

FECHA DE ADQUISICIÓN	00076
NUM. DE INVENTARIO	
PROCEDENCIA	
NUM. CALIFICACIÓN	
PRECIO	
DIST.	



SF967
.C79
.S24 2006
TESIS
Ej.1

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**DESCRIPCIÓN MORFOMÉTRICA DE OOQUISTES DE
CRYPTOSPORIDIUM SPP OBSERVADOS EN BECERRAS HOLSTEIN
DE LA COMARCA LAGUNERA**

POR:

ALMA SOCORRO SALINAS AVILA

TESIS

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2006

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

TESIS

DESCRIPCIÓN MORFOMÉTRICA DE OOQUISTES DE
CRYPTOSPORIDIUM SPP OBSERVADOS EN BECERRAS HOLSTEIN
DE LA COMARCA LAGUNERA.

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE REVISIÓN

PRESIDENTE DEL JURADO


M.C.V. RAMÓN A. DELGADO GONZÁLEZ.

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL


M.C. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS.



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal
P. AAN. UU

00076

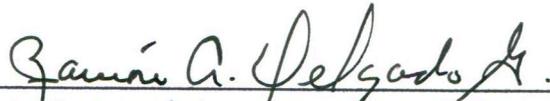
DESCRIPCIÓN MORFOMÉTRICA DE OOQUISTES DE
CRYPTOSPORIDIUM SPP OBSERVADOS EN BECERRAS
HOLSTEIN DE LA COMARCA LAGUNERA.

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

TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESIDENTE:


M.C. RAMÓN A. DELGADO GONZÁLEZ.

VOCAL:


M.V.Z. ESEQUIEL CASTILLO ROMERO.

VOCAL:


M.C. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS.

VOCAL SUPLENTE:


M.S. DELFINO REYES MACÍAS.

DEDICATORIA:

De este trabajo de esfuerzos y desvelos a mi madre María Consuelo Ávila Rodríguez por su apoyo incondicional, a mi padre Miguel Salinas Cardona. Así como también a mi perro Slug, por toda su ternura a pesar de sus enfermedades.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro UL por mi formación académica.

A mi hermano: Miguel Ángel Salinas Ávila.

A mis amigos: Dina Carlón Fávila y Daniel Reyna López.

A mis Colegas: Jonathan Gilberto Martínez Vigil y Juan José Espinoza Vargas.

Dr. Juan José Zarate Ramos por sus conocimientos en Micrometría, así como a la Universidad Autónoma de Nvo. León de Medicina Veterinaria por sus atenciones.

Dr. Horacio Hernández Hernández por su asesoría en Estadística.

Asesor de Tesis: M.C.V Ramón A. Delgado González.

Sinodales: MVZ. Esequiel Castillo Romero.

M.C. Delfino Reyes Macías.

M.C. José Luis Fco. Sandoval Elías.

Resumen

Se determinó la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp de 20 hatos lecheros de la Comarca Lagunera, con edades de 1 a 60 días de nacidas. Se tomaron muestras de 205 heces de becerras que presentaban signos de diarrea, de las cuales se obtuvieron 63 casos positivos (30.7%). El estudio se realizó en la época de invierno. Las muestras de heces se procesaron realizando frotis y se tiñeron con la técnica de Ziehl Neelsen modificada para la observación de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp, y se contabilizaron con el objetivo de 40X. Una vez identificados se formaron 5 grupos según la intensidad de eliminación de criptosporidias. Se observaron con el objetivo 100X y por medio de micrometría, se procedió a la medición de los ooquistes. Los resultados de las mediciones fueron analizados mediante estadística descriptiva encontrándose una mediana de 4.0 μm , para el diámetro y la longitud, así como una media de 3.98 μm para longitud y para diámetro 3.86 μm . Con las medidas observadas y considerando que las muestras son de bovinos, se sugiere que los ooquistes de criptosporidias encontrados en becerras Holstein de la Comarca Lagunera corresponden a *Cryptosporidium parvum*.

INDICE DE CONTENIDO

Dedicatoria.....	i
Agradecimientos.....	ii
Resumen.....	iii
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	2
2.1. Taxonomía.....	2
2.2. Etiología.....	2
2.3. Interacción hospedador-parásito.....	3
2.4. Ciclo biológico.....	4
2.5. Epizootiología.....	5
2.6. Signos clínicos.....	8
2.7. Patogenia y lesiones.....	8
2.8. Diagnóstico.....	9
2.9. Control y tratamiento.....	10
3. Justificación.....	13
4. Objetivos.....	13
4.1. Objetivo general.....	13
4.2. Objetivo específico.....	13
5. Marco de referencia.....	14
6. Material y métodos.....	15
7. Resultados.....	17
8. Discusión.....	20
9. Conclusiones.....	23
10. Literatura citada.....	24
Anexo.....	30

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Estadística descriptiva de las mediciones de los ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp.....	18
2	Mediciones de los ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp por grupos.....	18
3	Análisis de longitud de los ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp entre grupos (diferencias entre medias en micras).....	19
4	Comparación de probabilidad de longitud de los ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp entre grupos.....	19

1. Introducción

Las especies de *Cryptosporidium* son parásitos del *Phylum* apicomplexa que infectan la lámina basal de las microvellosidades del epitelio gastrointestinal y además respiratorio en una amplia variedad de hospedadores vertebrados, incluyendo humanos (Ortega *et al.*, 1999). Los individuos infectados han demostrado un amplio espectro de presentaciones clínicas, pero la patogenicidad de este género varía con la especie del parásito involucrado, el tipo, la edad, y el estado inmunitario del hospedador (Xiao *et al.*, 2004).

En el ganado bovino, se han reconocido dos especies de este género: *Cryptosporidium parvum* coloniza el intestino delgado y es un importante agente etiológico en el síndrome de diarreas neonatales en becerros, ovejas, cabras, cerdos, equinos, aves y niños (Graaf *et al.*, 2002). También puede presentarse en varias especies de animales salvajes, reptiles, conejos, ratones (Fayer y Trout, 2000). En bovinos adultos cursa en forma subclínica y presenta bajos niveles de infección. En particular es de interés en salud pública por que puede persistir por largos periodos en el ambiente. La otra especie es *Cryptosporidium andersoni* que se desarrolla en el abomaso, de bovinos adultos y su prevalencia es baja (Lindsay *et al.*, 2000). La producción de leche se ve significativamente reducida en las vacas afectadas (Díaz *et al.*, 2002).

Dado al gran número de ooquistes de liberación en heces, el ambiente es contaminado con esto, e infectan a otro individuo, permitiendo la rápida diseminación de este parásito hacia un grupo susceptible de individuos. De acuerdo a estos antecedentes y considerando que existen dos especies de *Cryptosporidium* spp en bovinos el objetivo de la presente investigación es describir la morfometría de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en la Comarca Lagunera.

