



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

INOCULACION EXPERIMENTAL DE GATOS  
DOMESTICOS (*Felis catus*) CON OOCISTAS DE  
*Cryptosporidium* spp. OBTENIDOS A PARTIR  
DE HUMANOS

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**  
P R E S E N T A  
**MARIA ELENA CONTRERAS FIGUEROA**

ASESOR: M.V.Z. PABLO MARTINEZ LABAT



CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

" Inculcación experimental de gatos domésticos (*Felis catus*) con oocistos de *Cryptosporidium* spp. obtenidos a partir de humanos "

que presenta la pasante: María Elena Contreras Figueroa, con número de cuenta: 4457761 - 7 para obtener el TÍTULO de Médica Veterinaria Zootecnista.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Mex., a 12 de agosto de 1996.

PRESIDENTE	MVZ Juan Pablo Martínez Labat	<i>[Signature]</i>
VOCAL	MVZ Gloria Ortiz Gauca	<i>[Signature]</i>
SECRETARIO	MVZ Victor Quintero Ramirez	<i>[Signature]</i>
PRIMER SUPLENTE	M. en C. Fernando Alba Hurtado	<i>[Signature]</i>
SEGUNDO SUPLENTE	MVZ Guillermo Valdivia Anda	<i>[Signature]</i>

# INDICE I

	<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>I</b>	<b>INTRODUCCIÓN.</b>	<b>2</b>
<b>II</b>	<b>ANTECEDENTES.</b>	<b>3</b>
<b>III</b>	<b>CLASIFICACIÓN TAXONÓMICAS.</b>	<b>4</b>
<b>IV</b>	<b>HOSPEDADORES.</b>	<b>4</b>
<b>V</b>	<b>ESPECIFICIDAD DE HOSPEDERO.</b>	<b>7</b>
<b>VI</b>	<b>LOCALIZACIÓN.</b>	<b>8</b>
<b>VII</b>	<b>MORFOLOGÍA.</b>	<b>9</b>
<b>VIII</b>	<b>CICLO BIOLÓGICO.</b>	<b>11</b>
<b>IX</b>	<b>EPIDEMIOLOGÍA.</b>	<b>14</b>
<b>X</b>	<b>PATOGENIA.</b>	<b>18</b>
<b>XI</b>	<b>INMUNIDAD.</b>	<b>18</b>
<b>XII</b>	<b>CUADRO CLÍNICO.</b>	<b>20</b>
	12.1 Rumiantes	<b>22</b>
	12.2 Monogéstricos	<b>26</b>
	12.3 Aves	<b>26</b>
	12.4 Humanos	<b>26</b>
	12.5 Gatos.	<b>27</b>
<b>XIII</b>	<b>DIAGNÓSTICO.</b>	<b>36</b>
<b>XIV</b>	<b>TRATAMIENTO.</b>	<b>36</b>
<b>XV</b>	<b>PREVENCIÓN Y CONTROL.</b>	<b>40</b>
<b>XVI</b>	<b>OBJETIVOS.</b>	<b>43</b>
<b>XVII</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS.</b>	<b>44</b>
	17.1 Animales.	<b>44</b>
	17.2 Inóculo.	<b>48</b>
	17.3 Heces	<b>48</b>
	17.4 Muestras recolectadas.	<b>47</b>
<b>XVIII</b>	<b>RESULTADOS.</b>	<b>48</b>
<b>XIX</b>	<b>DISCUSIÓN.</b>	<b>61</b>
<b>XX</b>	<b>CONCLUSIONES.</b>	<b>66</b>
<b>XXI</b>	<b>REFERENCIAS.</b>	<b>67</b>

I N D I C E		I I
CUADRO 1	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.	5
CUADRO 2	ESPECIES DE <i>Cryptosporidium</i>	6
CUADRO 3	DIFERENCIACIÓN MORFOLÓGICA POR ESPECIE.	11
FIGURA 1	CICLO BIOLÓGICO DE <i>Cryptosporidium</i> spp.	12'
CUADRO 4	MÉTODOS DISPONIBLES PARA EL DIAGNÓSTICO.	35
CUADRO 5	FARMACOS PROBADOS PARA EL TRATAMIENTO DE CRUPTOSPORIDIOSIS.	39
CUADRO 6	GRUPOS DE RIESGO PARA ADQUIRIR CRUPTOSPORIDIOSIS.	41
CUADRO 7	DESINFECTANTES USADOS PARA DESTRUIR OOCISTES DE <i>Cryptosporidium</i> spp.	42
CUADRO 8	RESULTADOS POR ANOVA	48
CUADRO 9	RESULTADOS POR PRUEBA DE TUKEY	50
CUADRO 10	ASPECTO DE HECEs DE LOS GRUPOS N Y NI.	52
CUADRO 11	NÚMERO DE OOCISTES DE <i>Cryptosporidium</i> spp. ELIMINADOS DURANTE TODO EL EXPERIMENTO.	53
CUADRO 12	PROMEDIO DE BIOMETRIA HEMATICA POR GRUPOS.	54
GRAFICA 1	PROMEDIO DE ELIMINACIÓN DE OOCISTES DE <i>Cryptosporidium</i> spp. POR GRUPOS .	55
GRAFICA 2	PROMEDIOS DE BIOMETRIA HEMATICA POR GRUPOS.	56
MICROFOTOGRAFÍA	CORTE DE INTESTINO DELGADO CON OOCISTES DE <i>Cryptosporidium</i> spp. ( 40x ).	57
MICROFOTOGRAFÍA	CORTE DE INTESTINO DELGADO CON 8 OOCISTES DE <i>Cryptosporidium</i> spp. ( 100x ).	58
MICROFOTOGRAFÍA	MUCOSA DE INTESTINO DELGADO CON APARENCIA NORMAL CON UN OOCISTES DE <i>Cryptosporidium</i> spp. ( 100x ).	59
MICROFOTOGRAFÍA	OOCISTES DE <i>Cryptosporidium</i> spp. SOBRE MICROVELLORIDADES	60

## RESUMEN

La infección por *Cryptosporidium* spp. ha cobrado relevancia porque representa un problema importante en pacientes con inmunodeficiencias primarias y secundarias ya que es un agente patógeno oportunista; la severidad de la diarrea origina un gasto fecal elevado que conlleva a estados de desnutrición importantes dejando en el medio ambiente oocistos viables que contaminaron a cualquier mamífero. De ahí la necesidad de capacitar gente para detectar oocistos de *Cryptosporidium* spp. y la de implantar técnicas de diagnóstico específicas (15,19,36,54).

El presente trabajo se realiza con la finalidad de demostrar experimentalmente si los oocistos de *Cryptosporidium* spp. de origen humano son capaces de generar una infección en gatos y producir la enfermedad.

Se emplearon 15 gatos dividiéndolos en 3 grupos de 5 animales cada uno: grupo I o control, grupo II o inoculado y grupo III o inoculado inmunosuprimido este se inmunosuprimió con ciclofosfamida 7 días antes de la inoculación para asegurar una infección marcada.

