

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



**“Frecuencia de criptosporidiosis en becerras lactantes  
de la cuenca lechera de Cuauhtémoc, Chihuahua”**

**Por**

**Sandra Ivon Arreola Hernández**

**TESIS**

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

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Torreón, Coahuila, México**

**Febrero de 2011**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“Frecuencia de criptosporidiosis en becerras lactantes de  
la cuenca lechera de Cuauhtémoc, Chihuahua”**

**TESIS POR:**

**Sandra Ivon Arreola Hernández**

**ASESOR PRINCIPAL**

  
**M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ**

**Torreón, Coahuila, México**

**Febrero de 2011**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

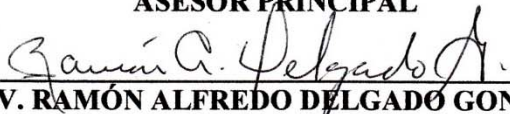
**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**TESIS**

**“Frecuencia de criptosporidiosis en becerras lactantes de  
la cuenca lechera de Cuauhtémoc, Chihuahua”**

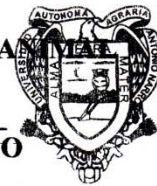
**APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE REVISIÓN**

**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**

**Febrero de 2011**

**“Frecuencia de criptosporidiosis en becerras lactantes de la cuenca lechera de Cuauhtémoc, Chihuahua”**

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.V.Z LUIS JAVIER PRADO ORTIZ

Torreón, Coahuila, México

Febrero de 2011

## INDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>ii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>iii</b>
<b>I.INTRODUCCION</b> .....	<b>1</b>
<b>II.JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>4</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>5</b>
<b>Objetivo general</b> .....	<b>5</b>
<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>5</b>
<b>IV.ANTECEDENTES</b> .....	<b>6</b>
<b>1.Historia</b> .....	<b>6</b>
<b>2.Epidemiología</b> .....	<b>8</b>
<b>3.Transmisión</b> .....	<b>9</b>
<b>4.Ciclo biológico</b> .....	<b>10</b>
<b>5.Patogenia</b> .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>6.Signos y lesiones</b> .....	<b>13</b>
<b>7.Diagnostico</b> .....	<b>14</b>
<b>8.Control y tratamiento</b> .....	<b>15</b>
<b>V.MATERIAL Y METODOS</b> .....	<b>17</b>
<b>VI.RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>19</b>
<b>VII.CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS</b> .....	<b>21</b>
<b>VIII.LITERATURA CITADA</b> .....	<b>22</b>

## **INDICE DE FIGURAS**

**Figura 1. Ciclo biológico de *Cryptosporidium* spp ..... 11**

**Cuadro 1. Número de becerros muestreados en 8 hatos lecheros de Cd.  
Cuauhtemoc, Chihuahua ..... 20**

## AGRADECIMIENTOS

A DIOS por haberme permitido culminar esta hermosa etapa de mi vida y por cumplir uno mas de esos sueños, por darme siempre la fuerza para seguir adelante y agradecer cada día que me permitió vivir y haber aprendido cosas nuevas a lado de todas esas personas que fueron, son y serán siempre parte de mi vida, maestros, amigos, compañeros, y agradecerle por haberme dado una linda familia que siempre estuvo preocupada por, apoyándome en todo lo que necesite.

A MIS PADRES, agradecerles por haber estado siempre conmigo en las buenas y en las malas, agradecerles por esas palabras de aliento cuando quise darme por vencida, por ese apoyo incondicional de su parte, por todos esos sacrificios que hicieron para hacer posible este sueño, por la confianza que depositaron en mí para poder cumplirlo y por enseñarme que si se puede salir adelante con esfuerzos y dedicación.

A MIS HERMANOS, Miguel Ángel, Karla Alejandra, Jesús Manuel, Gracias por su apoyo, por esa fe y confianza depositada en mí y por haber estado siempre que los necesite, los quiero mucho.

Al M.C.V. Ramón Alfredo Delgado González por haberme permitido realizar este trabajo bajo su tutela y por brindarme su apoyo y valioso tiempo que sin su ayuda no lo hubiera podido realizar.

A mi AMIGA Dulce Anel por brindarme siempre su apoyo cuando más lo necesite. A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS Que siempre serán parte de mi vida.

## RESUMEN

Con el objeto de determinar la frecuencia de *Cryptosporidium* spp. en establos lecheros de Cuauhtémoc, Chihuahua, se tomaron muestras de heces de 64 becerras lactantes hembras de 8 establos, de 1 a 21 días de edad, con signos clínicos de diarrea. Las heces se tomaron directamente del recto en bolsas estériles y se transportaron en refrigeración a la Unidad de Diagnóstico de la UAAAN, UL. Se procesaron las heces realizando extendidos en portaobjetos, los cuales se secaron al aire y se tiñeron con la técnica de Ziehl Neelsen modificada para la observación de los ooquistes y los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva, considerando positivos aquellos que se tiñeron de color rojo intenso con medidas aproximadas entre 4 a 6  $\mu\text{m}$ . Se observó que 39/64 (60.9%) de las muestras fueron positivas a la presencia de ooquistes y la intensidad de excreción se manifestó en los grados 1 y 4. Los ooquistes de *Cryptosporidium* spp fueron encontrados en 5 (62.5%) de los 8 establos examinados.