2. Antecedentes

2.1. Taxonomía

Reino: *Protista*

Phylum: *Apicomplexa*

Clase: *Sporozoa*

Subclase: *Coccidia*

Orden: *Eucoccidiida*

Suborden: *Eimeriina*

Familia: *Cryptosporiidae*

Género: *Cryptosporidium*

Especie: *Cryptosporidium*

(Fayer *et al.*, 1990).

2.2. Etiología

Las especies denominadas *Cryptosporidium*, frecuentemente consideradas como especies válidas, incluyen *C. andersoni* (ganado), *C. baileyi* (pollos y algunas otras aves), *C. canis* (perros), *C. felis* (gatos), *C. galli* (aves), *C. hominis* (humanos), *C. meleagridis* (aves y humanos), *C. molnari* (peces), *C. muris* (roedores y algunos mamíferos), *C. parvum* (rumiantes y humanos), *C. wrairi* (cuyos), *C. saurophilum* (lagartos y serpientes), y *C. serpentis* (serpientes y lagartos). Otras morfológicamente distintas de *Cryptosporidium* spp han sido encontradas en peces, reptiles, aves y mamíferos, pero tienden a no ser nombrados (Xiao *et al.*, 2004). Esto ha dado a una nueva creación de múltiples especies incluyendo *C. agni* (oveja), *C. aserinum* (ganso), *C. cuniculus* (conejos), *C. garnhami* (humanos), *C. rhesi* (simios) (Fayer y Ungar, 1986).

Así mismo, *C. hominis* en humanos ha sido conocida como una variedad mucho más estrecha en el hospedero que es morfológicamente similar a *C. parvum* y estudios de transmisión cruzada han ayudado a distinguir entre ambos (Akiyoshi *et al.*, 2002).

Investigaciones recientes, han revelado que los ratones son portadores genéticamente distintos de *Cryptosporidium*, el genotipo del ratón se conoce como *C. parvum* (Morgan, *et al.*, 1999). Esta última especie fue referida previamente como el genotipo *C. parvum* de los bóvidos, el cual raramente es encontrado naturalmente en ratones puesto que es predominantemente un parásito de los rumiantes y de algunos humanos (Xiao *et al.*, 1999).

2.3. Interacción hospedador – parásito.

Es posible que el *C. parvum* fuera originalmente un parásito de roedores que se ha establecido recientemente en el ganado. Esta expansión de hospederos de *Cryptosporidium* es apoyada por la capacidad de *C. parvum* de infectar varios tipos de mamíferos, incluyendo roedores. La diversidad genética de *C. parvum* es menor que la de *C. hominis* (Strong *et al.*, 2000).

Sin embargo, hasta el momento, *C. parvum* se conoce que infecta principalmente a los rumiantes (ganados, ovejas, cabras, y ciervos) y a humanos, aunque hay informes anteriores de infecciones por *C. parvum* que naturalmente ocurrían en cerdos y ratones (Morgan *et al.*, 1999).

Las infecciones confirmadas de *C. canis* se han encontrado en perros, coyotes, zorros, y en humanos, así como también *C. felis* ha sido encontrado en gatos, humanos y bovinos (Xiao *et al.*, 1999).

2.4. Ciclo biológico

Los ooquistes en su estado de transmisión infectan al hospedero susceptible por la ruta fecal - oral. Otras rutas de transmisión pueden ser de individuo a individuo o por contacto directo - indirecto, posiblemente incluyendo actividades sexuales, de animal a animal, animal al humano, en las albercas, agua y alimento. (Fayer y Trout, 2000). *Cryptosporidium* spp tiene un ciclo de vida monoxeno donde todos los estados de desarrollo (asexual y sexual) ocurre en un solo hospedero (O'Donoghue, 1995).

La esporulación de los ooquistes es solo en estado exógeno y consiste en 4 esporozoitos con una pared de dos capas; estas son excretadas en heces que infectan al hospedero. La fase endógena empieza después de la ingesta por el hospedero. La pared de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp, como la de otras coccidias, tienen una capa interna y otra externa, las cuales se abren y los esporozoitos salen del ooquiste. Estos parasitan las células epiteliales del tracto gastrointestinal y respiratorio (Fayer *et al.*, 1997).

Los esporozoitos libres se adhieren a las células epiteliales donde ellos se internan dentro de vacuolas parasitas y se desarrollan a estados de trofozoitos (O'Donoghue, 1995).

El trofozoito pasa a ser Meronte I, donde la multiplicación es asexual, a la que se llama esquizogonia o merogonia, cuando el trofozoito se divide en núcleos, *C. parvum* tiene 2 tipos de esquizogonia o merontes. Para *C. parvum* el tipo I desarrolla de 6 a 8 núcleos, mientras se incorporan dentro del merozoito a un estado estructuralmente similar al esporozoito. Mientras maduran los merozoitos, permiten a la esquizogonia infectar a otras células del hospedador desarrollando dentro otros tipos: tipo I y II en el cual se producen 4 merozoitos, solo los merozoitos de tipo II inician la multiplicación sexual (gametogonia) habiendo infectado nuevas células al hospedador a estado de microgametos, masculino y macrogametos, femenino (Fayer *et al.*, 1997).

En la fase de cigoto de pared delgada o pared gruesa del ooquiste. La mayoría de los ooquistes son de pared gruesa y, como apuntábamos, se eliminan con las heces, lo cual permite la diseminación del parásito en el medio ambiente y la infección de otros hospedadores. Sin embargo, un significativo porcentaje de ooquistes (un 20% aproximadamente) poseen una pared fina, lo que facilita su desenquistamiento dentro del mismo hospedador, dando lugar a un nuevo ciclo (autoinfección). Este fenómeno, que no se observa en otros coccidios, se considera responsable del desarrollo de infecciones graves en ausencia de reinfección del medio ambiente, y puede ser causa de infecciones crónicas en algunos pacientes (Marshall *et al.*, 1997).

2.5. Epizootiología

El índice de prevalencia para la infección de *Cryptosporidium* esta entre 1 a 3 % en Europa y Norte de América pero es considerablemente alto en continentes menos desarrollados, alrededor del 5% en Asia y aproximadamente 10% en África (Marshall *et al.*, 1997).

Estudios recientes de muestras fecales de animales asintomáticos de una granja con infección sugestiva al parásito *Cryptosporidium*, mostraron estar presente en el 20 % de los bovinos, ovinos, y caballos y en el 10% en cerdos (Olsen *et al.*, 1997).

Alrededor de 152 especies diferentes de mamíferos están reportadas que han sido infectadas con *C. parvum* (Dillingham *et al.*, 2002).

Entre las especies de animales domésticos, sin duda la que es más afectada por criptosporidiosis es la bovina, en especial los neonatos. Los resultados de encuestas epidemiológicas son muy variables, pero por lo general indican una morbilidad alta entre 10 y 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, del grado de inmunidad y del estado nutricional del huésped, la mortalidad puede ser alta. Las edades más afectadas, conforme a las revisiones son de 4 a 30 días de edad. Mientras más malas son las condiciones sanitarias del ambiente, principalmente en donde permanecen los becerros, mayor será el riesgo de contagio y presencia de la enfermedad (Ortalani y Castro, 2003).