Los parásitos para inoculación se obtuvieron de un paciente con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), y el inóculo tuvo un proceso de semipurificación para su uso.

Se inocularon al grupo II y III con 0.7ml. (5000 a 5203 oocistos) del inóculo, a partir de ese momento las heces se recolectaron diariamente de todos los gatos identificándose por día y gato, a las heces de cada 3 días se les realizó la técnica de Stoll durante los 20 días que duró el experimento. También se les extrajo sangre de la vena yugular cada 8 días durante 4 semanas practicándoseles biometrías hemáticas para determinar posibles alteraciones en los valores hemáticos.

Los 3 grupos experimentales resultaron positivos a oocistos de *Cryptosporidium* spp debido a que el grupo I tuvo una contaminación accidental ya que al día 6 empezaron eliminar oocistos. En los grupos II y III a partir del 1er. día post-inoculación la eliminación de oocistos en heces se observó presentándose un periodo de prepatencia de un día, alcanzando el pico máximo entre los días 4 y 13 post-inoculación decreciendo y manteniéndose constante hasta el final del experimento que duró 20 días.

El grupo III presentó la muerte de 3 animales con signos clínicos muy severos como diarrea con gran cantidad de moco y en ocasiones se observaron estrias de sangre deshidratación y anorexia muy marcada con baja de peso gradual.

Se eutanasiaron a todos los animales al día 20, e incluyendo los que murieron antes se procesaron muestras de intestino delgado con la tinción Hematoxilina-Eosina, observándose leves lesiones en el epitelio intestinal.

En cuanto a los resultados de la biometría hemática no hubo alteraciones.

Se pudieron observar los oocistos de *Cryptosporidium* spp. con la tinción modificada de Kinyoun.

Con los resultados obtenidos del Análisis de la Varianza y Prueba de Tukey se observó que sí hay diferencia significativa entre el grupo de animales control y aquellos sometidos a inmunodepresión e inoculados.

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades que afectan al tracto digestivo, son de suma importancia en la Medicina Veterinaria y en la producción animal ya que influyen en su salud y pueden originar trastornos secundarios que se manifestarán en poca ganancia de peso, deficiente conversión alimentaria, disminución de la producción y baja en los niveles de inmunidad; esta última condición puede permitir un desarrollo rápido e inusual de parásitos (36).

Las enfermedades parasitarias ocupan un lugar importante en los países del Tercer Mundo, pues son causa de un descenso general de la vitalidad, predisponen a la presentación de otras enfermedades, causa celular del hospedero, formando una vesícula parasitífera, evadiendo así la respuesta inmune. Es por ello que actualmente se centra la atención en la caracterización antigénica de merozoítos y esporozoítos, porque no solo representan los estadios autoinfectantes sino también los únicos que se encuentran libres al menos por breve tiempo en el lumen intestinal (18,22,35,45).

Es necesario seguir realizando estudios sobre los mecanismos de defensa, para con ello avanzar sobre una terapia efectiva caso han controlado satisfactoriamente, sino que han aumentado en los últimos años, porque no obstante las medidas de control y prevención, estas dependen básicamente del avance socioeconómico y de las medidas sanitarias de la región o país (5).

En la actualidad, la cantidad de personas que enferman y/o mueren a causa de enfermedades zoonóticas es desconocida. Pero a pesar de no conocer la magnitud del problema, no está por demás mejorar la salud de los animales tanto domésticos como salvajes lo que seguramente contribuirá a acrecentar la salud y el bienestar social (14,20,51).

En la sociedad occidental, la popularidad del gato doméstico ha ido en aumento, siendo quizá una de las razones su fácil adaptabilidad a la vida citadina, ya que el gato no necesita de un espacio muy grande para vivir y su carácter independiente así como sus hábitos de limpieza lo hacen un animal de fácil manejo. Además, se trata de una especie de talla pequeña, por lo que su alimentación es relativamente económica, ofrece una grata compañía al hombre y abyecta a los pequeños roedores que en ocasiones llegan a ser una verdadera plaga en las casas (3).

La criptosporidiosis es una enfermedad infecto contagiosa causada por un protozoo parásito del género *Cryptosporidium* spp., el cual está distribuido mundialmente. Esta enfermedad se presenta en una amplia variedad de hospedadores incluyendo al hombre. Siendo un agente causal de diarreas en todo el mundo particularmente en niños e individuos con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y en personas con deficiencias inmunológicas congénitas; en aves esta enfermedad se llega a presentar a nivel respiratorio (16,19, 21, 30).

Los hospedadores inmunocompetentes generalmente experimentan signos clínicos de medios a moderados recuperándose de la infección y son relativamente resistentes a reinfecciones. Sin embargo

en hospedadores inmunodeficientes algunas veces experimentan severas diarreas con inhabilidad de recuperación en la infección terminal (11,34,44).

La infección es mantenida por esporozoítos y merozoítos los cuales se producen durante el ciclo de vida y que infectan adicionalmente células epiteliales del intestino (47,49,52).

En esta enfermedad se ha ido a la vanguardia de los intereses microbiológicos a partir de los primeros casos esporádicos identificados en los 70s. (9).

## II. ANTECEDENTES

### HISTORIA

En 1907 Ernest Edward Tyzzer describió un protozooario que frecuentemente encontró en las glándulas gástricas de un ratón de laboratorio en secciones histológicas en las cuales los parásitos se observaron invadiendo células epiteliales dándole el nombre de *Cryptosporidium* (esporoquistes ocultos). Él reconoció formas sexuales y asexuales de reproducción por medio de la formación de esporas (ooquistes). Mas adelante apunta la transmisión por vía fecal de esporas en comida contaminada (1,19,56).

En el año de 1910 Tyzzer describió el mismo organismo con más detalle y propuso como un nuevo género a *Cryptosporidium* y como una especie a *muris* Tyzzer extendió el número de especies de hospederos del *Mus musculus* al ratón balsero Japonés y al raton inglés, especulando que los esporozoítos liberados de los ooquistes que maduraban en las glándulas gástricas podían ser la fuente de autoinfección. Aunque Tyzzer acreditó a Clark en 1895, la primera publicación de una descripción del parásito llamado *Cryptosporidium* ni las dimensiones ni tampoco los esquemas presentados por este autor soportan las conjeturas de Tyzzer (1,15,19,56).

En 1912 se identificaron y nombraron nuevas especies de *Cryptosporidium* proporcionando detalles morfológicos muy específicos concluyendo que *Cryptosporidium parvum* no es considerado un parásito intracelular estricto por que puede salir de las células epiteliales del hospedero (15,21).

En 1929 se identifica *Cryptosporidium* spp. en el epitelio cecal de pollos por Tyzzer pero; además reportó la criptosporidiosis en las aves encontrando todas las fases de desarrollo del parásito en el epitelio cecal pero no hizo ninguna descripción morfológica. En 1961 Levine nombra a este *Cryptosporidium lizzeri* entañzando que el pollo es su hospedador. (15).