**Palabras clave.** Prevalencia, *Cryptosporidium* spp, Diarrea., Zoonosis, Ooquistes.



## I.INTRODUCCION

El género *Cryptosporidium*, que coloniza las células epiteliales que se encuentran a lo largo del tracto digestivo de una amplia variedad de vertebrados, incluyendo animales domésticos, silvestres y al ser humano. Actualmente, al menos trece especies así como varios genotipos han sido reconocidos en el género, empleando principalmente criterios morfológicos, moleculares y especificidad del huésped (1).

*Cryptosporidium parvum*, es un patógeno ubicuo entérico del phylum Apicomplexa, es un parásito común que habita en terneras y otras especies de vertebrados (23).

Los rápidos avances en biología molecular y técnicas bioquímicas hacen inevitable el reconocimiento de nuevas especies, subespecies y variedades. En consecuencia, tomó nota de las diferencias moleculares entre los aislados de *C. parvum* que infectan a los diferentes mamíferos han llevado al reconocimiento de dos grandes agrupaciones que infectan a los humanos: una zoonosis o genotipo 2 (cepa) capaz de infectar una gran variedad de mamíferos, especialmente de ganado (2).

El análisis molecular de *Cryptosporidium* ha puesto en manifiesto la complejidad del género y se identifican especies distintas cuya ooquistes son morfológicamente indistinguibles (30).

La criptosporidiosis es particularmente importante en becerros lactantes en los que puede ser la principal responsable de severos cuadros diarreicos, tanto por su acción como agente etiológico único, o como oportunista en infecciones intestinales de origen bacteriano, viral o en animales inmunocomprometidos, además el ganado adulto puede actuar como portador asintomático de este protozooario, representando una fuente de infección permanente para los animales jóvenes del hato, *C. parvum* es reconocido como una zoonosis (1).

La prevalencia en becerras lactantes de entre 1 a 30 días de edad, es generalmente elevada, observándose la mayor prevalencia entre los 8 a 14 días de edad (1).

El agente etiológico de la criptosporidiosis en el ser humano ha sido tradicionalmente atribuido a los protozoarios parásito *Cryptosporidium parvum*, sobre la base de microscopía de identificación de ooquistes o detección de antígenos de la pared de ooquistes en las heces, y la suposición de que todos los ooquistes se detectaron es monoespecífico. Sin embargo, las variantes de *C. parvum*, son reconocidos fenotípicamente y últimamente a través de los estudios genómicos, se derivan dos genotipos (1 y 2), de los cuales el genotipo 1 esta adaptado para los seres humanos (15).

*Cryptosporidium parvum* infecta a los seres humanos y animales y es considerado zoonosis. Por el contrario, *C. hominis* se transmite principalmente entre los seres humanos (16).

Morfológicamente, *C. hominis* y *C. parvum* son idénticos (29). Estas especies difieren en relación en el rango de hospedadores, infectividad, patogenicidad o sólo están empezando a evolucionar (24).

El objetivo de la presente investigación fue determinar la frecuencia de *Cryptosporidium spp.* en becerros lactantes en hatos lecheros de Cd. Cuauhtémoc, en el estado de Chihuahua.

## II.JUSTIFICACIÓN

De acuerdo a los antecedentes se han demostrado que *Cryptosporidium* spp es una enfermedad infecciosa severa que afecta principalmente a becerros lactantes, además de ser una de las zoonosis muy importantes que afecta principalmente a becerros y al hombre, y tomando en cuenta que su transmisión es principalmente por contacto directo, a través del agua y alimento contaminado, y sabiendo que este protozooario es resistente a diferentes condiciones ambientales, se pretende determinar la frecuencia de criptosporidiosis en becerras con y sin diarrea de 2 a 60 días de edad, en la cuenca lechera de Cuauhtémoc, Chihuahua.

### III. OBJETIVOS

#### Objetivo general

Investigar la prevalencia de *Cryptosporidium* spp en becerras lactantes, con diarrea, en la cuenca lechera de Cuauhtémoc, Chihuahua.

#### Objetivos específicos.

1. Tomar muestras de heces de becerras con y sin diarrea para la identificación de *Cryptosporidium* spp en heces.
2. Realizar frotis de las heces y teñir con la técnica de Ziehl Neelsen para la identificación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp.

## IV.ANTECEDENTES

### 1. Historia

El primero en establecer el género *Cryptosporidium* y reconocer su naturaleza multiespecífica fue Ernest Edward Tyzzer quien describió la especie, *C. muris* de las glándulas gástricas de ratones de laboratorio. Mas tarde publicó una descripción mas completa del ciclo de vida y posteriormente describió una segunda especie también en ratones de laboratorio.

Una variedad de especies fueron nombradas según el género. Estudios anteriores de microscopia refirieron en las etapas de *cryptosporidium* que posee un único organelo en lugar de los ooquistes, es la característica clave que define el genero y familia. En la actualidad es el componente integral de la definición taxonómica de esta familia desde 1961.

