática (Graczyk *et al.*, 1996).

Los insectos también pueden exponerse a transportar *C. parvum* en su superficie exterior o también en su tracto intestinal. La mosca doméstica se expone a las heces del bovino que contienen ooquistes de *C. parvum* transportando los ooquistes a otras superficies de declaración vía fecal (EPA, 2001a; Graczyk *et al.*, 1999).

En el medio ambiente el ooquiste criptosporidial es extraordinariamente resistente a la desinfección química (e.g. cloración del agua de beber) pero son susceptibles a temperaturas extremas de frío y calor (pasteurización) (Arrowood *et al.*, 2002).

2.7 Signos y Lesiones

Las infecciones son primeramente observadas en animales jóvenes y animales con sistema inmune comprometido, mientras que los animales adultos sanos contagiados pueden ser asintomáticos o desarrollar solo signos clínicos ligeros.

Los animales adultos frecuentemente aparecen asintomáticos mientras excretan un número pequeño de ooquistes (EPA, 2001a).

En muchos animales, la infección de *Cryptosporidium* no esta asociada con signos clínicos o asociada solamente con agudos, autolimitando la enfermedad. Algunos animales como los reptiles, serpientes o individuos que están inmunosuprimidos la infección por *Cryptosporidium* es frecuentemente crónica y puede ser fatal finalmente (Xiao *et al.*, 2004).

En los bovinos adultos aparentemente no causa enfermedad manifiesta, pero la producción de leche se ha visto significativamente reducida en la vacas afectadas (Díaz *et al.*, 2002a).

La infección por criptosporidiosis en las aves puede ser latente o asintomática. En algunas especies de aves la presencia del patógeno es más intensa y los signos clínicos mas obvios en aves jóvenes que en adultas (Hubálek *et al.*, 2004.)

Entre las especies de animales domésticos la mas afectada por criptosporidiosis es la bovina, en especial los neonatos de 4 a 30 días de edad, con una morbilidad alta del 10 a 85 %. El síndrome diarreico tiene una etiopatogenia compleja, pues cuando el *Cryptosporidium* es el único causante la mortalidad es baja, pero dependiendo de su asociación con otros agentes infecciosos, el grado de inmunidad y el estado del hospedador, la mortalidad puede ser alta (Ortolani y Soares *et al.*, 2003).

El periodo de prepatencia puede ser de 3 a 8 días, aunque lo normal son 3 o 4 días, prolongándose en animales mayores del mes y cuando la dosis infectante es muy baja. El periodo de prepatencia es similar al de la incubación, coincidiendo la presencia de la diarrea con el comienzo en la eliminación de ooquistes (Ortega-Mora *et al.*, 2002).

No existen signos patognomónicos que diferencien a la criptosporidiosis de procesos causados por otros enteropatógenos. El principal signo clínico de la criptosporidiosis en mamíferos es la diarrea profusa, asociada a la excreción de una gran número de ooquistes en las heces (Ortega-Mora *et al.*, 2002). Acompañando a la diarrea y dependiendo de diversos factores como la edad, el estado inmunitario y las condiciones ambientales se pueden presentar otros signos clínicos, como anorexia, dolor abdominal, deshidratación, pérdida de peso, postración y fiebre (EPA, 2001a; Ortega-Mora *et al.*, 2002; Xiao *et al.*, 2004). Si las condiciones ambientales son adversas y el manejo en la explotación no es bueno, se puede producir brotes con elevada mortalidad (Ortega-Mora *et al.*, 2002).

El color de las heces suele ser amarillento y no es normal la presencia de sangre. La duración de la diarrea es variable, oscilando entre 3 a 5 días en los casos leves y 1 a 2 semanas en los más graves. La excreción de ooquistes se eleva, en general, de 1 a 2 días después de iniciados los síntomas, alcanzando un máximo en los brotes de campo en la segunda semana, disminuyendo

posteriormente, siendo los niveles bajos en la tercera semana de vida (Ortega-Mora *et al.*, 2002).