En 1955 Sivain, publica el primer reporte de criptosporidiosis mencionando la tasa de morbilidad y mortalidad, identificándose a una nueva especie *Cryptosporidium molaogridis* en aves de producción de 10 y 14 días de edad que presentaban diarreas y muerte súbita. En ese mismo año Sivain diferencia a *Cryptosporidium molaogridis* de *Cryptosporidium ballayi* basándose en la estructura del ooquiste y el sitio de desarrollo (15,19,33).



De 1968 a 1981 otras especies de *Cryptosporidium* se han encontrado en peces, reptiles, aves, y mamíferos que fueron clasificados dependiendo la especie que parasitan. En 1971 se encontró que el parásito estaba asociado con la diarrea viral bovina por Panciera y Col. (15,19,54).

En 1976 Nime y col. y Mesel y col. reportaron los primeros casos de criptosporidiosis humana, desde entonces y hasta 1982 se sabía de muy pocos casos. En ese mismo año fue cuando los médicos de Boston, Los Ángeles y otros estados dieron a conocer a los Centros de Control de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos de Norteamérica, que 21 hombres presentaban diarreas severas causadas por *Cryptosporidium* en asociación al SIDA (13,16,22,55).

En los médicos y veterinarios se ha incrementado el interés por *Cryptosporidium* para saber su epidemiología, diagnóstico, y tratamiento, realizando experimentos con animales de laboratorio para inducir la enfermedad, estudios en la biología de el organismo, el desarrollo *in vitro* y el uso de potentes desinfectantes y agentes quimioterapéuticos (15,19).

### III. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La clasificación taxonómica del género *Cryptosporidium* spp. se le ubica dentro del phylum *Apicomplexa* que es uno de los diversos géneros de protozoos referidos como coccidios; se desarrolla como todos ellos en el tracto gastrointestinal de los vertebrados durante todas sus fases del ciclo vital. Algunos de estos parásitos son capaces o requieren estar fuera del tracto gastrointestinal para realizar su desarrollo asexual estos son los individuos de los géneros *Besnoitia*, *Taxoplasma*, *Carlospora*, *Neospora*, *Sarcocystis*, y pueden formar quistes en tejido. Los géneros de coccidia que se pueden desarrollar solamente en el epitelio del tracto gastrointestinal o respiratorio sin formación de quistes en tejido son *Eimeria*, *Isospora* y *Cryptosporidium* (15,19,22). (ver cuadro 1).

### IV. HOSPEDADORES

Fueron establecidas 20 especies de *Cryptosporidium* según el hospedador en el que se aloja. Pero estudios recientes han demostrado que las especies de *Cryptosporidium amolavae*, *Cryptosporidium orofall*, *Cryptosporidium olinosauris*, *Cryptosporidium lampropottis*, y *Cryptosporidium vulpis* que se creían eran especies pertenecientes al género *Cryptosporidium* son realmente estadios del ciclo biológico del género *Sarcocystis* (15,19,34).

De igual forma se duda de la especie *Cryptosporidium nasorum* que es la única especie que se encuentra presente en peces, así como *Cryptosporidium surpantis* en los reptiles, *Cryptosporidium mataogridis* y *Cryptosporidium balloyi*, en las aves, y *Cryptosporidium muris*, *Cryptosporidium*

*parvum* en los mamíferos; *Cryptosporidium parvum* infecta todas las especies incluyendo al hombre (15,19,55).

La mayoría de las especies que albergan *Cryptosporidium* actúan como reservorios de la infección humana (34). (Ver Cuadro 2).

Gatos.- Una especie de *Cryptosporidium* aislada de una rata común se localiza en el estómago y no en el intestino del gato; el sitio y la morfología de los oocistos sugieren que se trata de *Cryptosporidium muris* sin embargo estos oocistos son un poco más largos; designando a estos como la cepa RN 66 de *Cryptosporidium muris* (15). (Ver cuadro 3).

C U A D R O 1

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO		<i>Cryptosporidium</i> spp.
CLASIFICACIÓN	NOMBRE	CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS
Phylum	Apicomplexa	Las formas invasivas poseen un complejo apical con anillos polares ropitias, micronemas conoides y microtubulos subpeliculares.
Clase	Esporozoida	De organismos maduros la locomoción es por flexión, desplazamiento, y ondulación.
Subclase	Coccidia	El ciclo biológico comprende merogonia, gametogonia y esporogonia.
Orden	Eucoccidiorida	La fase merogonia se presenta en hospederos vertebrados.
Suborden	Eimeriina	Tanto los gametos masculinos como los femeninos se desarrollan de manera independiente.
Familia	Cryptosporidiidae	El ciclo biológico se lleva a cabo en los diferentes estadios se desarrollan bajo la membrana celular del hospedero y alojan a cuatro esporozoitos los microgametos no poseen flagelo.

Fuente  
15,19,26,54.

ESPECIES DE *Cryptosporidium*

ESPECIES	AUTOR	HOSPEDADOR
<i>C. agni</i>	Barker and Carbonnel, 1974	Ovis aries (ovinos domésticos)
<i>C. arnavae</i>	Arca y de Peraza and Bastardo de San José, 1969	<i>Arnava arnava</i> (lagartija)
<i>C. anserinum</i>	Proctor and Kemp, 1974	<i>Anser anser</i> (Ganso doméstico)
* <i>C. baileyi</i>	Current et al. 1986	<i>Gallus gallus</i> (Aves domésticas)
<i>C. bovis</i>	Barker and Carbonell, 1974	<i>Bos taurus</i> (zoro)
* <i>C. orotatis</i>	Triffi, 1925	<i>Crotalus confluens</i> (Víbora de cascabel)
<i>C. Chenosauris</i>	Duszynski, 1969	<i>Chenosaura similis</i> (Lagartija)
<i>C. cuniculus</i>	Inman and Takeuchi, 1979	<i>Cryctolagus cuniculus</i> (Conejo doméstico).
<i>C. cunyi</i>	Oggas et. al., 1986	<i>Felis catts</i> (Gato doméstico)
<i>C. felis</i>	Isaka, 1979	<i>Felis catts</i> (Gato doméstico)
<i>C. gamhami</i>	Bird, 1981	<i>Homo sapiens</i> (Humano)
<i>C. lampropolitis</i>	Anderson et. al 1968	<i>Lampropolitis Calligaster</i> (Víbora reina)
* <i>C. meleagridis</i>	Slavn, 1955	<i>Meleagris gallopavo</i> (Pavos)
* <i>C. muris</i>	Tyzzer, 1910	<i>Mus musculus</i> (Ratón doméstico)
* <i>C. nasorum</i>	Hoover et. al. 1981	<i>Naso literatus</i> (Peces)
* <i>C. parvum</i>	Tyzzer, 1912	<i>Mus musculus</i> (Ratón doméstico)
<i>C. thesi</i>	Levine, 1980	<i>Macaca mulatta</i> (Mono thesus)
* <i>C. serpentis</i>	Levine, 1980	<i>Elaphe guttata</i> (Víbora maicera)
<i>C. tyzzari</i>	Levine, 1961	<i>Gallus gallus</i> (Pallo doméstico)
<i>C. vulpis</i>	Wetzel, 1938	<i>Vulpes vulpes</i> (Zoro Europeo común)
<i>C. writi</i>	Vetterling et. al., 1971	<i>Cavia porcellus</i> (Hámster)