El análisis molecular de *Cryptosporidium* ha puesto en manifiesto la complejidad del género y se identifican especies distintas cuya ooquistes son morfológicamente indistinguibles (3).

Muchas especies de sarcocystis tienen oocistos con paredes muy delgadas que suelen romperse liberando ooquistes y cada uno contiene 4 esporozoitos que son resistentes a los desinfectantes químicos (4).

Un número creciente de especies de *Cryptosporidium* y genotipos están implicados como causa de enfermedades diarreicas en la población humana (3).

Estos incluyen *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. canis*, *C. parvum*, El rápido aumento de *Cryptosporidium* la investigación desde 1976 ha visto el número de validez especies aumentan a 20 y disminuir a 10 y es ahora de nuevo en alza a 13 (5).

Estudios posteriores demostraron que la transmisión cruzada de *cryptosporidium* que fue aislado de diferentes animales, con frecuencia se puede transmitir de un huésped a otro, esto puso fin a la práctica de la denominación de especies basada en el origen y sinonimia de muchos de estas nuevas especies de *cryptosporidium* como *C.parvum*.

Sin embargo por un breve periodo, estos estudios de transmisión, se utilizaron como evidencia de la naturaleza monoespecífica del género *cryptosporidium*, resultando el uso generalizado de *C.parvum* para los parásitos *cryptosporidium* para todo tipo de mamíferos, incluyendo a los seres humanos.

Varios parásitos *cryptosporidium* son nombrados durante o antes de el periodo, tales como *C. meleagridis* en pavos, *C. wairi* en conejillos de indias y *C. felis* en gatos, sin embargo sobreviven a las diferencias biológicas de las especies *C. parvum* y *C. muris*.

En los últimos años las características moleculares de *cryptosporidium*, han ayudado a aclarar la taxonomía de *cryptosporidium* y validan la existencia de múltiples especies en cada clase de vertebrados (3).

## 2. Epidemiología

La infección puede transmitirse de animal a persona o de persona a persona, a través del agua y los alimentos contaminados con material fecal, o por contacto con superficies medioambientales contaminadas. La transmisión animal ha sido claramente documentada con los dos genotipos predominantes de *C. parvum*. Los grandes brotes se han asociado fundamentalmente al agua, ya sea aguas de bebida (de grifo, lagos, arroyos).

En contraste con los escasos datos epidemiológicos que implican a los animales domésticos como fuente de criptosporidiosis en humanos, la transmisión de *C. parvum* desde becerros es inequívoca; se estima que el 50% de los becerros de las vaquerías excretan ooquistes y que el parásito está presente en más del 90% de los establos.

La alta prevalencia de animales infectados aconseja prudencia en la ingesta de leche no pasteurizada, incluso en población sana. *C. hominis* afecta únicamente al hombre y ha sido responsable de muchos brotes en todo el mundo, mientras que *C. parvum*, que parece ser el principal implicado en Europa, es capaz de infectar también a todas las especies de mamíferos, especialmente a animales recién nacidos; el genotipo 1 es el que más se aísla en humanos.

En la mayoría de los estudios y se asocia a una mayor intensidad y duración de la parasitosis. Las enfermedades transmitidas a través del agua, como la criptosporidiosis, están influenciadas por factores biológicos, medioambientales



y comunitarios. La elevada incidencia de la infección en la población y en los animales, el alto porcentaje de excreción de quistes y la estabilidad e infectividad de los mismos, son los factores biológicos que contribuyen a la alta concentración de parásitos en las aguas medioambientales y a la diseminación de la enfermedad.

La procedencia del agua es uno de los factores medioambientales clave; así, por ejemplo, las aguas residuales y las que reciben excrementos de ganado tienen una concentración diez a cien veces mayor de ooquistes (22).

### **3. Transmisión**

En Inglaterra y Gales hay un gran reservorio ambiental de *C. parvum* en el ganado y la transmisión está relacionada con contacto directo o indirecto (por ejemplo, a través de heces contaminadas y agua potable). El único de los grandes reservorios ambientales de *C. hominis* es el humano, y la infección se adquiere por contacto directo o indirecto con otros seres humanos o animales.

Recientes estudios moleculares epidemiológicos de la criptosporidiosis han ayudado a los investigadores a comprender mejor la transmisión de la criptosporidiosis en los seres humanos y la importancia para la salud pública de *Cryptosporidium spp.* en los animales y el medio ambiente (6).

Con el uso de herramientas de genotipos y cinco especies de *Cryptosporidium* (*C. hominis*, *C. parvum*, *C. meleagridis*, *C. felis*, y *C. canis*) han demostrado ser responsable de la mayoría de infecciones en humanos. De estas cinco especies, *C. hominis* y *C. parvum* es el más común (7).

Estos ooquistes son muy resistentes a la mayoría de estrés físico y condiciones ambientales por lo que la infección puede propagarse rápidamente a través de la ruta fecal-oral, cuando los animales están alojados en comunidad o de hacinamiento (8).