En humanos, este organismo puede causar diarrea persistente de 1 a 3 semanas (Kuhn *et al.*, 2002). En individuos inmunocompetentes, especialmente los niños, la criptosporidiosis es aguda, pero la enfermedad se autolimita después de 8 a 20 días, sin embargo la persistencia indefinidamente es también mas severa en individuos inmunológicamente comprometidos, caracterizado por un comienzo de diarrea explosiva, profusa y aguada, puede contener moco, pero raramente sangre y leucocitos, y esta a menudo asociado con pérdida de peso (Current y García *et al.*, 1991; Uip *et al.*, 1998), usualmente de 1 a 2 semanas después de la exposición, aunque el periodo de incubación es corto de 2 días (Butler y Mayfield *et al* 1996). Otros síntomas menos frecuentes incluye dolor abdominal, malestar general, debilidad, fatiga, pérdida de apetito, náuseas, vómito, pérdida de peso y fiebre ($<39^{\circ}$ C) (Butler y Mayfield *et al* 1996; Jellison *et al.*, 2002). La duración de los síntomas y el resultado típicamente varía según el estatus inmune del hospedador (Current y García *et al.*, 1991).

En la mayoría de los rumiantes neonatos infectados se producen diversos grados de caquexia y deshidratación. El abomaso, con frecuencia, contiene leche sin digerir formando coágulos y el intestino delgado presenta enteritis congestiva, con la mucosa hiperémica, pero no hemorrágica. El contenido intestinal es, con frecuencia, amarillento y acuoso y suele existir acumuló de gas en ciego y colon. La actividad de la lactasa intestinal parece estar

disminuida, observándose restos de leche sin digerir en las heces de los animales (Ortega-Mora *et al.*, 2002).

Las infecciones por *Cryptosporidium* son principalmente concentradas en el intestino delgado distal pero las lesiones también son encontradas en el ciego y colon (De Graáf *et al.*, 1999). Los cambios histopatológicos acontecen transcurridas 48 a 72 horas de la infección, no existiendo cambios morfológicos importantes durante el desarrollo de las fases asexuales (Ortega-Mora *et al.*, 2002).

Las lesiones histológicas incluyen criptitis, disminución de la altura de la mucosa, atrofia de las vellosidades, y fusión de las vellosidades. Bioquímicamente, las actividades enzimáticas de la mucosa disminuyen. La pérdida de las vellosidades, disminuye la actividad enzimática de la mucosa y reduce el área de superficie de absorción comprometiendo la digestión intestinal y absorción de los nutrientes de la dieta. Ocurren problemas de digestión y mala absorción de nutrientes en vacas jóvenes infectadas con *Cryptosporidium* spp. La acumulación y la fermentación de nutrientes producen diarrea (Holland *et al.*, 1990).

La enfermedad intestinal de palomas (*Columba livia*) se caracteriza por diarrea y pérdida de peso. En palomas la criptosporidiosis se asocia con hiperplasia de las criptas intestinales e infiltración inflamatoria moderada en la lámina propia (Rodríguez *et al.*, 1997).

2.8 Patogenia

El mecanismo fisiopatológico que desencadena el cuadro diarreico en las infecciones por *C. parvum* no se conocen en su totalidad, la naturaleza e intensidad de la diarrea sugiere la participación de una enterotoxina, sin embargo, la enterotoxina del parásito no ha sido identificada (Robinson *et al.*, 2001; Butler y Mayfield *et al.*, 1996), es evidente que la mucosa intestinal padece lesiones directas provocadas por el desarrollo de las fases de esquizogonia en los enterocitos apicales, que se traducen en la atrofia y fusión de las vellosidades intestinales y la pérdida de enzimas digestivas del borde luminal, quedando la superficie de absorción claramente disminuida (Quílez *et al.*, 2003).

Esta invasión de los enterocitos por el parásito daña y destruye las células absorbentes y ocasiona su extensión al lumen intestinal (Ortega-Mora *et al.*, 2002).

Existe una respuesta del hospedador consistente en la infiltración de la lámina propia por células inflamatorias. Se ha sugerido que los macrófagos podrían producir factor de necrosis tumoral alfa que estimula la producción de prostaglandinas (PGE₂) por parte de los fibroblastos u otras células de la lámina propia que, a su vez, provoca la secreción de cloro e inhiben la absorción de NaCl. Esta interrupción en el balance de absorción/secreción puede conducir a la diarrea (EPA, 2001a).