\*Especies validas del género

Fuente 15,19,55

## ESPECIFICIDAD DE HOSPEDERO

Se han hecho estudios para determinar infección cruzada aislando oocistos de un animal de una especie determinada y se inocularon a otros animales de diferentes especies con lo cual se quería determinar que dicho parásito era capaz de infectar a otros animales. Estas investigaciones dieron a la luz importante información con respecto a las características morfológicas y epidemiológicas de este parásito (22,56) (Ver cuadro 3)

Los oocistos de un animal mamífero demuestran ligera especificidad de hospedero y pueden ser transmitidos de una especie mamífera a otra (becerro, cerdos, borregos, roedores, perros, y aparentemente de gatos, a humanos) Se considera una enfermedad zoonótica; en mamíferos es aparentemente causada por las especies de *Cryptosporidium parvum* y *Cryptosporidium muris* (14,15,31,35,45,56).

Los estudios de transmisión cruzada demuestran que *Cryptosporidium parvum* necesita un hospedero específico para desarrollarse, se estima que de los animales infectados de manera natural *Cryptosporidium parvum* es causante de diarreas en 65% de los casos (19,35).

La criptosporidiosis aviar probablemente exhibe una alta especificidad de especie siendo *Cryptosporidium baileyi* y *Cryptosporidium meleagridis* los que afectan a aves y la variedad de hospedadores es más limitada incluyendo solo a pollos, pavos, gansos etc. (14,35).

*Cryptosporidium baileyi* experimentalmente no desarrolla infección en intestino delgado de las aves. Algunas pollos que fueron inoculadas vía intratraqueal con oocistos de *Cryptosporidium baileyi* desarrollaron infección en la tráquea, laringe, sacos primarios y secundarios, bolsa de Fabricio y cloaca desarrollando signos clínicos de enfermedad respiratoria y a la necropsia presentaron lesiones macroscópicas de aerোসaculitis se localizo un pequeño número de oocistos en materia fecal; y los pollos inoculados vía oral no desarrollaron infección. La inoculación oral de *Cryptosporidium parvum* y *Cryptosporidium meleagridis* no producen infección en ratones neonatos o en cabras, al igual que en ratones atímicos o cerdos ni para 6 especies de roedores. Los oocistos presentes en pollos, codornices, y faisanes no son infectantes para mamíferos (1,14,30,32,39,41,49).

Hasta la fecha no se ha documentado la transmisión de mamíferos a aves o viceversa. Aunque cabe mencionar que existe un reporte de infección en humanos por *Cryptosporidium baileyi* la cual es una especie común solo en aves; de igual manera en peces y reptiles no existe una transmisión cruzada comprobada entre especies (14,15).

No obstante la transmisión no depende solo de la especificidad del parásito por una especie si no de que existe la vía de inoculación adecuada, estado inmunológico, nutricional y edad del hospedador así como, de la viabilidad de los oocistos (15,35,40).

En el caso del gato un estudio de transmisión cruzada, el nombre de *Cryptosporidium felis* fue propuesto para designar las especies de *Cryptosporidium* que infectan a los gatos. Sin embargo el

organismo descrito por su morfología y su desarrollo es igual al de *Cryptosporidium parvum* (14,15). [Ver cuadro 2].

*Cryptosporidium auryi* fue propuesta como una especie infectante para los gatos conteniendo 4 esporozoítos. Estos ooquistes fueron detectados en heces de 8 gatos. Intentos de infectar gatos domésticos con estos esporozoítos, no tuvieron éxito (15).

Se requieren estudios adicionales de morfología, desarrollo, y transmisión para que se pueda considerar válida esta especie (15,19).

## VI. LOCALIZACIÓN

*Cryptosporidium* spp. es un protozoo parásito intracelular o extracitoplasmático que crece y se reproduce dentro de células epiteliales del tracto digestivo y respiratorio principalmente, aunque la infección aparentemente puede ocurrir en casi cualquier órgano o tejido con superficie de epitelio capaz de replicarse en el organismo (15,19,30,44,52).

La localización es quizá un reflejo de la especie de *Cryptosporidium* (42). [Ver cuadro 3].

**Peces y Reptiles:** El estómago y el intestino son las zonas más comúnmente afectadas (15,19).

**Aves:** En esta especie la localización más común es a nivel del aparato respiratorio desde tráquea, bronquias, sacos aéreos, ductos de glándulas salivales, y fosas nasales, que aunque es menos frecuente localizarlo en el tracto gastrointestinal se ha llegado a ver en glándulas salivales proventricular, intestino delgado órganos asociados como cloaca, bolsa de Fabricio y recto (19,30,32,33).

En una infección natural señala que se ha localizado en vías urinarias observándose en ureteres, túbulos distales, túbulos colectores y riñones (19,21,30,32).

**Mamíferos:** En animales inmunocompetentes las infecciones son intestinales, mientras que en los inmunosuprimidos se presentan lesiones a todo lo largo del tracto gastrointestinal, desde el esófago hasta el recto incluyendo el páncreas, hígado, y vesícula biliar, así como el tracto respiratorio (15,21).

En cerdos inoculados experimentalmente por vía conjuntival les produjo conjuntivitis (31).

En humanos se localiza principalmente en tracto digestivo incluyendo esófago, estómago duodeno, yeyuno, íleon, apéndice colon, y recto. En el tracto respiratorio se localiza en laringe, tráquea, bronquias y en alvéolos pulmonares moderadamente (14,38).

En una criptosporidiosis esporádica se ha localizado también en ducto pancreático y mucosa de vesícula biliar, y vejiga [14,15,21].

En gatos con *Cryptosporidium* se ha observado entre las microvellosidades de las células epiteliales a todo lo largo del intestino delgado pero fueron más abundantes en el íleon. No se observaron organismos en las criptas del intestino delgado, estómago, ciego o colon [15].

## VII. MORFOLOGÍA

Ultraestructuralmente los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. tienen una apariencia similar a las otras coccidias, pero se presentan diferencias en las capas exteriores e interiores de la pared celular de los ooquistes. Y en las interfases del parásito y célula hospedera cada estadio tiene un pie u órgano de fijación que es único en este género; la función de dicho órgano no ha sido bien determinada pero parece que aumenta substancialmente el área de contacto entre el parásito y la célula hospedera para facilitar el intercambio de material [15,19].