Cryptosporidium parvum también ha sido el más difundido enteropatógeno identificado en los becerros neonatos. El 90% de las granjas de América se protegen de esta coccidia, y el 92% de vacas adultas asintomáticas tienen anticuerpos específicos de *C. parvum*, IgG, IgG1, IgG2 y IgM (Hunt *et al.*, 2002).

En una granja de ganado vacuno esta ampliamente considerada que puede ser una mayor fuente de ooquistes de *Cryptosporidium parvum*, basado en la observación 7369 becerras de 1103 granjas (localizadas en 28 estados) Concluyendo que casi todos los rebaños con 100 vacas están infectadas con *Cryptosporidium parvum*, particularmente son susceptibles en becerras neonatales a la infección y pueden excretar varios billones de oocistos a desarrollar criptosporidiosis. Estudios recientes indican que después del destete y en ganado adulto asintomático también excretan ooquistes (Kuczynska *et al.*, 2005).

El *C. parvum* es una de las más comunes especies de *Cryptosporidium* encontradas en el agua, pero es difícil determinar la fuente de los ooquistes de *C. parvum* en el agua. No obstante la alta prevalencia de los ooquistes de *C. andersoni* en la superficie de agua al igual que en el agua industrializada indica que los rumiantes son probablemente una mayor fuente de contaminación de *Cryptosporidium*. *C. baileyi*, *C. muris* y otros genotipos desconocidos de *Cryptosporidium* en el agua indican que la vida salvaje también contribuye en la contaminación del agua por ooquistes de *Cryptosporidium* (Xiao *et al.* 2000).

Hay también variaciones geográficas en la distribución de infecciones de *C. parvum* y de *C. hominis* en seres humanos. En pacientes en el Reino Unido, *C. parvum* fue más común durante la primavera mientras que *C. hominis* fue más común a finales de verano y otoño. Muchos brotes de *Criptosporidiosis* en el alimento y agua han sido causados por *C. parvum* en América del norte y Europa (McLauchlin *et al.*, 2000).

Bajo condiciones de laboratorio la mosca (*musca domesticus*) transporta mecánicamente los ooquistes de *C. parvum* y observaciones preliminares indican que esto también puede ocurrir dentro de una situación natural (Graczyk *et al.*, 2000).

Posteriormente de la identificación de la ubicuidad genética de los *C. meleagridis*, *C. felis* y de *C. canis* (Xiao *et al.*, 1999). Estos tres parásitos que se asocian tradicionalmente con los animales, se han encontrado en pacientes con SIDA en los Estados Unidos, Kenia y Suiza (Morgan, *et al.* 2000).

2.6. Signos clínicos

Esta enfermedad esta caracterizada clínicamente por diarrea abundante, acuosa, amarillenta o verdosa, algunas veces con mucosa, estrías de sangre, deshidratación, emaciación, anorexia, tenesmo y dolor abdominal. Esta enfermedad es más severa y letal cuando se complica con otras infecciones enteropatógenos tales como *E. coli*, *Salmonella*, Rotavirus, Coronavirus. La Criptosporidiosis es frecuente en becerras y parece que está relacionada con la edad. La infección con *Cryptosporidium* es más comúnmente reportada en becerras entre 1 y 3 semanas de edad. Los ooquistes de *Cryptosporidium* spp se detectan en becerras jóvenes como de 3 días de edad. La frecuencia de ooquistes de *Cryptosporidium* fue 29.5% con diarrea en becerras jóvenes de 1 mes de edad y 10.7 % en becerras entre 1 y 3 meses de edad (Arlasan., *et al* 2001).

2.7. Patogenia y lesiones

La infección, la cual se transmite por vía fecal-oral, empieza con la ingestión de los ooquistes y seguida de la exquistación de los esporozoitos en el intestino, los parásitos infectan el epitelio y al sufrir la reproducción asexual seguida de la reproducción sexual donde se desarrollan (Tarek *et al.*, 2004).

Los mecanismos patofisiológicos de *Cryptosporidium* inducen a la diarrea por malabsorción, inducida al daño a las vellosidades atribuido al parásito. Además de la malabsorción, los problemas de digestión están también reportados con hipersecreción mediada por una toxina (Fayer y Ungar, 1986).

El parásito invade el epitelio del intestino replicándose secuencialmente a través del ciclo reproductivo, en el caso de becerras, en las heces se eliminan más de 10^{10} ooquistes por día y arriba de 10^7 ooquistes por gramo de heces. Puede durar eliminando ooquistes por 3 a 12 días en becerras, calculando concentraciones elevadas de ooquistes. Macroscópicamente, el intestino

usualmente parece normal. A la necropsia, el cadáver se observa en una buena condición. Las órbitas poco hundidas y las vísceras tienen superficies secas y pegajosas, el estómago granular de color café, melena en el colón sugestiva a una gastroenteritis hemorrágica (Clark, 1999).

Microscópicamente las lesiones pueden extenderse a lo largo del intestino de las becerras clínicamente afectadas; sin embargo algunas de ellas son encontradas en el ileón, donde la destrucción de las células epiteliales resultan en atrofia de las vellosidades e infiltración de mucosa con neutrófilos y linfocitos. En muchos casos subclínicos las infecciones solo son encontradas con pocos parásitos, con inaparentes daños en el intestino (Moon *et al.*, 1985).

2.8. Diagnóstico

Los estados endógenos del parásito en el borde de las microvellosidades de las células epiteliales pueden ser detectadas histológicamente por la tinción HE en muestras intestinales fijadas 1 a 2 horas antes de su muerte. Los oocistos se pueden ver microscópicamente directo en una citología de heces contenidas en el intestino, teñidas con carbol fucsina, con la tinción modificada para bacilos ácido resistentes, la tinción de Giemsa o por otras tinciones. Otras Técnicas de concentración, también pueden ser utilizadas (Moon *et al.*, 1985).

El diagnóstico se hace generalmente para la identificación de ooquistes en las heces haciendo apropiadamente el frotis para la citología o a su vez el antígeno de *Cryptosporidium* dentro de las heces por medio de una enzima inmunoabsorbente para comprobar (Steiner *et al.*, 1997).

El diagnóstico en la infección en humanos está inicialmente basada en la identificación del desarrollo de los estados del parásito por medio de una biopsia, usualmente del intestino delgado y ocasionalmente del recto. Los estados son organizados por el tamaño y localización que varía de 2 a 5 μm de diámetro, individualmente o en grupo, sobre las superficies de los tractos respiratorio y gastrointestinal, y parecen esféricos dentro del lumen. Otras técnicas en heces

incluye el de flotación de Sheather en solución de glucosa en sulfato de zinc (36 % saturado) o sedimentación con acetato de etil de formalina el más efectivo. Esta solución nos permite un inmediato reconocimiento de los ooquistes teñidos de color rosa usando un alto poder de magnificación, pero los ooquistes empiezan a alterarse y perder sus características esféricas. Otra técnica es por medio de la tinción fluorescente también estas se usan para detectar *Cryptosporidium* spp. Estas incluyen naranja acridina, la cual causa fluorescencia en ambas formas ooquistes y levaduras; auramina - rodamina, la cual solo tiñe ooquistes pero no siempre uniformemente y auramina - carbol fuscina, las cuales también se distinguen entre levaduras y *Cryptosporidium* spp lo cual es significativamente mejor que la tinción ácido resistentes, pero no permite la visualización detallada (Fayer y Ungar, 1986).