2.9 Tratamiento y Prevención

A pesar de numerosas evaluaciones, no se han encontrado componentes efectivos contra las infecciones criptosporidial. Es mas, no se ha desarrollado una profilaxis adecuada que reduzca la susceptibilidad de la infección. En animales, un número de agentes antimicrobianos incluyendo los coccidiostatos, antibióticos de amplio espectro y antihelmínticos se han encontrado inefectivos (Holland *et al.*, 1990). En becerros experimentalmente infectados bajo condiciones controladas, productos tales como lasalocida, lactato de halofuginona, decoquinato y paromicina, lograron reducir la severidad y la duración de la diarrea asociada con la infección por *C. parvum*. Sin embargo, la efectividad de estos fármacos aún no ha sido confirmada en ensayos clínicos de campo (Díaz *et al.*, 2002b).

En animales, la inmunización pasiva por consumo de calostro maternal no es enteramente protectora. En vacas de granja donde ellos son expuestos constantemente desarrollan critosporidiosis intestinal incluso después de consumir suficientes inmunoglobulinas maternas (Holland *et al.*, 1990).

Desafortunadamente los ooquistes no son afectados por métodos convencionales de desinfección del agua potable, tales como la cloración y el tratamiento con rayos UV. Métodos físicos tales como la micro filtración puede remover un número significativo de ooquistes, pero la mayoría del agua subterránea tiene un mínimo de tratamiento antes de que el agua sea puesta

en el suministro, por esta razón es la necesidad de la evaluación para este riesgo (Boak y Packman *et al.*, 2001).

En la enfermedad clínica severa y la pobre respuesta a la terapia son observadas cuando se involucran con otros patógenos entéricos y cuando el tiempo es extremadamente frío (Holland *et al.*, 1990).

En ausencia de tratamientos efectivos para la criptosporidiosis resalta la necesidad de medidas preventivas (Spano *et al.*, 1998). De ahí se ha pensado en una vacuna preventiva de criptosporidiosis en humanos y otros animales, que aun no ha sido efectiva, en casos severos la terapia de rehidratación oral conduce a reponer fluidos y pérdidas de iones del cuerpo y el suministro de una nutrición adecuada es a menudo suficiente en la rehabilitación de becerros jóvenes (Butler y Mayfield *et al.*, 1996; Holland *et al.*, 1990).

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 puede reducir significativamente la morbilidad y difusión del parásito (Díaz *et al.*, 2002b).

Asegurar que los becerros en las primeras dos a tres semanas de vida, sean alojados en un ambiente con reducida contaminación, instalaciones para parición, limpios, secos y sin ocupación reciente por otros animales, genera condiciones apropiadas para los recién nacidos. Los becerros que presenten

diarrea deben ser aislados; esto es de gran importancia, ya que contribuirá a evitar la difusión de la enfermedad. Igualmente, deberá evitarse la presencia de otras especies de animales de explotación pecuaria o de compañía (Díaz *et al.*, 2002 b; Harp y Goff *et al.*, 1998).

III. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con los antecedentes descritos y tomando en cuenta que en la Comarca Lagunera recientemente se han realizado estudios epidemiológicos de criptosporidiosis en becerros encontrándose que del 25 al 30 % fueron positivos a la infección, la finalidad del presente trabajo fue analizar palomas *Columba livia* de hatos lecheros conocidos que tienen infecciones crónicas de ésta enfermedad, como una posible fuente de contaminación que pudiera estar involucrada en la infección, tomando como factor de riesgo la eliminación de los ooquistes de *Cryptosporidium* por parte de las palomas.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Determinar la frecuencia de *Cryptosporidium* spp en heces de palomas (*Columba livia*), en hatos lecheros de la Comarca Lagunera.

4.2. Objetivos Específicos

1. Realizar estudios microscópicos de heces frescas de palomas *Columba livia* para identificar ooquistes de *Cryptosporidium* spp, utilizando la tinción de Ziehl Neelsen modificada.
2. Medir la intensidad de infección de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en heces de palomas *Columba livia*, tomadas directamente del intestino.