Este parásito se presenta bajo diversas formas pero la más importante es la del ooquiste esporulado, los cuales son responsables de la infección. [51,22].

La descripción morfológica que se da es de *Cryptosporidium* spp. ya que las especies de *Cryptosporidium* pueden ser distinguidas principalmente por la medida de los ooquistes y localización en el hospedador [14]. (Ver cuadro 3)

Los ooquistes son pequeños su forma varía de esférica a ovaide y miden en promedio 6  $\mu\text{m}$ . de diámetro. Cuando están completamente esporulados contiene 4 esporozoítos uninucleados que miden 4.6 a 4.8  $\mu\text{m}$ . en su parte más ancha; un residuo compuesto de gran número de gránulos pequeños y una membrana ovaide o esférica unida a un glóbulo. La pared del ooquiste es lisa e incolora y tiene un promedio de 50 nm. de grosor; esta compuesta por 2 capas electrodensas separadas por un delgado espacio translucido que permite el paso de electrones. Algunas veces con microscopio de luz se observa una débil línea que se extiende desde un polo del ooquiste, cubriendo parcialmente la circunferencia de la pared, a esta línea se le denomina sutura y se disuelve durante el proceso de exquistación [19,46,54].

Generalmente los esporozoítos son de forma creciente en la parte anterior ligeramente puntiagudos, y en la parte posterior redondos, dentro del ooquiste se encuentran alineados paralelamente uno junto al otro y miden aproximadamente 4 x 1  $\mu\text{m}$ . Cada esporozoíto contiene un notable núcleo en el tercio posterior del cuerpo; esta fase es la que puede detectarse en las técnicas de diagnóstico [15,19,48].

Los trofozoítos son estructuras de forma oval o redondas están intracelularmente, y miden de 2.0 a 2.5  $\mu\text{m}$ . de diámetro. Estos son estadios transitorios de esporozoítos y merozoítos a merontes. Ellos y todas

los estadios que se desarrollan están en una vacuola parasitófora delimitada por una doble membrana de la célula hospedera. Se caracterizan por tener un gran núcleo que mide 1.0 a 1.3  $\mu\text{m}$ . de diámetro y un complejo opical ausente con la que se caracterizan los esporozoitos y merozoitos (15,19,54).

Como los núcleos se replican dentro, este pasa del estado de trofozoito unicelular al de meronte multinucleado o estadio esquizonte, hay dos tipos diferentes de esquizontes que se desarrollan secuencialmente y miden aproximadamente de 4 a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro (15,19,21,22).

Los esquizontes de tipo I se desarrollan como resultado de la primera reproducción asexual de los trofozoitos a merozoito, este migra e invade nuevas células del hospedador, produciendo de 6-8 merozoitos

Los cuales se establecen en una región caracterizada como la zona de fijación u organelo alimentador. El esquizonte tipo II se desarrolla a partir del merozoitos tipo I, ellos producen 4 merozoitos similares al esquizonte tipo I (15,19,56).

Los esquizontes tipo I y II parecen ser morfológicamente iguales tienen forma de media luna, y redondeadas sus extremos. Solo tienen un núcleo vascular, retículo endoplásmico y una gran variedad de gránulos no identificados. Hay un parecido con las coccidias por tener los organelos semejantes a un conoide, cadena polar, thopmas y micronemas, pero no tienen cuerpos retractiles, mitocondrias, microporos o gránulos de polisacáridos (15,19).

Los esquizontes de tipo III se originan a partir de los merozoitos de tipo II produciéndose a su vez 8 merozoitos de tipo III (15,19).

Los tres tipos de merozoitos parecen ser morfológicamente idénticos, tienen forma de huso con ambos extremos redondeados y miden aproximadamente 5 x 1  $\mu\text{m}$ , poseen un único núcleo, retículo endoplásmico y una gran variedad de gránulos no identificados (19).

Los microgamontes (estado macho) no son muy fáciles de observar, por la corta vida de estadio de macho, tienen forma de bala, aparentemente su vida media es muy corta, miden de 4 a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro y dentro de cada uno se desarrollan de 14 a 16 microgametos. Los microgametos inmaduros son similares a los esquizontes por tener un núcleo más pequeño y compacto, cuando maduran miden 0.95 x 0.4  $\mu\text{m}$ , y están cubiertos por una membrana doble, son flagelados (19).

Se observan ultraestructuras de un estadio temprano, el microgamonte contiene muchas partes condensadas; el núcleo es más grueso encontrándose solo en la periferia una masa citoplásmica granular no en la zona de fijación (2).

Los macrogamontes (estado hembra) son la única forma de todos los estadios que poseen un núcleo largo en posición central con un nucleolo prominente, cuerpos grasos, gránulos de amilopectina y cuerpos formadores de pared. Son esféricos y contienen un núcleo muy grande, están rodeados por una película doble, cuando son jóvenes casi son indistinguibles de los trofozoitos, ya maduros miden de 3.2 x 5  $\mu\text{m}$ . de diámetro. Por debajo del citoplasma de un macrogamonte hay un organelo alimentador, distinguidos por una variedad de gránulos. Gránulos de polisacáridos pueden dar un parecido a *Eimeria*

spp. apareciendo gránulos densos que forman una pared. Ambos tipos de acumulo granulan conforme el macrogamonte madura (2,10). (Ver figura I)

### C U A D R O 3

#### DIFERENCIACIÓN MORFOLÓGICA POR ESPECIES DE *Cryptosporidium*

ESPECIE	OOQUISTES	MEDIDA	AFINIDAD
Mamífero	<i>Cryptosporidium muris</i>	7.4 x 5.6µm.	Glándulas pépticas.
Mamífero	<i>Cryptosporidium parvum</i>	5.0 x 4.5µm.	Yeyuno, íleon, ciego, colon anterior
Aves	<i>Cryptosporidium meleagridis</i>	4.5 x 4.0 µm.	Tercio bajo del intestino delgado
Aves	<i>Cryptosporidium baileyi</i>	6.2 x 4.6 µm.	Cloaca, bolsa de Fabricia y traqueoesofagos

Fuentes 14,19,33,42,56

#### VIII. CICLO BIOLÓGICO

El ciclo de vida de *Cryptosporidium* spp. es parecido al de otras coccidias, uno de los eventos claves en la evolución de estos parásitos es cuando se inicia la esporulación de los ooquistes, llevándose a cabo en las heces de un hospedador infectado y pudiendo contaminar el medio ambiente, alimentos o agua; dichos ooquistes esporulados son la fase infectante (15,19,22,40). (Ver figura I)

#### EXQUISTACIÓN

Cuando son ingeridos o inhalados por los animales susceptibles; en el tracto respiratorio o gastrointestinal se liberan 4 esporozoítos que representan el estado de infección; la habilidad de los esporozoítos para desenquistarse espontáneamente explica porque *Cryptosporidium* puede encontrarse infectando zonas erráticas u ocurrir una autoinfección y la desenquistación puede ser por



estímulos muy diversos como: enzimas pancreáticas, sales biliares, condiciones reductoras o condiciones de humedad, en soluciones acuosas o por alteraciones en la permeabilidad de la pared; habiendo ruptura en la sutura de la misma (15,19,34,46).