#### **4. Ciclo biológico**

*Cryptosporidium* presenta un ciclo de vida monoxeno, que tiene lugar dentro de la célula epitelial intestinal, donde todos los estados de desarrollo, sexual y asexual, ocurren en el mismo hospedador, no obstante, el parásito tiene especificidad para desarrollarse en una amplia variedad de mamíferos.

El animal se infecta después de la ingestión de ooquistes. En la luz intestinal los ooquistes liberan esporozoitos que se unen a los enterozoitos.

Los parásitos crecen, luego se dividen dentro de la vacuola parasitofora de la capa de las microvellosidades de las células epiteliales (9).

En estas células los parásitos se multiplican asexualmente (merogonia), después de 48 a 72 horas se rompe la célula huésped y libera los merozoitos móviles que se unen a la superficie del epitelio, que luego mediante diferenciación sexual (gametogonia) forman microgametocitos (masculino) y macrogametocitos (femenino) (27).

Después de la fertilización de los macro y microgametocitos se desarrollan los ooquistes que esporulan dentro del huésped infectado. Se producen dos tipos

de diferentes de ooquistes, el de pared gruesa, que es excretado por el hospedero y el ooquiste de la pared delgada, estos originan un ciclo autoinfectivo (9).

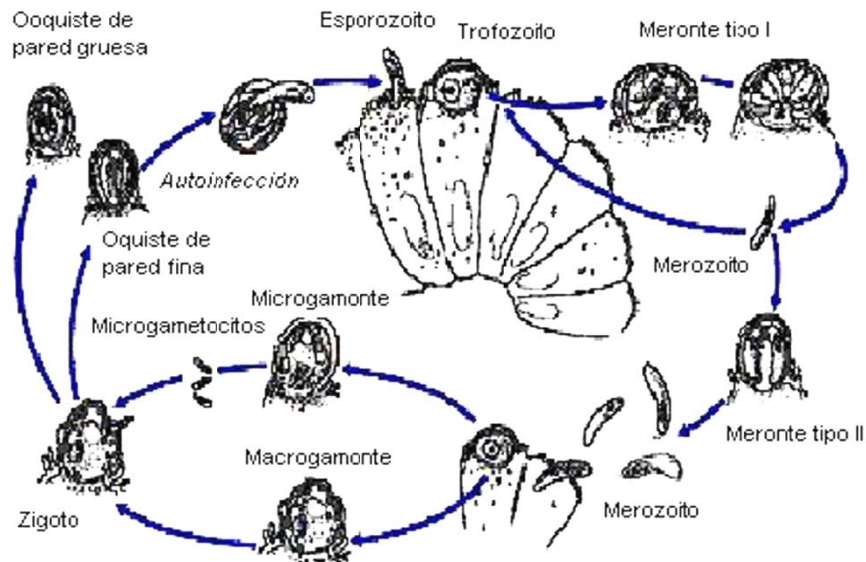


Ilustración 1

Figura 1. Ciclo biológico de *Cryptosporidium* spp

## 5. Patogenia

*C. parvum* se reproduce en las células del epitelio intestinal de muchos mamíferos y es un importante agente de esta enfermedad diarreaica llamada criptosporidiosis.

La infección se transmite fecal-oral, por la ingestión de ooquistes que pasan por el estomago y la enquistacion ocurre en el intestino con la liberación de 4 esporozoitos.

Algunos criptosporidios de mamíferos, por ejemplo *C. homnis*, se ha informado que tienen preferencia por el huésped más resistente mientras que *C. parvum* es capaz de infectar a muchas especies de huésped incluyendo el ganado y los seres humanos y es un importante agente zoonótico. La infección por *C. parvum* puede tener lugar en varios sitios de la mucosa, aunque el desarrollo del parásito se produce principalmente en el intestino, causando enteritis en los animales jóvenes y en los seres humanos. Los síntomas pueden ser muy graves o incluso mortales en malnutridos o inmunodeprimidos.

Los ooquistes transmiten la infección de forma fecal oral ya sea directamente de huésped a huésped o indirectamente a través de alimentos contaminados o por el agua contaminada.

*Cryptosporidium* fue comúnmente asociado a los coccidios, pero el parásito tiene características intracelulares únicas, incluyendo su yuxtaposición con la membrana apical de la célula del huésped y el aislamiento del citoplasma de la célula huésped.

El apego y la invasión de las células intestinales (enterocitos) por esporozoitos de *C. parvum* implica que las células receptoras del huésped específico y las moléculas del parásito ligando son secretadas en la superficie del parásito.

La enquistación de los esporozoitos se lleva a cabo en el intestino, pero los mecanismos que llevan a cabo la activación de los esporozoitos y la apertura de la pared del ooquiste no han sido totalmente demostrados. Investigaciones

experimentales han sugerido que la enquistación eficiente requiere una serie de factores desencadenantes ambientales, incluyendo el cambio de temperatura, pH, sales biliares (10).

## **6. Signos y lesiones**

Organismos del género *Cryptosporidium* son pequeños parásitos coccidios (2 a 6  $\mu\text{m}$ ) que sólo recientemente han sido reconocidos como importantes patógenos entéricos de los seres humanos. Este parásito infecta las células epiteliales que recubren el tracto gastrointestinal y las vías respiratorias y la más común produce una enfermedad aguda, aunque autolimitada y diarrea en individuos inmunocompetentes. La infección en pacientes malnutridos o inmunodeprimidos es mucho más grave, a menudo dando por resultado diarrea prolongada, intratable y grave (11).