En pacientes que están infectados con uno o más parásitos como son *Giardia lamblia* y *C. parvum* se usan de rutina métodos de diagnóstico con tinción tricrómica y tinción ácido resistentes modificada y pueden ser insuficientes para demostrar la presencia de estos organismos. El diagnóstico se puede comprobar con un paquete comercial de inmunoenzimático el cual puede ser interpretado aproximadamente en 12 minutos fijados en formalina con una sensibilidad del 98% y con una especificidad de 100% (García *et al.*, 2003).

2.9. Control y tratamiento

Para el control de la propagación de *Cryptosporidium* u otras coccidias, se requiere la eliminación del desarrollo de los ooquistes. Sin embargo bajo condiciones favorables los ooquistes quedan infectando relativamente por largo tiempo. Los ooquistes de *Cryptosporidium* spp se almacena en soluciones acuosas a 4°C donde empiezan a perder su infectividad de 2 a 6 meses, pero pueden ser viables de 6 a 9 meses e infectivos en cultivos celulares hasta por 12 meses. Las temperaturas extremas afectan la viabilidad de los ooquistes, a 65 °C por 30 minutos pierden su capacidad de infectar. Con el calor húmedo se pierde

su infectividad al calentarlo de 90 a 55 °C entre 15 a 20 minutos o manteniéndolo 45 °C por 5 a 20 minutos. Esto podría usarse como guía de tratamiento en la comida o agua contaminada que no se conoce o que sospecha. Para la reducción potencial de los ooquistes es limpiar el agua y comida por la contaminación con heces. Incluso una alta concentración ninguna prevenía la infección aunque amprolium, arprinocin, dinitolmide, salinomicina, y sulfaquinoxalina reducen la excreción de los ooquistes. En becerras hay 9 medicamentos pero solo el lasolacid es efectivo pero cuidado con la dosis pues puede ser tóxico (Fayer y Ungar, 1986).

Limpiar y desinfectar es importante para reducir la contaminación dentro de las jaulas; todo el equipo tendría que moverse para lavar y eliminar. Lavar a alta presión con manguera es muy efectivo para eliminar 99.98% de contaminación incluso cuando no se usan desinfectantes. En general la potencia de los fenoles es muy útil para la desinfección de las superficies sucias por que no se inactivan por materia orgánica y son efectivos contra bacterias gram-negativas y virus. El hipoclorito de sodio tiene un amplio espectro de acción pero rápidamente se inactiva por materia orgánica. El formolaldehido es poco efectivo contra el agente de Criptosporidia y es altamente tóxico. Los mayores factores de riesgo incluyen los parideros, los animales deben de ser separados en grupos de las sanas o enfermas para que no haya transmisión de la enfermedad (Naylor, 2005).

Otro tratamiento es de 5 mg de lactato de halofuginona en 10 mL en una solución administrarse entre 15 y 30 minutos en la mañana antes de dar la leche por 7 días. Sin embargo, halofuginona parece que reduce o elimina a los ooquistes, retrasando la infección y reduciendo la severidad de *Cryptosporidium* en las becerras (Jarvie *et al.*, 2005).

La desinfección con cloro ha sido una barrera importante en la prevención de enfermedades por agua contaminada, pero *C. parvum* es muy resistente al cloro y otros desinfectantes usados en el tratamiento de agua para consumo. La preocupación sobre la eficacia de cloro contra algún patógeno resistente como *Cryptosporidium*, así como su seguridad, y la salud, potencialmente ha llevado a la consideración de desinfectantes alternativos y estrategias de la desinfección, como el tratamiento secuencial con dos o más desinfectantes (Venczel *et al.*, 1997).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* tienen paredes gruesas que pueden soportar ambientes hostiles que los hacen resistentes a los desinfectantes químicos tales como el cloro, que es usado en forma tradicional en los sistemas de agua potable municipal y en las piscinas (Avery *et al.*, 2005).

3. Justificación

De acuerdo a los antecedentes descritos, donde se mencionan las pérdidas económicas en el ganado lechero, así como el potencial de la Criptosporidiosis para producir enfermedad en el hombre, y tomando en cuenta que en la Comarca Lagunera se están realizando una serie de estudios sobre Criptosporidiosis para abrir una línea de investigación con la cual se pretende ampliar los conocimientos de dicha enfermedad en la Comarca Lagunera, la finalidad del presente trabajo es obtener las medidas de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp para identificar por medio de la morfometría las características del parásito que se encuentra en la región, específicamente en bovinos. Además de esto se tiene poca información escrita y los resultados serán dados a conocer en congresos y revistas científicas.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Describir la morfometría de ooquistes de *Cryptosporidium* spp, en becerras Holstein de la Comarca Lagunera, utilizando la tinción de Ziehl Neelsen y observándolos en un microscopio fotónico con micrómetro de ocular.

4.2. Objetivo específico

4.2.1. Identificar ooquistes de *Cryptosporidium* spp en heces de becerras con diarrea en hatos lecheros de la Comarca Lagunera, por medio de análisis microscópicos con la tinción de Ziehl Neelsen modificada.

4.2.2. Medir ooquistes de *Cryptosporidium* spp en heces de becerras con diarrea en hatos lecheros utilizando un micrómetro de ocular.

5. Marco de referencia

La Región Lagunera, se localiza en la parte central de la porción norte de los Estados Unidos Mexicanos. Se encuentra ubicada entre meridianos 102° 22' y 104°47' WdG longitud oeste, y los paralelos 24°22' y 26°23' latitud norte. La altura media sobre el nivel del mar es de 1,139 metros. Cuenta con una extensión montañosa y una superficie plana donde se localizan las áreas agrícolas, así como áreas urbanas. La topografía de la Región Lagunera en términos generales es plana y de pendientes suaves, que varían de 0.20 a 1.0 metros por kilómetro, generalmente hacia el norte y noroeste. La Comarca está conformada por parte de los estados de Coahuila y Durango y debe su nombre a los cuerpos de agua que se formaban alimentados por los ríos Nazas y Aguanaval, hasta antes de la construcción de las presas Lázaro Cárdenas y Francisco Zarco que en la actualidad regulan su afluente. La Laguna, comúnmente es conocida como próspera región, está integrada por 16 municipios, 11 del estado de Durango y 5 del estado de Coahuila (SAGARPA, 1998).

El proyecto se llevó a cabo en establos ubicados en esta región comprendiendo los municipios del Estado de Durango, Lerdo y Gómez Palacio y del Estado de Coahuila, Matamoros, Torreón, Francisco I. Madero y Viesca.