Los esporozoítos al ser liberados parasitan el epitelio en el que se localizan, una vez libres penetran a la célula del hospedador gracias a sus movimientos de extensión-retracción que les permite deslizarse con rapidez (19,34,35).

Al atacar a la célula hospedadora en respuesta son rodeados por elongación de las microvelocidades y se forma un esquizonte uninuclear encerrado dentro de una vacuola parasitófora; encontrándose al parásito en forma intracelular debajo de la membrana celular en posición entrocitoplasmática conociendo esta fase como trofozoito y al madurar esquizonte (15,19,29,34,35).

#### ESQUIZOGONÍA O MULTIPLICACIÓN ASEXUAL

Esta fase resulta a partir de un proceso de división mitótica nuclear del esquizonte, se desarrollan asexualmente dos o hasta 3 tipos de merozoítos, dependiendo de la especie de *Cryptosporidium* que se trate, quedando de 6 a 8 núcleos en el esquizonte que al madurar cada núcleo se diferencia en un merozoito tipo I, cada merozoito al liberarse puede invadir nuevas células desarrollándose un esquizonte de tipo II (15,19,34,35).

#### MEROZOÍTOS TIPO II

Las divisiones subsecuentes del esquizonte tipo II dan origen a 4 merozoítos; y es a través de los merozoítos provenientes de los esquizontes tipo II que se inicia la multiplicación sexual o gametogonía (22,35).

#### MEROZOÍTOS TIPO III

Únicamente aplicable cuando el hospedador es una ave. Hay una nueva división nuclear del esquizonte para dar origen a 8 merozoítos de tipo III. Al madurar los esporozoítos se liberan dirigiéndose a nuevas células hospedadoras (32,35).

# CICLO BIOLÓGICO DE *Cryptosporidium* spp.

1. Esporozoa
  2. Trofozoito (célula epitelial hospedadora).
  3. Meronte tipo I.
  4. Merozofo.
  5. Meronte tipo II.
  6. Microgamonte.
  7. Macrogamonte.
  8. Oocisto inmaduro.
  9. Oocisto maduro.
- A. AUTOINFECCIÓN  
B. ELIMINACIÓN AL MEDIO AMBIENTE.  
C. INFECCIÓN EXÓGENA.

12-A

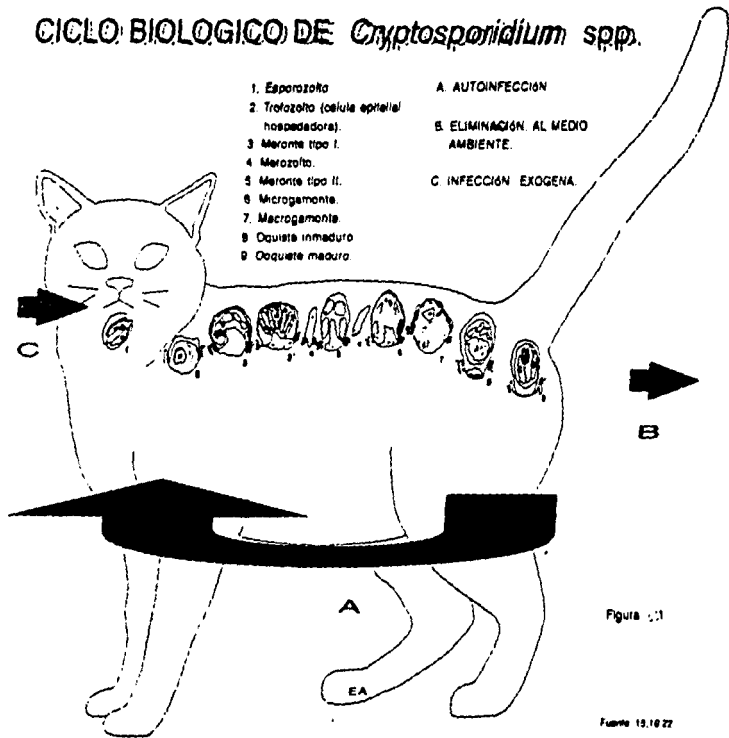


Figura 1.1

Fuente: 15,10 22

## GAMETOGONÍA O MULTIPLICACIÓN SEXUAL.

Los merozoítos de una división final (tipo II o tipo III según corresponda al hospedero); invaden nuevas células. En las células nuevas los merozoítos se diferencian cada uno en macrogamete, hembra y microgametes macho (1,22,24,35)

## FERTILIZACIÓN

Aun en desarrollo los microgametes se vuelven multinucleados y cerca de su madurez cada núcleo se diferencia en un microgamete equivalente al espermatozoides que van a fertilizar un macrogamete equivalente del óvulo; después de la fertilización el macrogamete se desarrolla un cigoto (15,24,34)

## ESPOROGONÍA

Después de la fertilización el cigoto sufre varias divisiones para dar origen a oocistos que esporulan *in situ* dando origen a :

Oocistos de pared gruesa.- en este tipo cuando la gametogonía se completa cada oocisto contiene 4 esporozoítos, los cuales salen del cuerpo excretados por heces o secreciones nasales, transmitiendo la infección a otros hospedadores (15,22,34,35).

Oocistos de pared delgada.- estos oocistos no salen del cuerpo y por lo tanto pueden repetir el ciclo de esquizogonía, gametogonía y esporogonía dando como resultado un proceso de autoinfección (15,37,50).

La autoinfección es inusual entre otros géneros de coccidias durante su desarrollo en el tracto gastrointestinal; conociéndose solamente a *Cryptosporidium* y *Cryospora* que esporulan *in situ* pueden autoinfectar. Esta es una etapa muy importante para los hospedadores inmunosuprimidos por ejemplo en pacientes con SIDA hay más divisiones del ciclo que en el hospedador normal, en estos pacientes la superficie entera del intestino delgado y grueso pueden estar infectados con todas las etapas de estos protozoos (15,19,24,34).

El tiempo entre la adquisición de la infección y la liberación de los oocistos está referida como período de prepatencia y tiene un rango de 2 a 7 días en los rumiantes, de 2-14 en perros, de 3-6 en cerdos y de 2-5 en camellos. Teniendo conocimiento de una ingestión accidental, el período de prepatencia en el humano es de 5 a 28 días con una media de 7.2. El período de patencia desde la ingestión de oocistos hasta la liberación de oocistos tiene un rango de 1-12 días en rumiantes, de 3-33 en perros, de 5-14 en cerdos; en 8 pacientes inmunocompetentes el período de patencia fue de 18-31 días, pero se encontraron trazas de oocistos los días 50, 75, y 89 en 3 pacientes que resultaron negativos en el diagnóstico de oocistos (15,19,22).