Los signos que presenta la criptosporidiosis incluyen diarrea acuosa profusa, calambres intestinales, temperatura. Clínicamente no se puede distinguir de otras enfermedades diarreicas, es una enfermedad aguda cuyo periodo de incubación va de una a dos semanas y su duración es variable (de 8 a 20 días) (12).

Además de la parte superior del intestino, el parásito también puede infectar el estómago, el páncreas, el hígado y conductos biliares de huéspedes inmunocomprometidos (24).

El periodo de incubación suele ser de 7 a 10 días desde la ingestión de los quistes. Las heces contienen principalmente agua y moco y poca materia fecal, pero raramente sangre o leucocitos (11).

Algunos pacientes solo presentan síntomas leves, mientras que otros requieren rehidratación oral o parenteral y la diarrea persiste por cuatro semanas (13).

Histológicamente hay un aplanamiento de las vellosidades intestinales y criptas, hiperplasia, junto con una intensa respuesta de los neutrofilos. Ninguna toxina criptosporidial que induce la secreción intestinal se ha purificado, aunque los informes de secreción de materia fecal o cultivo celular filtrado existen parásitos *Cryptosporidium* que ocupan un sitio intracelular único (14).

## **7. Diagnostico**

Los métodos convencionales para detectar ooquistes de *Cryptosporidium* en muestras de heces implican detección microscópica de ooquistes utilizando en particular anticuerpos fluorescentes (DFA) y ensayo con reactivos en general especies de *Cryptosporidium*, anticuerpos o un acidorresistente y una modificada técnica de tinción (26).

Sin embargo, ninguno de estos métodos pueden identificar *Cryptosporidium* a nivel de especie, y su la fuerza de diagnóstico depende de la habilidad del examinador (26).

En este estudio, se propone desarrollar PCR anidada que específicamente detecta el gen derivado de *C. parvum* y *C. hominis* y discrimina el producto amplificado entre estas especies (17).

*Cryptosporidium parvum* pueden provocar síntomas graves en los seres humanos, en particular con problemas de inmunidad, los reactivos de anticuerpos monoclonales ofrecen una mayor sensibilidad y un excelente alternativa a los métodos convencionales de tinción. Estos reactivos son útiles cuando se está explorando un gran número de pacientes con síntomas mínimos. Los problemas de resultados falsos positivos y falsos negativos con la rutina métodos de tinción de los parásitos de heces pueden ser eliminados con reactivos de anticuerpos monoclonales (18).

La gestión eficaz de la criptosporidiosis requiere de métodos eficientes para la detección e identificación de las especies de *Cryptosporidium* aislados. Se ha desarrollado un método rápido y fiable para la identificación de especies de ooquistes de *Cryptosporidium* en muestras fecales humanas mediante polimorfismo de fragmentos de restricción terminales (T-RFLP) del gen ARNr 18S. Este método genera fragmentos de diagnóstico único para la especie de interés (25).

## **8. Control y tratamiento**

En la actualidad, no hay vacunas o regímenes terapéuticos específicos para el control de la criptosporidiosis, por lo que las medidas para prevenir o limitar la propagación de la infección en las granjas debe estar dirigida a eliminar o

reducir los ooquistes infecciosos en el medio ambiente, por ejemplo, medidas de higiene tales como la eliminación de estiércol seguida de desinfección de los lugares donde se encuentran los animales (8).

Por lo tanto, la prevención y el control de la criptosporidiosis dependen en gran medida del diagnóstico y la comprensión de la epidemiología y la genética de la especie *Cryptosporidium* (28).

*Cryptosporidium parvum* es un patógeno humano importante y un agente potencial de bioterrorismo. No existen vacunas contra *C. parvum*, los fármacos actualmente aprobados para el tratamiento de la criptosporidiosis son descubrimientos ineficaces, y las drogas es un reto porque el parásito no se puede mantener continuamente en cultivos celulares (19).

La desinfección solar (SODIS) implica el almacenamiento de agua potable contaminada en envases transparentes que se colocan en la luz solar directa durante períodos de hasta 8 horas antes de su consumo. Esta técnica es muy eficaz contra una amplia gama de patógenos. Estudios anteriores redujeron la incidencia de la diarrea en los niños que utilizaron SODIS en comparación con niños que no lo hicieron. El efecto biocida de la luz solar se debe a los procesos de ópticos y térmicos, y a un fuerte efecto sinérgico que se produce a temperaturas superiores a 45 ° C (20).



La irradiación UV es una tecnología de esterilización en el agua e industria alimentaria es eficaz para matar organismos contaminantes, tales como virus, bacterias, esporas de hongos y parásitos (21).

Los tratamientos actualmente disponibles para la criptosporidiosis, con la excepción de nitazoxanida, son en su mayoría son acompañados de efectos secundarios indeseables, para el uso en animales productores de alimentos (23).