IV. MATERIAL Y METODOS

Fase de campo. El trabajo de campo se realizó en 10 hatos lecheros de la Comarca Lagunera. Las palomas *Columba livia* fueron capturadas en cada uno de los hatos lecheros. Se muestrearon un total de 94 palomas, que fueron transportadas en refrigeración al lugar de trabajo.

Fase de laboratorio. Las muestras se trabajaron en el laboratorio de Patología de la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Se realizó la necropsia para obtener las heces fecales directamente del intestino para posteriormente procesarlas.

Procedimiento de la tinción. Se realizaron frotis con las heces frescas en portaobjetos y se dejaron secar al aire, se enjuagaron con agua, para teñirlas con la técnica de Ziehl Neelsen modificada, de acuerdo con las siguientes especificaciones: Se sumergieron por 30 minutos en Carbol-fucshina, posteriormente se lavaron en agua corriente hasta quitar el exceso de colorante, se decoloraron en alcohol ácido al 1 % (alcohol al 70 % al 1 % de ácido clorhídrico) hasta obtener un color rosa en la tinción, y así eliminar el exceso del colorante, se realizó la contratinción con azul de metileno por 5 minutos, después se lavó con agua corriente hasta quitar el exceso de colorante. Las muestras se prepararon para observarlas al microscopio, utilizando resina sintética y cubreobjetos, para ello se aclararon las muestras con alcohol etílico al 96 %, alcohol etílico absoluto y Xilol.

Interpretación de las observaciones. Los criterios de evaluación se basaron en la observación de los ooquistes de color rojo brillante. Se observaron con el objetivo 40X, se contabilizaron 50 campos ópticos antes de considerar un caso negativo.

La intensidad de infección se contabilizó de acuerdo al siguiente criterio:

Negativo	(-)	No se observaron ooquistes
Incipiente	(+)	Se observaron de 1 a 10 ooquistes
Leve	(++)	Se observaron de 11 a 20 ooquistes
Moderado	(+++)	Se observaron de 21 a 40 ooquistes
Severo	(++++)	Se observaron más de 41 ooquistes

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

De los 10 hatos lecheros muestreados, 4 (40 %) resultaron positivos a la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en las heces de palomas *Columba livia*. De las 94 muestras de heces de las palomas colectadas de los 10 hatos lecheros, 16 (17.02 %) fueron positivas a la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp.

El porcentaje de animales positivos con respecto al total de animales muestreados por hato fue de 22.2 hasta 100 %. La intensidad de la infección fue incipiente y leve de acuerdo al criterio de conteo utilizado.

Rodríguez *et al.*, (1997) identificaron criptosporidiosis intestinal en tres palomas jóvenes. Este fue el primer caso de criptosporidiosis reportado en palomas.

Por otra parte, Hubálek *et al.*, (2004) indicaron que las aves en libertad, incluyendo aves migratorias, pueden jugar un papel importante de transportadoras de este patógeno.

También Zhou *et al.*, (2004) mencionan que los gansos de Canadá pueden servir como transportadores accidentales de las infecciones de criptosporidias en humanos probablemente jueguen un papel menor en la transmisión de ciclo del patógeno de animal a humano.

Cuadro 3. Frecuencia de *Cryptosporidium* spp en palomas *Columba livia* en la Comarca Lagunera.

Establo	N	N/ %	+	% pm	% PPT
1	16	16	0	0	0
2	16	16(100)	5	31.25	31.25
3	4	4(100)	4	100.0	100.0
4	9	9	0	0	0
5	5	5	0	0	0
6	9	9	0	0	0
7	10	10(100)	5	50	50
8	9	9(100)	2	22.22	22.22
9	10	10	0	0	0
10	6	6	0	0	0
TOTAL	94	94(100)	16	17.02	17.02

N= Número total de palomas en el hato lechero.

n/ %= Porcentaje de las muestras de heces recolectadas de palomas.

+ = Positivos a *Cryptosporidium* spp.

% pm = Porcentaje de positivos en relación a las muestras.

% PPT= Porcentaje de positivos en relación a la población total.