El tiempo de desarrollo de cada uno de los estadios en el hospedero no es conocido con certeza pero los esquizontes tipo I y II maduros, los gametos y los oocistos han sido observados *in vitro* a los 12,

24 48 y 72 horas respectivamente, después de una inoculación de cultivos celulares con esporozoítos (15).

Los merozoítos y esporozoítos de pared delgada los cuales desarrollan una forma cíclica son principalmente los responsables de mantener la infección (44,48).

La mayoría de los detalles de el ciclo de vida de *Cryptosporidium* han sido derivados de infecciones experimentales en roedores y otros animales; subsiguientemente todos los estados han sido demostrados en el humano (34,35).

Gatos.- Por microscopía electrónica describieron el ciclo de vida y las estructuras de todos los estadios endógenos que estaban presentes: esporozoítos liberados de oocistos en el intestino delgado fueron observados extendiéndose el concepto de autoinfección que sugirió Tyzzer en gatos (22), el periodo de prepatencia tiene un rango de 5-6 días y el periodo de patencia en neonatos se dio 5-12 días post-inoculación y en gatos adultos 7-10 días (15,19,22).

Un gato naturalmente infectado arrojó oocistos por un lapso de 5 meses para la relación entre esta infección persistente y la inmunodeficiencia no fue determinada (4,11,22).

#### IX. EPIDEMIOLOGÍA

La infección por *Cryptosporidium* spp. se ha descrito en países desarrollados así como en poblaciones rurales y urbanas por lo anterior se considera que el principal modo de transmisión de la enfermedad es por medio de la ingestión de oocistos, fecal/oral, esto ha sido demostrado experimentalmente. Las cabras y otros animales estabulados han sido reportados como fuentes de infección para el hombre. La alta prevalencia de la criptosporidiosis en becerros recién nacidos, el contacto estrecho con el hombre durante este periodo y la ordena, son factores de riesgo en la transmisión de la enfermedad hacia los granjeros, trabajadores, y veterinarios. Otras posibilidades de transmisión existen cuando hay contacto entre las personas y animales silvestres, animales de zoológico, y de compañía como roedores, cachorros de perros y gatos pueden también ser reservorios, y si a esto se suman los más de 40 diferentes tipos de mamíferos que se han reportado como susceptibles a la infección, podemos entonces concluir que la mayoría de casos en humanos muy probablemente son el resultado de una transmisión zoonótica (13,15,20,22,35).

También se ha propuesto que tanto el ratón silvestre como el de laboratorio se hallan infectados naturalmente con *Cryptosporidium* spp. pueden de esta manera constituir un reservorio potencial de infección para humanos y para otros mamíferos (25,35).

Otros autores sugieren que el ciclo becerro-ratón-becerro puede existir en la naturaleza. Si esto es cierto, se puede integrar otro elemento en la cadena de transmisión quedando becerro-ratón-humano (34).

La exposición a formas infectantes (ooquistes) en el ambiente es muy posible en lugares donde abundan animales que sean reservorios naturales; sin embargo el agua de bebida, la natación y el agua que corre al aire libre han sido consideradas las fuentes de infección de muchos casos de criptosporidiosis en Nuevo México (15,19,34). Se ha sugerido que el uso de agua de riego puede representar un riesgo para la salud debido a la alta prevalencia de ooquistes en ella cuando corre a través de campos y praderas cercanas a áreas de vida silvestre o de explotaciones de animales, si es que no se trató previamente a su uso. La contaminación de agua de manantiales, que se utiliza para beber, con materia fecal en países que son acometidos por varias penadas de lluvia, tal como Bangladesh, y otros países especialmente durante la época de lluvia podría explicar el incremento de los casos de la enfermedad en el hombre en tales fechas. Los brotes de criptosporidiosis en los países industrializados han sido asociados con la contaminación del agua potable con materia fecal. Se han reportado brotes de criptosporidiosis en San Antonio Texas, Carrollton Georgia, Sheffield y Oxfordshire Escocia (15,19). La importancia del agua como fuente de infección se ha enfatizado por los casos de enfermedad que se presentaron, en forma simultánea con giardiasis, en turistas que permanecieron en localidades donde la presencia de *Giardia* en el agua ha sido un problema desde mucho tiempo atrás (13,14,19,22,40).

La posibilidad de que se transmitan ooquistes por medio de aerosoles, que es difícil de documentar en el hombre y otros mamíferos, es reconocida como la forma de transmisión de criptosporidiosis respiratoria en las explotaciones avícolas. Se ha aislado *Cryptosporidium* del tracto respiratorio de al menos 14 humanos. Un caso de criptosporidiosis respiratoria clínica fue reportado en un veterinario, que usando ropa protectora y guantes, aspiró el aire que provenía del estomago, a través de una sonda, de un becerro infectado por *Cryptosporidium*. Un técnico de laboratorio resultó infectado y tuvo que ser hospitalizado debido a una criptosporidiosis severa menos de una semana después de recolectar ooquistes de heces de bovino, y aunque se sospecha de una transmisión por aerosoles no se puede descartar la transmisión por vía mano/boca (19,20).

La presencia de artrópodos en heces en áreas donde no existe una buena sanidad puede ser considerada como otra fuente de infección. En Perú se detectó, por medio de microscopia e inmunofluorescencia usando anticuerpos específicos monoclonales, residuos de materia de pared celular de ooquistes en moscas de 2 hogares diferentes (13,15,19).

Los fomites pueden actuar también como vehículos de transmisión de ooquistes. Esta posibilidad surgió después de estudiar un brote de criptosporidiosis en una guardería donde diversos grupos de niños que no tuvieron contacto personal unos con otros resultaron infectados. Durante este periodo los adultos miembros del equipo de cuidado resultaron clínicamente sintomáticos y serológicamente negativos al diagnóstico de *Cryptosporidium*, la comida era proporcionada por las familias de cada uno de los niños; el único eslabón probable entre los grupos de niños eran el salón de juegos y el baño que eran

utilizados por todos ellos. La transmisión por medio de comida contaminada parece probable, sin embargo no se pudo determinar claramente esta como la fuente de transmisión (15,19).

El contacto directo parece ser una fuente importante de transmisión. Estudios realizados en guarderías, personal médico, pacientes de hospitales, trabajadores domésticos y compañeros sexuales demostraron que la fuente común de infección en estos casos es principalmente por el contacto persona/persona. La propagación de la enfermedad es muy probable en el caso de que se bañe y limpie a una persona enferma y entren en contacto, después, las manos contaminadas con la boca y en el caso de tener contacto con ropa, juegos de cama y otros objetos sólidos contaminados. Algunas veces la diseminación de la enfermedad puede ocurrir por prácticas de sexo oral/anal (15,19,22).