## **V. MATERIAL Y METODOS**

**Marco de referencia.** Cuauhtémoc es una de las ciudades mas jóvenes del estado de Chihuahua, Actualmente, es uno de los municipios más importantes en el estado, se localiza en la de latitud norte 28° 25"; longitud oeste 106° 52'; con una altitud de 2,060 metros sobre el nivel del mar. Colinda al norte con Namiquipa, al este con Riva Palacio, al sur con Cusihuirachi y Gran Morelos y al oeste con Bachíniva y Guerrero. La cabecera municipal se encuentra a 103 kilómetros, aproximadamente, de la capital del estado. El municipio tiene una superficie de 3,018.90 km<sup>2</sup>, lo cual representa el 1.2% de la superficie del estado. El clima se califica de transición, de semihúmedo a templado; con una temperatura media anual de 14° C y una mínima de -14.6° C. La precipitación pluvial media anual es de 439 milímetros, con humedad relativa al 65% y un promedio anual de 66 días de lluvia. Los vientos dominantes provienen del suroeste. El uso predominante del suelo es agrícola y ganadero. La tenencia de la tierra en su mayoría es privada con 156,573 hectáreas, equivalentes al 51.9%. El régimen ejidal comprende 64,307 hectáreas, que representan el

21.3%; a usos urbanos corresponden 75,472 hectáreas, que significan el 25.04% del suelo total.

**Fase de campo.** El presente estudio fue diseñado y realizado para determinar la frecuencia de *cryptosporidium spp.* en becerros holstein de 1 a 21 días de edad con diarrea, de 8 establos lecheros de la cuenca lechera de Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua. Se tomaron 64 muestras de heces del 100% de los animales con diarrea durante la época de invierno, primavera y verano. Las muestras se tomaron con guantes estériles directamente del recto y se guardaron en bolsas de plástico estériles y se transportaron en refrigeración al laboratorio de Patología de la Unidad de Diagnóstico del Departamento de Ciencias Médico Veterinarias de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro para su análisis.

**Fase de laboratorio.** El estudio se realizó en la Unidad de diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna ubicada en Torreón Coahuila. Se realizaron frotis de heces, se secaron al aire, y se tiñeron con la técnica Ziehl Neelsen modificada (Anexo 1) 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.* 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	(++++)

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 64 muestras de heces analizadas, 39 (60.9%) resultaron positivas a *Cryptosporidium* spp. La intensidad de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Observada en esta investigación fue 17.94% (7/39) incipiente, 15.38% (6/39) leve, 10.25% (4/39) moderado, 56.41% (24/45) severo, y 25 (39.1%) resultaron negativos.

**Cuadro 1.** Número de becerros muestreados en 8 hatos lecheros de Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua.

Establos	n	n+ (%)	n- (%)
1.	2	0	2 (100)
2.	4	3 (75)	1 (25)
3.	5	3 (60)	2 (40)
4.	7	0	7 (100)
5.	8	8 (100)	0

6.	9	0	9 (100)
7.	14	10 (71.4)	4 (28.6)
8.	15	15 (100)	0
Total	64	39 (60.9)	25 (39.1)

Ilustración 2

Se encontraron 62.5% (5/8) establos positivos a criptosporidiosis, los animales tuvieron una edad promedio de 7 días con rangos de 1 a 21 días de edad, todas fueron hembras.

Las manifestaciones patológicas de criptosporidiosis son más frecuentes en animales lactantes de 5 a 21 días de edad (31), aunque eventualmente los animales afectados se encuentran entre las 6 y 12 semanas de edad (32).

Se observó que las becerras entre 5 a 21 días fueron más susceptibles a sufrir criptosporidiosis. La intensidad de la excreción de ooquistes en las heces fue muy manifiesta en el grado 1 (+) y el 5 (+++++). Se utilizó la técnica de Ziehl Neelsen modificada, se documentó la frecuencia de presentación por edad en días de las becerras y se manifestó la intensidad con la que se eliminaron ooquistes en las heces diarreicas.

Se encontraron varios criterios para categorizar los grupos para medir la intensidad de eliminación de *Cryptosporidium* spp en heces. Bednarska *et al.* (1998) los clasifican en tres grupos: (+) < 5 ooquistes, (++) 5 a 10 ooquistes, (+++) > 10 ooquistes observados en 20 campos microscópicos a 400 aumentos (33). Ortolani *et al.*, (2003) contabilizan 25 campos ópticos y evalúan la intensidad en: (-) ausencia de ooquistes, (+) de 1 a 4, (++) de 5 a 20, +++ de 21

a 84 y ++++ arriba de 84, utilizando 400 aumentos (34). Emre *et al.*, (1998) observan 20 campos a 1000 aumentos y los gradúan en (-) negativo, 1 a 5 (+), 6 a 20 (++) , > 20 (+++) (35). Al respecto, la literatura es limitante con lo que se dice sobre estas comparaciones de excreción. El criterio tomado por nosotros es diferente y ha sido aplicado con muy poca variación en la interpretación, ya que se observaron 25 campos a 400 aumentos y se graduaron en (-) negativo, 1 a 10 (+), 11 a 20 (++) , 21 a 40 (+++) y > 40 (++++).