6. Material y métodos

Fase de campo. El trabajo de campo se realizó en 20 hatos lecheros de la Comarca Lagunera, de los estados de Durango y Coahuila, los cuales contaban en ese momento con una población de 3534 becerras. Se tomaron muestras de heces de 205 terneras, de 1 a 60 días de nacidas, todas ellas con signos clínicos de diarrea. Las heces fueron colectadas del recto, estimulando la defecación y acondicionadas en bolsas plásticas estériles, siendo mantenidas en refrigeración para posteriormente procesarlas en el lugar de trabajo.

Fase de laboratorio. Esta se realizó en el laboratorio de Parasitología de la Unidad de Diagnóstico del Departamento de Ciencias Médico Veterinaria de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, ubicado en Torreón, Coahuila.

La micrometría se realizó en el Laboratorio Central de Diagnóstico Veterinario de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Preparación de la tinción de Ziehl Neelsen. Se preparó Carbol Fucsina utilizando 10 g de Fucsina básica (Hycel) diluida en 1 L de agua destilada, 100 mL de alcohol absoluto (Analytica) y 50 mL de cristales de fenol (Merck). Para la solución madre de azul de metileno se utilizaron 1.4 g de colorante azul de metileno (Golden Bell) y se diluyeron en 100 mL de alcohol de 96% (Analytica). Para la solución de trabajo se diluyó la solución madre en 90 mL de agua destilada. Se preparó alcohol ácido al 1% utilizando ácido clorhídrico (Merck) en alcohol etílico al 70% (Analytica).

Procedimiento de la tinción de Ziehl Neelsen. Se realizaron frotis de heces diarreicas en portaobjetos, se secaron al aire y se procesaron con la técnica de Ziehl-Neelsen modificada. Las muestras se enjuagaron en agua corriente para eliminar residuos y polvos, se sumergieron en Carbol Fucsina por 30 minutos, se lavaron en agua corriente hasta eliminar el exceso de colorante. Se decoloraron en alcohol ácido hasta obtener una tinción de color rosa, se continuó con enjuague con agua corriente para eliminar residuos del alcohol ácido, se utilizó el colorante azul de metileno por 2 minutos con la finalidad de hacer un contraste en la tinción y se enjuagó con agua corriente con el fin de eliminar el exceso de azul de metileno. Las muestras teñidas se cubrieron con cubreobjetos, utilizando resina sintética para observarlas e interpretarlas con un microscopio fotónico.

Se utilizó un microscopio fotónico, así como el *micrómetro de ocular* y *micrómetro de objetivo* o lamina de patrón (Carl zeiss; Anexo 1).

7. Resultados

De los 205 becerros muestreados de 20 establos lecheros de la Comarca Lagunera, el 100% presentaron diarrea. La edad de los animales fluctuó entre 1 a 60 días. En el momento del muestreo hubo una población de 3534 beceras. Se encontraron 63 casos positivos a los cuales se les realizó la medición de longitud y diámetro de 1 a 10 ooquistes por caso según la intensidad de excreción. El cuadro 1 muestra las diferencias que hubo entre longitud y diámetro, observándose esta serie de datos para los resultados mínimos de longitud de 3.0 μm y para diámetro 2.8 μm , así como también los máximos para ambos 5.0 μm , con rangos para la longitud de 2.0 μm , y diámetro de 2.2 μm , con una mediana para ambos de 4.0 μm , la media de la longitud 3.98 μm , y diámetro de 3.86 μm , con un error estándar de la longitud de 0.016 μm , y de l diámetro de 0.017 μm , la desviación estándar para la longitud de 0.346 μm , y del diámetro de 0.372 μm .

En el cuadro 2 se observan las diferencias de las medias con su desviación estandard entre los 5 grupos de longitud y diámetro: El grupo 1 : longitud . 4.033 μm (\pm 0.371 μm); diámetro. 3.95 μm (\pm 0.408 μm); el grupo 2: longitud. 3.872 μm (\pm 0.329 μm); diámetro 3.8 μm (\pm 0.378 μm) ; grupo 3: longitud 3.991 μm (\pm 0.290 μm); diámetro 3.902 μm (\pm 0.35 μm); grupo 4: longitud 3.907 μm (\pm 0.315 μm); diámetro 3.841 μm (\pm 0.337 μm); grupo 5: longitud 4.016 μm (\pm 0.371 μm); diámetro 3.845 μm (\pm 0.380 μm).

El Cuadro 3 presenta el análisis de longitud de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp entre grupos (diferencias entre medias en micras). Muestra una diferencia significativa entre el grupo 2 y 5 que es de 0.144 μm y el cuadro 4 compara la probabilidad de longitud de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp que fue de 0.035 μm ($p < 0.05$), entre el grupo 2 y 5.

Cuadro 1. Estadística descriptiva de las mediciones de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp

	Longitud	Diámetro
No. de Casos	466	466
Mínimos	3.000	2.800
Máximos	5.000	5.000
Rango	2.000	2.200
Mediana	4.000	4.000
Media	3.980	3.861
Error Std.	0.016	0.017
Desv. Std	0.346	0.372

Cuadro 2. Mediciones de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp por grupos

Grupos	Longitud		Diámetro	
	Media – Desv. Std.		Media – Desv. Std.	
1	4.033	(± 0.371)	3.950	(± 0.408)
2	3.872	(± 0.329)	3.800	(± 0.378)
3	3.991	(± 0.290)	3.902	(± 0.350)
4	3.907	(± 0.315)	3.841	(± 0.337)
5	4.016	(± 0.371)	3.845	(± 0.380)

Cuadro 3. Análisis de longitud de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp entre grupos (diferencias entre medias en micras)

	1	2	3	4	5
1	0.000				
2	-0.161	0.000			
3	-0.042	0.119	0.000		
4	-0.126	0.035	-0.084	0.000	
5	-0.017	0.144*	0.025	0.109	0.000

* 0.144 μm Estadísticamente significativo entre el grupo 5 y 2

Cuadro 4. Comparación de Probabilidad de longitud de los ooquistes de *Cryptosporidium* spp entre grupo

	1	2	3	4	5
1	1.000				
2	0.117	1.000			
3	0.961	0.207	1.000		
4	0.336	0.981	0.565	1.000	
5	0.998	0.035*	0.976	0.200	1.000

0.035* entre el grupo 2 y 5 estadísticamente por que tiene que ser < 0.05.

8. Discusión

Los resultados obtenidos en el presente trabajo son similares a los obtenidos por Masaaki *et al.*, (2003), donde encontraron oocistos de *Cryptosporidium* en heces de becerros de 2 – 28 días de nacidas. También en esta investigación se presentan los promedios de las dimensiones de los ooquistes, donde se encontraron tres tipos de criptosporidios con pruebas moleculares, siendo los *C. andersoni*, con rangos de 7.4 μm por 5.1 μm y de 7.6 μm por 5.9 μm y de *C. muris* con 8.1 μm por 5.1 μm y *C. parvum* 4.8 μm por 4.2 μm respectivamente, siendo estas últimas medidas similares a las nuestras.