Akiyoshi *et al.*, (2003) reportan que *C. meleagridis* es la única especie de *Cryptosporidium* conocida que infecta naturalmente a especies mamíferas (humanos) y aviarias (pavos).

Sreter *et al.*, (2000) comentan que algunos aislamientos de *C. parvum* de bovinos, se conoce que infectan a aves, porque los ooquistes de *C. meleagridis* y *C. parvum* no pueden ser diferenciados inequívocamente sobre la base del tamaño y de la morfología.

La técnica que se llevó a cabo en la investigación fue la de Ziehl Neelsen, esta se utilizó por ser de bajo costo y rápida para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* spp (Kehl *et al.*, 1995), además de que es muy sensible y específica en comparación con técnicas inmunológicas.

VII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

Las palomas *Columba livia* que habitan en hatos lecheros de la Comarca Lagunera presentan un 17.02 % de positividad a la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp.

Las palomas *Columba livia* son una posible fuente de contaminación de agua y alimentos de criptosporidias en los hatos lecheros de la Comarca Lagunera.

Se sugiere realizar estudios con otras técnicas de laboratorio con mayor especificidad y sensibilidad como PCR, para la identificación y caracterización de especies de los aislamiento de *Cryptosporidium* a partir de heces de palomas *Columba livia*.

VIII. LITERATURA CITADA

1. Akiyoshi, D., Dilo, J., Pearson, C., Chapman, S., Tumwine, J. y Tzipori, S. (2003). Characterization of *Cryptosporidium meleagridis* of human origin passaged through different host species. *Infect immune*. 71(4): 1828–1832
2. Arrowood, M. (2002). In vitro cultivation of *Cryptosporidium* species. *Clin Microbiol Rev*. 15(3): 390–400.
3. Boak, R. y Packman, M. (2001). A methodology for the assessment of risk of *Cryptosporidium* contamination of groundwater. *Quarterly J Engin Geology and Hidrogeology*. 34: 187-194.
4. Butler, B. y Mayfield, C. (1996). *Cryptosporidium* spp. - A review of the organism, the disease, and Implications for Managing Water Resources.
5. Champliaud, D., Gobet, P., Naciri, M., Vagner, O., Lopez, J., Buisson, J., Varga, I., Harly, G., Mancassola, R. y Bonnin, A. (1998). Failure to differentiate *Cryptosporidium parvum* from *C. meleagridis* based on PCR amplification of eight DNA sequences. *Applied Environ Microbiol*. 64(4): 1454–1458.
6. Clark, D. (1999). New insights into human cryptosporidiosis. *Clin Microbiol Rev*. 12(4):554-563.
7. Current, W. y García, L. (1991). Cryptosporidiosis. *Clin Microbiol Rev*. 4(3): 325-358.

8. Davies, C., Ferguson, C., Kaucner, C., Krogh, M., Altavilla, N., Deere, D. y Ashbolt, N. (2004). Dispersion and transport of *Cryptosporidium* oocysts from fecal pats under simulated rainfall events. *Applied Environ Microbiol.* 70(2): 1151–1159.
9. De Graaf, D., Vanopdenboscha, E., Ortega-Mora, L., Abbassi, H. y Peeters, J. (1999). A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Internal J Parasitol.* 29: 1269-1287.
10. Delgado, G.R., Mijagos, M.L., Espinoza, V.J., Salinas, A.A., Martínez, V.J. (2007). Epidemiología de Criptosporidiosis en Bovinos Holstein de la Comarca Lagunera, México.
11. Díaz, A., Ramírez-Iglesia, Nelson, L., De plaza, G., Reina, M., y Román R. (2002a). Excretion of *Cryptosporidium* spp. oocysts during postparturient, in crossbred cows of dual-purpose. *Revista Científica.* 7(2):614-616.
12. Díaz, A. (2002b). Criptosporidiosis en el ganado bovino [En línea], Octubre 2002. XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal. <http://www.saber.ula.ve/congresoavpa/pdf/adelinadiaz.pdf> (Consultado el 18 de octubre de 2007)
13. EPA, (2001a). *Cryptosporidium*: Drinking Water Health Advisory., [En línea]., Marzo 2001., Office of Science and Technology, Office of Water <www.epa.gov/waterscience/criteria/humanhealth/microbial/cryptoha.pdf> (Consultado el 13 de octubre de 2007).
14. EPA, (2001b). *Cryptosporidium*: Human Health Criteria Document., [en línea]., Marzo 2001., Office of Science and Technology., Office of Water.,

<www.epa.gov/waterscience/criteria/humanhealth/microbial/crypto.pdf>

(Consultado el 5 de octubre de 2007).