## VII. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

El presente estudio aporta información sobre la incidencia de la eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* en becerras de 8 establos lecheros de Cd. Cuauhtémoc, en el estado de Chihuahua.

La intensidad de la excreción de ooquistes en las heces se manifestó en los grados 1 (+) y 4 (++++).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* fueron encontrados en 5/8 (62.5%) establos examinados.

La frecuencia de *Cryptosporidium* spp. en Cuauhtémoc, Chihuahua fue de 60.9%. De acuerdo a los resultados obtenidos se sugiere realizar estudios de tratamientos específicos para este patógeno ya que no es fácil erradicar la enfermedad de un hato infectado.

## VII. LITERATURA CITADA

- 1) Castillo, C., Cruz, C., López R., Sánchez, M., Rosario, R., Vitela, I. y Medina L. 2009. Frequency and molecular identification of cryptosporidium spp in confined suckling dairy calves in Aguascalientes México. *Tec. Pecu. Mex.* 47(4): 425-434.
- 2) Arrowood, M. 2002. In Vitro Cultivation of Cryptosporidium Species. *Clin. Microbiol. Rev.* 15(3): 390–400.
- 3) Xiao, L. fayer, R. Ryan, U. y Upton S. 2004. Cryptosporidium taxonomy: Recent advances and implications for public health. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17: 72-97.
- 4) Kramer, M.F., Vesey, G., Look, N.L., Herbert, B.R., Simpson J.M. y Lim D.V. 2007. Development of a cryptosporidium oocyst assay using an automated fiber optic-based biosensor. *Bio. Med. Cen.* 1(3): 1754-1611.
- 5) Learmonth, J.J., Ionas, G., Ebbett, K.A. y Kwan, E.S. 2004. Genetic Characterization and Transmission Cycles of Cryptosporidium Species Isolated from Humans in New Zealand. *Env. Microbiol.* 70(79): 3973–3978.
- 6) Lake, L.R., Harrison, F. C. D., Chalmers, R.M. Bentham, G., Nichols, G., Hunter, P.R., Kovats, R.S. y Groundy, C. 2007. Case-control study of environmental and social factors influencing cryptosporidiosis. *Eur. J. Epidemiol.* 22: 805-811.
- 7) Yaoyu feng, Na Li, Liping Duan y Lihua Xhiao. 2009. Cryptosporidium Genotype and subtype Distribution in Raw wastewater: evidence for posible unique cryptosporidium hominis transmission.
- 8) Quilez, J., Sánchez, C., Avendaño, A., Del Cacho, E. y López, F. 2005. Efficacy of two peroxygen-based desinfectants for inactivation of cryptosporidium parvum oocyst. *Env. Microbiol.* 71(5): 2479-2483.

9) Pantenburg, B., Dann, S. M., Wang, H.Ch., Robinson P., Castellanos, Alejandro., Lewis, D. E. y Clinton, A. 2008. Intestinal immune response to human cryptosporidium sp. Infection. Ame. Soc. For. Microbiol. 76(1): 23-29.

10) Choudhry, N., Baja, M. y McDonald, V. 2008. The Terminal Sialic Acid of Glycoconjugates on the Surface of Intestinal Epithelial Cells Activates Excystation of Cryptosporidium parvum. Ame. Soc. For Microbiol. 76(8): 3735–3741.

11) Rossenblatt, J.E. y Sloan, I.M. 1993. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of cryptosporidium spp. In stol specimens. Div. of Clin. Microbiol. 31(6): 1468-1471.

12) Garza V. y Moreno, M. 2002. Cryptosporidium parvum agente causal de una nueva enfermedad relacionada con el agua. Rev. Sal. Publ. y Nut. 3(1).

13) Garcia, A.M., Fernández, C., López, C., Garcia, P. y Marin, P. Brotes Epidémicos de Criptosporidiosis. Rev. Con. Cal. SEIMC.

14) Griffiths, J.K., Moore, R., Dooley, Sh., Keusch, G. y Tzipori, Saul. 1994. Cryptosporidium parvum infection of caco-2 cell monolayers induces an apical monolayer defect, and causes epithelial cell death. Am. Soc. for. Microbiol. 62(10): 4506-4514.

15) Elwin, K., Thomas, A. L., Guy, E.C. y Mason, B. 2009. Long-term Cryptosporidium typing reveals the a etiology and species-specific epidemiology of human criptosporidiosis in England and Wales, 2000 to 2003. Eurosurveillance. 14(2).

16) Tanriverdi, S., Grinberg, A., Chalmers, R.M., Hunter, P.R., Petrovic, Z., Akiyoshi, D.E., London, E., Zhang, L., Tzipori, S., Tumwine, J.K. y Widmer G. 2008. Inferences about the Global Population Structures of Cryptosporidium

parvum and *Cryptosporidium hominis*. *Appl. And. Env. Microbiol.* 74(23): 7227–7234.

17) Ochiai, Y.,\* Takada, Ch. y Hosaka, M. 2005. Detection and Discrimination of *Cryptosporidium parvum* and *C. hominis* in Water Samples by Immunomagnetic Separation-PCR. *Appl. And. Env. Microbiol.* 71(2): 898–903.