Cryptosporidium andersoni infecta el abomaso del ganado y produce ooquistes un poco más pequeños que los de *C. muris* los cuales tienen medidas de 7.4 μm por 5.5 μm (6.0 μm a 8.1 μm por 5.0 μm a 6.5 μm) (Lindsay *et al.*, 2000).

Los ooquistes maduros de *C. parvum* son ovoidales o esféricas y no exceden de 4.5 μm de diámetro. Upton y Current proporciona medidas de 5.0 μm por 4.5 μm (4.5 μm a 5.4 μm por 4.2 μm a 5.0 μm) de longitud y diámetro y Tilley reportó medidas de los ooquistes de 5.2 μm por 4.0 μm 6.0 μm (4.8 μm a 5.6 μm por 4.2 μm a 4.8 μm) de longitud y diámetro (Xiao *et al.*, 2004).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* se han observado en heces de caninos en todo el mundo. Los ooquistes de las heces infectan de manera natural a los perros y las medidas reportadas son de 4.95 μm a 4.71 μm de longitud y diámetro. Estos ooquistes son morfológicamente indistinguibles de *C. parvum* y poseen antígenos de superficie comunes, basándose sobre la habilidad de infectar al humano y bovinos, pero estos no infectan a los ratones como otros diferentes tipos de *Cryptosporidium* spp, por lo cual se denominan *C. canis* (Fayer *et al.*, 2001). Las infecciones se pueden encontrar en caninos, coyotes, zorros y humanos (Morgan *et al.*, 2000).

C. felis se observan en las heces de gatos y las medidas de los ooquistes son de 5.0 μm por 4.5 μm y de 6.0 μm por 5.0 μm de longitud y diámetro (Mtambo *et al.*, 1996).

En los análisis morfométricos de otros estudios, algunos ooquistes de un felino revelan medidas similares a *C. parvum*, entre 4.3 μm por 4.7 μm o 3.8 μm a 4.8 μm por 4.6 μm a 4.9 μm y 4.0 μm por 4.6 μm (Bornay *et al.*, 1999).

Cryptosporidium wriari en cobayos las medidas son 5.4 μm por 4.6 μm (4.8 μm a 5.6 μm por 4.0 μm a 5.0 μm) de longitud y diámetro, teniendo *C. parvum* medidas muy similares de 5.2 μm por 4.6 μm (Tilley *et al.*, 1991).

C. hominis son parásitos que infectan a los humanos, previamente designados *C. parvum* humano genotipo I, o genotipo H tienen una línea separada a *C. hominis* basado biológicamente en diferencias moleculares. *C. hominis* morfológicamente es idéntico a *C. parvum* 4.6 μm a 5.4 μm por 3.8 μm a 4.7 μm de longitud y diámetro (Akiyoshi *et al.*, 2002).

Especies de *Cryptosporidium* en aves han sido encontradas más de 30 especies. *C. meleagridis* y *C. baileyi* son encontrados a lo largo del intestino y bursa, además *C. baileyi* se ha encontrado en conjuntiva y tráquea. *C. galli* se ha encontrado en proventrículos de pollos. *C. meleagridis* son ooquistes ovoidales con medidas 4.0 μm por 4.5 μm parecen indistinguibles a *C. parvum* (Lindsay *et al.*, 1990).

C. baileyi encontrado en pollos (Current *et al.*, 1986) se ha observado en las microvellosidades de enterocitos en la región del ileón y a largo del intestino. Provocando una infección fuerte en la bolsa de Fabricio y cloaca, no hay resultados clínicos en ileón. Los ooquistes de pared delgada son observados con medidas 6.2 μm por 4.6 μm (5.6 μm a 6. μm 3 por 4.5 μm a 4.8 μm) de longitud y diámetro así son más largos y alongados como los de *C. meleagridis*. Así

también *C. baileyi* en un gallo (*Larus ridibundus*) joven de 30 días en la República Checa fue encontrado en el colón y otros sitios respiratorios y BF. Los ooquistes con medidas de 6.4 μm por 4.9 μm y sucesivamente fueron transmitidas a gallos de 4 días de edad (*Gallus gallus domestica*)

(Pavlašek, 1993).

C. galli es un parásito recientemente redescubierto por diferencias de bases biológicas, parece estar asociado a una enfermedad clínica con alta mortalidad, con medidas 8.25 μm por 6.3 μm (8.0 μm a 8.5 μm por 6.2 μm por 6.4 μm) de longitud y diámetro (Pavlašek, 2001).

C. serpentis proporciona medidas Tilley 6.2 μm por 5.3 μm (5.6 μm a 6.6 μm por 4.8 μm a 5.6 μm) de longitud y diámetro, pero Xiao obtiene medidas de 5.9 μm por 5.1 μm de longitud y diámetro.

Cryptosporidium saurophilum se encontró en 6 especies de lagartos, el sitio de infección donde se hospeda es el intestino o cloaca. Los ooquistes con medidas 5.0 μm por 4.7 μm (4.4 μm a 5.6 μm por 4.2 μm a 5.2 μm) de longitud y diámetro (Koudela y Moudry, 1998).

C. molnari en peces los ooquistes casi esféricos 4.72 μm por 4.47 μm (Álvarez y Sitja, 2002).

Una investigación muy completa sobre medidas de criptosporidios la reportan Sréter *et al.* (2000), donde informan las medidas de *C. parvum* de 4.9 μm (4.5 μm – 5.4 μm) de longitud y diámetro 4.4 μm (4.2 μm – 5.2 μm); mientras que *C. meleagridis* 5.0 μm (4.5 μm – 6.0 μm) de longitud y diámetro 4.4 μm (4.2 μm – 5.3 μm); para *C. felis* 4.6 μm (3.2 μm – 5.1 μm) de longitud y diámetro 4.0 μm (3.0 μm – 4.0 μm); así como para *C. baileyi* 6.4 μm (5.6 μm – 7.5 μm) de longitud y diámetro 4.8 μm (4.8 μm – 5. μm 7); *C. serpentis* 6.2 μm (5.6 μm – 6.6 μm) de longitud y diámetro 5.3 μm (4.8 μm – 5.6 μm) ; y para *C. muris* 7.7 μm (6.5 μm – 8.1) μm de longitud y diámetro 5.2 μm (5.0 μm – 6.0 μm).

9. Conclusiones

- 1.- Las medidas de los ooquistes observadas en nuestro estudio fueron las mínimas de 3.0 μm de longitud y de 2.8 μm de diámetro, máximas 5.0 μm de longitud y diámetro, y una mediana de 4.0 μm para longitud y diámetro las cuales, de acuerdo a otros investigadores son similares a las de *C. parvum*.
- 2.- Tomando en cuenta la especie analizada, se sugiere que los ooquistes observados del género *Cryptosporidium* corresponden a la especie *parvum*.
- 3.- Para tener una mayor especificidad de la especie involucrada en las diarreas de las becerras en la Comarca Lagunera, se requieren estudios por técnicas moleculares o inmunoenzimáticas, con anticuerpos monoclonales, para la identificación de antígenos específicos, debido a que por su morfometría se pueden confundir con otras especies de *Cryptosporidium* como *C. canis*, *C. felis*, *C. hominis*, *C. meleagridis* y *C. wriari*.