15. Fayer R. y Ungar B. (1986). *Cryptosporidium* spp. and Cryptosporidiosis. *Microbiol Rev.* 50(4): 458-483.
16. Graczyk, T., Cranfield, M., Fayer, R. y Anderson, M. (1996). Viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts are retained upon intestinal passage through a refractory avian host. *Applied Environ Microbiol.* 64(9): 3234–3237.
17. Graczyk, T., Fayer, R., Trout, J., Lewis, E., Farley, C., Sulaiman, I. y Lal, A. (1998). *Giardia* sp. cysts and infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in the feces of migratory Canada Geese (*Branta canadensis*). *Applied Environ Microbiol.* 64(7): 2736–2738.
18. Graczyk, T., Cranfield, M., Fayer, R., y Bixler, H. (1999). House flies (*Musca domestica*) as transport host of *Cryptosporidium parvum*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 61(3): 500–504.
19. Guerrant, R. (1997). Cryptosporidiosis: An emerging, highly infectious threat. *Emerging Infectious Diseases* 3(1): 51-57.
20. Guyot, K., Follet-Dumoulin, A., Recourt, C., Lelièvre, E., Cailliez, J. y Deic-Cas, E. (2002). PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of a diagnostic 452-Base-Pair DNA fragment discriminates between *Cryptosporidium parvum* and *C. meleagridis* and between *C. parvum* Isolates of Human and Animal Origin. *Applied Environ Microbiol.* 68(4): 2071–2076.
21. Harp, J. y Goff, J., (1998). Strategies for the control of *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *J Dairy Sci.* 81:289–294

22. Holland, R. (1990). Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clin Microbiol Rev.* 3(4): 345-375.
23. Hubálek, Z. (2004). An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. *J Wild Dis.* 40(4): 639–659.
24. Jellison, K., Distel, D., Hemond, H. y Schauer, D. (2004). Phylogenetic analysis of the hypervariable region of the 18S rRNA gene of *Cryptosporidium* oocysts in feces of Canada Geese (*Branta canadensis*): Evidence for five novel genotypes. *Applied Environ Microbiol.* 70(1): 452–458.
25. Jellison, K., Hemond, H. y Schauer, D. (2002). Sources and species of *Cryptosporidium* oocysts in the wachusett reservoir watershed. *Applied Environ Microbiol.* 68(2): 569-575.
26. Kehl, K., Cicirello, H. y Havens, P. (1995). Comparison of four different methods for detection of *Cryptosporidium* species. *J Clin Microbiol.* 33(2): 416-418.
27. Kosteski, R. (2000). Hallazgo de criptosporidiasis en una población rural, Costa Grande, San Luis del Palmar, Corrientes, Argentina. Jornadas Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Centro Nacional de Parasitología y Enfermedades Tropicales (CENPETROP).
28. Kuhn, R., Rock, C. y Oshima, K. (2002). Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild ducks along the Rio Grande River Valley in Southern New Mexico. *Applied Environ Microbiol.* 68(1): 161–165.
29. Lowery, C., Moore, J., Millar, B., Burke, D., Mccorry, K., Crothers, E. y Dooley, J. (2000). Detection and speciation of *Cryptosporidium* spp. in