18) Garcia, L.S., Shum, A.C., y Bruckner, D. A. 1992. Evaluation of a New Monoclonal Antibody Combination Reagent for Direct Fluorescence Detection of *Giardia* Cysts and *Cryptosporidium* Oocysts in Human Fecal Specimens. *J. of Clin. Microbiol.* 30(12): 3255-3257.

19) Umejiego, N.N., Gollapalli, D., Sharling, L., Volftsun, A., Lu, J., Benjamin, N.N., Stroupe, A.H., Riera, T. V., Striepen, B. y Hedstrom. 2008. Targeting a prokaryotic protein in a eukaryotic pathogen: identification of lead compounds against *Cryptosporidiosis*. *Chem. Biol.* 15(1): 70–77.

20) Méndez, F., Castro, J.A., Ares, E., Kehoe, S.C. y McGuigan, K.G. 2005. Effect of Batch-Process Solar Disinfection on Survival of *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Drinking Water. *Appl. And. Env. Microbiol.* 71(3): 1653–1654.

21) Al, B.H., Nichols, R.A., Kusel, J.R., O’Grady, J. y Smith, H.V. 2007. Detection of UV-Induced Thymine Dimers in Individual *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* Oocysts by Immunofluorescence Microscopy. *Appl. And. Env. Microbiol.* 73(3): 947–955.

22) García, A.M., Fernández, C., López, C., García, P. y Marín, P. Brotes Epidémicos De La Criptosporidiosis. *Serv. De Microbiol.*

23) Schmidt, J. y Kuhlenschmidt, M.S. Microbial adhesion of *Cryptosporidium parvum*: Identification of a colostrum-derived. inhibitory lipid. *Mol Biochem Parasitol.* 2008. 162(1): 32–39.



- 24) Hashim, A., Mulcahy, Grace., Bourke, B. y Clyne, Marguerite. 2006. Interaction of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum* with Primary Human and Bovine Intestinal Cells. *Ame. Soc. For Microbiol.* 74(1): 99–107.
- 25) Waldron, L.S., Ferrari, B. C., Gillings, M.R. y Power, M. L. 2008. Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism for Identification of *Cryptosporidium* Species in Human Feces. *Ame. Soc. For Microbiol.* 75 (1): 108–112.
- 26) Jothikumar, N., Da Silva, A.J., Moura, I., Qvarnstrom, Y. y Hill, V.R. 2008. Detection and differentiation of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum* by dual TaqMan assays. *J.of Med. Microbiol.* 57: 1099–1105.
- 27) Snelling, W.J., Lin, Qishan., Moore, J.E., Cherie, B., Tosini, Fabio., Pozio, Edoardo., Dooley, J.S.G. y Lowery, Colm, J. 2007. Proteomics Analysis and Protein Expression during Sporozoite Excystation of *Cryptosporidium parvum* (Coccidia, Apicomplexa). *J. of Clin. Microbiol.* 46(7). 2252–2262.
- 28) Jex, A.R., Pangasa, A., Campbell, B.E., Whipp, M., Hogg, G., Sinclair, M. I., Stevens, M. y Gasser, R.B. 2008. Classification of *Cryptosporidium* Species from Patients with SporadicCryptosporidiosis by Use of Sequence-Based Multilocus Analysis following Mutation Scanning. *Ame. Soc. For Microbiol.* 46(7): 2252–2262.
- 29) Bandyopadhyay, Kakali., Kellar, K.L., Moura, I., Casaqui, M.C., Graczyk,T.K., Slemenda, S., Johnston, S.P. y da Silva A.J. 2007. Rapid Microsphere Assay for Identification of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum* in Stool and Environmental Samples. *J. of Clin. Microbiol.* 45(9): 2835–2840.
- 30) Leoni, F., Mallon, M.E., Smith H.V., Tait, A. McLauchlin. J. 2007. Multilocus Analysis of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum* Isolates from Sporadic and Outbreak-Related Human Cases and *C. parvum* Isolates from

Sporadic Livestock Cases in the United Kingdom. *J. of Clin. Microbiol.* 45(10):3286–3294.

31) Mijangos, M.L. (2006). Prevalencia de criptosporidiosis en bovinos Holstein de la Comarca Lagunera. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria, Antonio Narro. Torreón, Coah.

32) Reynolds, D.J. y Morgan, J.H., (1986). Microbiology of calf diarrhea in Southern Britain. *Vet. Rec.* 119: 34-39.

33) Bednarska, M., Bajer, A. y Sinsky, E. (1998). Calves as a potential reservoir of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia* sp. *Ann. Agric. Environ. Med.* 5 (2):135-138.

34) Ortolani, E.L. y castro, S.P. (2003). Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en becerros de rebaños lecheros. *Parasitol Latinoam.* 58: 122-127.

35) Emre, Z., Alabay, B.M., Fidanci, H., Duzgun, A. y Cerci, H. (1998). Prevalence of *Cryptosporidium* spp infection and its relation to other enteric pathogens (*Escherichia coli* K 99 and rotavirus) in cattle in Ankara, Turkey. *Tr. J. Vet. Anim. Sciences.* 22: 453-457.