10. Literatura citada

- Akiyoshi, D.E., X. Feng, M. A. Buckholt, G. Widmer, S. Tzipori. 2002. Genetic Analysis of a *Cryptosporidium parvum* Human Genotype 1 Isolate Passaged through Different Host Species. *Infect. Immun.* 70(10): 5670–5675.
- Alvarez-Pellitero, P., A. Sitja-Bobadilla. 2002. *Cryptosporidium molnari* n. sp. (*Apicomplexa: Cryptosporidiidae*) infecting two marine fish species, *Sparus aurata* L. and *Dicentrarchus labrax* L. *Int. J. Parasitol.* 32:1007–1021.
- Arlasan, M. O., Gicik Y., H. M Erdouan, y B. Sari. 2001. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in diarrhoeic calves in kars Province Turkey Turk *J Vet Anim Sci.* 25 :161-164
- Avery, B. K., A. Lemley y A. G. Hornsby. 2005. *Cryptosporidium*: Un Patógeno Transmitido por el agua. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/SS/SS33000.pdf> (Consultado el 24 de Octubre de 2006).
- Bornay-Llinares, F. J., A. J. Da Silva, I. N. S. Moura, P. Myjak, H. Pietkiewicz, W. Kruminis-Lozowska, T. K. Graczyk, N. J. Pieniazek. 1999. Identification of *Cryptosporidium felis* in a cow by morphologic and molecular methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:1455–1458.
- Clark, D. P. 1999. New Insights into Human Cryptosporidiosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12 (4): 554–563.
- Current, W. L., S. J. Upton, y T. B. Haynes. 1986. The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (*Apicomplexa, Cryptosporidiidae*) infecting chickens. *J. Protozool.* 33:289–296.

- Díaz, d. R. A., I. L. N. Ramírez, R. M. Godoy, R. Román. 2002 Excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Durante el posparto, en vacas mestizas de doble propósito. *Revista Científica*. 12: 614-616.
- Dillingham, R. A., A. A. Lima, R. L. Guerrant. 2002. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact . *Microbes and Infection*. 4 (10): 1059 – 1066.
- Fayer, R. y B. L. Ungar. 1986. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. *Microbiol Rev*, 50(4): 458-83.
- Fayer, R., C.A. Speer y J.P. Dubey. 1990. General biology of *Cryptosporidium*, p. 2-29. In: J.P. Dubey, C.A. Speer and R. Fayer (eds.), *Cryptosporidiosis of man and animals*. CRC Press, Boca Raton, Fla.
- Fayer, R., C. Speer, J. Dubey. 1997. The general biology of *Cryptosporidium*, 1–41. In R. Fayer (ed.), *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.
- Fayer, R., J. M. Trout, 2000. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Eimeria* infections in post-weaned and adult cattle on three Maryland farms. *Vet. Parasitol*. 93:103–112.
- Fayer, R., J. M. Trout, L. Xiao, U. M. Morgan, A. A. Lai, J. P. Dubey. 2001. *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. *J. Parasitol*. 87: 1415- 1422.
- García, L. S., R. Y. Shimizu, S. Novak, Marilyn C., y F. Chan. 2003. Commercial Assay for Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* antigens in Human Fecal Specimens by rapid solid phase qualitative Immunochromatography. *J. Clin. Microbiol*. 41(1): 209–212.

- Graczyk, T.K., R. K Fayer Ronald, B. Mhangami-Ruwende, J. M. Trout, A. J. Da Silva, y N. J. Pieniazek. 2000. House flies (*Musca domestica*) as transport hosts of *Cryptosporidium parvum*. *Am J Trop Med Hyg* 61: 500–504.
- Graaf, D. C., H. De Coninck, F. Petry, I. B. Eeckhout y J. E. Peeters. 2002. Specific bovine antibody response against a new recombinant *Cryptosporidium parvum* antigen containing 4 zinc-finger motifs, the Korean. *J. Parasitol.* 40(1): 59-64.
- Hunt, E., F. Qiang, M. U. Armstrong, D. K. Rennix, D. W. Webster, J. A. Galanko, W. Chen, E. M. Weaver, R. A. Argenzio y J. M. Rhoads. 2002. Oral bovine serum concentrate improves Cryptosporidial enteritis in calves. *Pediatric Res.* 51 (3).
- Jarvie, B. D., L. A. Trotz-Williams, D. R. McKnight, K. E. Leslie, M. M. Wallace, C. G. Todd, P. H. Sharpe, y A. S. Peregrine. 2005. Effect of Halofuginone Lactate on the Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and Growth of Neonatal Dairy Calves. *American Dairy Science.* 88:1801–1806.
- Koudela, B., y D. Modry. 1998. New species of *Cryptosporidium* (*Apicomplexa*, *Cryptosporidiidae*) from lizards. *Folia Parasitol.* 45:93–100.
- Kuczynska, E., D. R. Shelton, Y. Pachepsky . 2005. Effect of bovine manure on *Cryptosporidium parvum* oocyst attachment to soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(10): 6394–6397.
- Lindsay, D., y B. Blagburn, C. A. Dubey, Speer, and R. Fayer 1990. Cryptosporidiosis in birds, p. 133–148. *In* J. P. Cryptosporidiosis in man and animals. CRC Press, Inc., Boca Raton.
- Lindsay, D. S., S. J. Upton, D. S. Owens, U. M. Morgan, J. R. Mead y B. L. Blagburn 2000. *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (*Apicomplexa: Cryptosporiidae*) from cattle, *Bos taurus*. *J. Eukaryot. Microbiol.* 47:91–95.

- Marshall M. M., D. Naumovitz, Y. Ortega, y Sterling.1997. CR Waterborne protozoan pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.* 10(1): 67-85.
- Masaaki Satoh, Kenji Hikosaka, Takako Sasaki, Yoshihisa Suyama, Tokuma Yanai, Minoru Ohta, and Yutaka Nakai. 2003. Characteristics of a Novel Type of Bovine *Cryptosporidium andersoni*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:691–692.
- McLauchlin, J., Amar C., Pedraza-Diaz , y Nichols G. L.2000. Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. in the United Kingdom: results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1,705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. *J. Clin. Microbiol.* 38:3984–3990.
- Moon H.W., J.F.L. Pohlenz, D.B. Woodmansee. 1985. Intestinal cryptosporidiosis. pathogenesis and immunity, in Proceedings. *Symp Intest Microecology.* 1:29-33.
- Morgan, U. M., A. P. Sturdee, G. Singleton, M. S. Gomez, M. Gracenea, J. Torres, S. G. Hamilton, D. P. Woodside, y R. C. A. Thompson. 1999. The *Cryptosporidium* “mouse” genotype is conserved across geographic areas. *J. Clin. Microbiol.* 37:1302–1305.
- Morgan, U. M., L. Xiao, P. Monis, A. Fall, P. J. Irwin, R. Fayer, K. M. Denholm, J. Limor, A. Lal, y R. C. Andrew Thompson. 2000. *Cryptosporidium* spp. in domestic dogs: the ‘dog’; genotype. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2220–2203.
- Mtambo, M., M. E. Wright, A. S. Nash, D. A. Blewett. 1996. Infectivity of a *Cryptosporidium* species isolated from a domestic cat (*Felis domestica*) in lambs and mice. *Res. Vet. Sci.* 60:61–64.
- Naylor, J.M. 2005. Diseases of Neonatal Calves: An Update. Department of Large Animal Clinical Sciences Western College of Veterinary Medicine June1-4, 2005 *Forum of the American College of Veterinary Internal Medicine.* 5(1).