- environmental water samples by immunomagnetic separation, PCR and endonuclease restriction. *J. Med. Microbiol.* 49: 779-785.
30. Mosier, D. y Oberst, R. (2000). Cryptosporidiosis: A Global Challenge. *Ann New York Academy of Sciences* 916: 102-111.
31. Ng, J., Pavlasek, I. y Ryan, U. (2006). Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from avian hosts. *Applied Environ Microbiol.* 72(12): 7548–7553.
32. Ortega-Mora, L., Gómez-Bautista, M., Rojo-Vázquez. (2002). Criptosporidiosis., Tomado de: Cordero, M. y Rojo, F., Parasitología Veterinaria. McGraw-Hill. Interamericana. 3ra Ed. (2002).
33. Ortolani, E. y Soares, P. (2003). Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en becerros de rebaños lecheros. *Parasitol Latinoam* 58: 122-127.
34. Parisi, M. y Tierno, P. (1995). Evaluation of new rapid commercial enzyme immunoassay for detection of *Cryptosporidium* oocysts in untreated stool specimens. *J Clin Microbiol.* 33(7): 1963–1965.
35. Pérez-Cordón, G., Rosales-Lombardo, M. y Sánchez-Moreno, M. (2005). Processing of fecal samples for study of *Cryptosporidium* sp. by PCR. *Rev. peru. biol.* 12(1): 158-160.
36. Power, M., Sangster, N., Slade, M. y Veal, D. (2005). Patterns of *Cryptosporidium* oocyst shedding by eastern grey kangaroos inhabiting an australian watershed. *Applied Environ Microbiol.* 71(10): 6159–6164.
37. Quílez, J., Sánchez, C. y Cacho E. (2003). Criptosporidiosis de los pequeños rumiantes. 4(2).

38. Robinson, P., Okhuysen, P., Chappell, C., Lewis, D., Shahab, I., Janecki, A. y White, C. (2001). Expression of tumor necrosis factor alpha and interleukin 1b in jejunum of volunteers after experimental challenge with *Cryptosporidium parvum* correlates with exposure but not with symptoms. *Infect Immun.* 69(2):1172–1174.
39. Rodríguez, F., Orós, J., Rodríguez, L., González, J., Castro, P. y Fernández, A. (1997). Intestinal cryptosporidiosis in pigeons (*Columba livia*). *Avian Disease.* 41: 748-750.
40. Roy, S., De Long, S., Stenzel, S., Shiferaw, B., Roberts, J., Khalakdina, A., Marcus, R., Segler, S., Shah, D., Thomas, S., Vugia, D., Zansky, S., Dietz, V. y Beach, M. (2004). Risk factors for sporadic cryptosporidiosis among immunocompetent persons in the United States from 1999 to 2001. *J Clin Microbiol.* 42(7): 2944–2951.
41. Spano, F., Putingnani, L., Crisanti, A., Sallicandro, P., Morgan, U., Blancq, S, Tchack, L, Tzipori, S. y Widmer, G. (1998). Multilocus genotypic analysis of *Cryptosporidium parvum* isolates from different hosts and geographical origins. *J Clin Microbiol.* 36(11): 3255–3259.
42. Sréter, T., Kovács, G., Da Silva, A., Pieniazek, N., Széll, Z., Dobos-Kovács, M., Variáligeti, K. y Varga, I. (2000). Morphologic, host specificity, and molecular characterization of a hungarian *Cryptosporidium meleagridis* isolate. *Applied Environ Microbiol.* 66(2): 735–738.

43. Tilley, M., Upton, S., Blagburn, B. y Anderson, B. (1990). Identification of outer oocyst wall proteins of three *Cryptosporidium* (Apicomplexa: *Cryptosporidiidae*) species by I surface labeling. *Infect Immun.* 58(1): 252-253.
44. Tzipori, S. (1983). Cryptosporidiosis in animals and humans. *Microbiol Rev.* 47(1): 84-96.
45. Uip, D., Lima, A., Amato, V., Boulos, M., Neto, V. y David, D. (1998). Roxithromycin treatment for diarrhoea caused by *Cryptosporidium* spp. in patients with AIDS". *J Antimicrobial Chemotherapy.* 41: 93–97.
46. Xiao, L, Fayer, R, Ryan, U. y Upton, S. (2004). *Cryptosporidium* Taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev.* 17(1): 72–97.
47. Zhou, L., Kassa, H., Tischler, M. y Xiao, L. (2004). Host-Adapted *Cryptosporidium* spp. in Canada Geese (*Branta canadensis*). *Applied Environ Microbiol.* 70(7): 4211–4215.