O'Donoghue, P.J.1995. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int J Parasitol.* 25(2): 139 – 195.

Olsen M, C. Thorlakson, L. Deselliers, D. Morck, T. McAllister. 1997. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. *Vet Parasitol.* 68:375-81.

Ortolani, E. L. y Castro S. P. 2003. Aspectos epidemiológicos de la Cryptosporidiosis en becerros de rebaños lecheros. *Parasitol. Latinoam.* 58: 122-127.

Ortega, M. L. M., B. M. Gómez y V. F. A. Rojo. 1999. Parasitología veterinaria. España, McGraw - Hill interamericana.

Pavlašek, I. 1993. The black-headed gull (*Larus ridibundus* L.), a new host for *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae). *Vet. Med. (Praha)* 38:629–638.

Pavlašek, I. 2001. Findings of cryptosporidia in the stomach of hens and of exotic and wild birds. *Veterinarstvi* 51:103-108.

SAGARPA.1998. Anuario estadístico de la producción agropecuaria. Lerdo Durango, México.

Sréter T., G. Kovács, A. J. Da Silva, N. J. Pieniazek, Z. Széll, K. M. Dobos-Kovács, K. M., e I. Varga. 2000. Morphologic, host specificity, and molecular characterization of a Hungarian *Cryptosporidium meleagridis* Isolate *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (2):735–738.

Steiner, T.S., N.M Thielman, R.L. Guerrant, 1997. Protozoal agent What are the dangers for the public water supply? *Annu Rev Med.* 48:329-40.

- Strong, W. B., J. Gut, y R. G. Nelson. 2000. Cloning and sequence analysis of a highly polymorphic *Cryptosporidium parvum* gene encoding a 60-kilodalton glycoprotein and characterization of its 15- and 45-kilodalton zoite surface antigen products. *Infect. Immun.* 68:4117-4134.
- Tarek K. Z., M. Bajaj-Elliott, J.T. George, y V. McDonald. 2004. Differential regulation of -Defensin gene expression during *Cryptosporidium parvum* infection, *Infect. Immun.* 72 (5): 2772-2779.
- Tilley, M., S. J. Upton y C. E. Chrisp. 1991. A comparative study on the biology of *Cryptosporidium* sp. from guinea pigs and *Cryptosporidium parvum* (*Apicomplexa*). *Can. J. Microbiol.* 37:949-952.
- Venczel, L. V., M. Arrowood, M. Hurd y M. D. Sobsey. 1997. Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Clostridium perfringens* spores by a mixed-oxidant disinfectant and by free chlorine. *Appl Environ Microbiol* 63(4):1598-601.
- Xiao, L. H., U. M. Morgan, J. Limor, A. Escalante, M. Arrowood, W. Shulaw, R. C. A. Thompson, R. Fayer, y A. A. Lal 1999. Genetic diversity within *Cryptosporidium parvum* and related *Cryptosporidium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:3386-3391.
- Xiao, L., J. Limor, U. M. Morgan, I. M. Sulaiman, R. C. Thompson, and A. A. Lal. 2000. Sequence differences in the diagnostic target region of the oocyst wall protein gene of *Cryptosporidium* parasites. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:5499-5502.
- Xiao, L., R. Fayer., U. Ryan y S. Upton. 2004. *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health American Society for Microbiology. 17 (1): 72-9.

ANEXO 1

MICROMETRIA

Lamina patrón (LP), es una regla de 1mm dividida en 100 partes iguales de tal manera que cada espacio es igual a : $1\text{mm} / 100$ (constante en la formula).

Micrómetro de ocular (MO), es una escala dispuesta en una lentilla que se coloca en el ocular del microscopio y las subdivisiones del fabricante.

Para calibrar el ocular micrométrico

- 1.- Se inicia con el objetivo de menor magnificación para luego hacerlo con los de mayor.
- 2.- Se coloca **LP** en la platina y se enfoca la escala.
- 3.- El **MO** colocado en el ocular, se rota para sobre poner ambas escalas y mediante la **LP** se hacen coincidir los ceros de las dos escalas.
- 4.- Una vez que se cuentan con las exactas coincidencias de la **LP y el MO**.

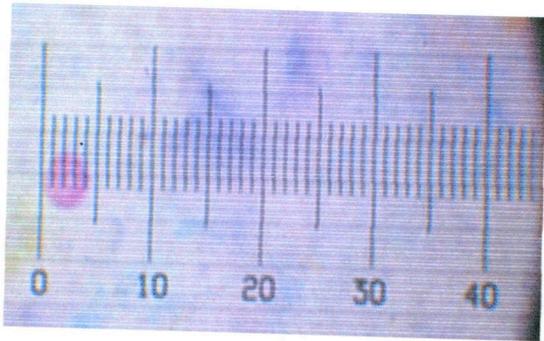
Se procede a la siguiente formula:

$$\frac{(LP) (Constante 10)}{(MO)} =$$

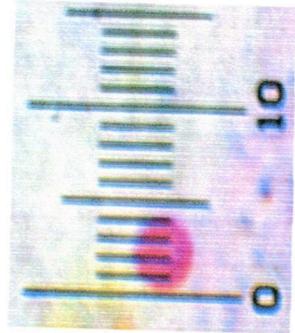
Calibración 100X

$$\frac{(LP 11) (Constante 10)}{(MO 11)} = 1 \mu\text{m}$$

Observación con el objetivo de 100x



Ooquistes de *Cryptosporidium* de 4 μm



4 μm

Interpretación de las observaciones. Los criterios de evaluación se basaron en la observación de los ooquistes de color rojo brillante sobre un fondo azul. Para después formarlo en 5 grupos según la intensidad de eliminación de criptosporidias de acuerdo:

(-) Ausencia de ooquistes; (+) 1 a 10 ooquistes; (++) 11 a 20 ooquistes; (+++) 21 a 40 ooquistes; (++++) 41 a 80 ooquistes; (+++++) más de 81 ooquistes. Se observaron con el objetivo 40X, se contabilizaron 25 campos ópticos, al encontrar ooquistes, y fueron observados como mínimo 50 campos antes de considerar un caso negativo.