El papel que juegan los portadores asintomáticos infectados por *Cryptosporidium* es desconocido (13,19,35).

Concluyendo: la prevalencia del protozoo *Cryptosporidium* es universal con predominio en países en vías de desarrollo como el nuestro. Los hábitos higiénico-dietéticos deficientes, el hacinamiento o bien los lugares muy fríos, la falta de consumo de calostro a tiempo o leche de baja calidad, un manejo inadecuado de las crías y la convivencia con otros animales son algunos de los factores que facilitan la adquisición del agente infeccioso (19,34,35).

- A) Transmisión de persona a persona.
- B) De animal a persona (zoonosis o antropozoonosis).
- C) De ambiente a persona

Gatos. - Se ha sugerido que se podría presentar una transmisión zoonótica de *Cryptosporidium* entre los gatos y el hombre, en dos casos de humanos inmunodeficientes y gatos que habitaban en la misma casa, los dos resultaron infectados por *Cryptosporidium* sin embargo no se pudo determinar si fueron los gatos la fuente de infección o si fueron los humanos los que la transmitieron a los gatos (4,11,22).

Por lo tanto es discutible que la especie de *Cryptosporidium* en gatos puede infectar gente y otros animales, ya que cuando el oocisto pasa por heces debe ser considerado como una fuente de infección para todos los otros animales y miembros de la familia, aunque no está documentada la receptibilidad del gato a infecciones de origen humano (4,11,22).

## X. PATOGENIA

Algunos autores pensaban que no era patógeno pero se sabe ahora por algunos aislamientos que son causantes de severas enfermedades. *Cryptosporidium* spp. posee la habilidad de infectar en sitios extraintestinales porque los oocistos pueden desensquistar sin la influencia de las enzimas pancreáticas o sales biliares como requieren otras coccidias (15).

Se desconoce como *Cryptosporidium* causa la enfermedad sin embargo hay una aparente asociación entre la presencia y el sitio específico en el cuerpo, los signos clínicos de enfermedad, y la especie, pero los hallazgos sobre los mecanismos patofisiológicos son muy pocos; algunos estudios realizados en becerros libres de patógenos infectados con *Cryptosporidium parvum* han demostrado que la mala absorción y la digestión inadecuada en el intestino delgado asociado a la mala absorción en intestino grueso son las alteraciones más importantes que pueden dar como resultado la diarrea intensa que presentan los becerros con criptosporidiosis. Generalmente se ha visto en el tracto gastrointestinal particularmente adherido a las células del epitelio superficial de las microvellosidades y a las criptas del intestino delgado; sin embargo también se ha encontrado en tracto respiratorio, y órganos asociados (19,40).

Siguiendo la ingestión de oocistos de *Cryptosporidium* spp. la infección se inicia cuando entra en contacto con sales biliares y proteasas creando movilidad en los esporozoitos dentro del lumen intestinal. Los esporozoitos primero interactúan con enterocitos, para atacar la mucosa epitelial del tracto que van a infectar llegando a la superficie de las vellosidades. Subsecuentemente ellos penetran a la membrana plasmática de células mucosales por un proceso de invaginación seguido de la multiplicación asexual y diferenciación sexual dentro de la vacuola parasitífera. *Cryptosporidium* se desarrolla intracelularmente pero permanece extraflopplasmático con una localización dentro de los enterocitos (24,26,29).

La localización del parásito en la superficie celular acarrea la pérdida de microvellosidades y al decremento de los niveles de disacaras microbilar, produciéndose una hipersecreción de fluido intestinal en la cual hay pérdida de agua y electrolitos; el mecanismo por el cual sucede esto exactamente no es conocido (19,26,34).

Lo anterior puede acarrear trastornos en la absorción de nutrientes y, en la digestión redunda en un sobre desarrollo de la microflora intestinal normal con ello se presentan cambios inherentes en la presión osmótica de las células y la salida de líquidos se ve incrementada hacia la luz intestinal. La reacción de la mucosa a la infección es importante en la patogénesis, el daño por inflamación severa puede ser inducida por una reacción de hipersensibilidad al parásito o a sus metabolitos. Por lo tanto la mortalidad es debida a la pérdida de líquidos, reduciéndose el aprovechamiento de nutrientes por el daño causado en la mucosa intestinal. (34,35,38).

La atrofia de las vellosidades se ha notada en los hospedadores con infecciones prolongadas causando la pérdida de las células epiteliales e infiltración de la lámina propia subyacente con células inflamatorias (26,34)

En estudios ultraestructurales se ha demostrado que la infección de células epiteliales puede afectar a las mitocondrias y la presencia de mielina son indicativas de actividad fagocitosomal, llegándose algunas veces a observar apoptosis (34).

Basándose en estudios de los niveles de hidrógeno pulmonar en becerros experimentalmente infectados con  $1 \times 10^8$  oocistos de *Cryptosporidium* spp. sugieren que la diarrea fue debida a la acumulación de nutrientes hipertónicos no absorbidos en el intestino grueso (19).

En general la criptosporidiosis aviar redunda en depresión en el crecimiento de los animales, se frena o se vea disminuido; el mecanismo por el cual ocurre este efecto aun no se conoce, pero una posibilidad podría ser la deficiencia en la asimilación de los nutrientes debido al daño en la función (25,35).

En pacientes inmunodeficientes con criptosporidiosis, se ha descrito diarrea semejante a la observada en cólera, ello es indicativo de hipersecreción intestinal mediada por una toxina (22,34,35).

La mala absorción también se reporta en humanos con SIDA y criptosporidiosis, en estos pacientes se ha observado secreción importante de líquido a nivel de duodeno y yeyuno, así como reabsorción normal de agua y sodio en íleon y colon (35).

Los anteriores mecanismos son aun especulaciones, y se hace necesario realizar más estudios para determinar como el parásito y sus metabolitos o toxinas pueden alterar la función normal del tracto gastrointestinal, o el efecto por el parásito (35,57).

Las diferencias en la patogenicidad dependen del número de pasajes en diferentes hospedadores (26).

En los gatos la posible causa de diarrea a sido cuestionada por la infección en gatos adultos sanos o gatritos sanos de 6 semanas de edad resultando una infección asintomática; la diarrea puede ser autolimitante o ausente en gatos inmunocompetentes con infección natural, en otros casos puede encontrarse en el intestino delgado un redondeo y fusión de las vellosidades disminuyendo la superficie de absorción del intestino. Este proceso patológico no se sabe si es por los metabolitos del parásito o a la poca respuesta inmune (22).

## XI. INMUNIDAD

En general los mamíferos jóvenes e inmunológicamente inmaduros presentan una prevalencia más alta de infección y experimentalmente una infección más severa que los adultos que parecen asintomáticos y libres de parásitos (12,19).

Los mecanismos de defensa que se montan contra *Cryptosporidium* spp. aun no se definen completamente sin embargo se han realizado estudios en diferentes cepas de ratones tanto inmunocompetentes como inmunodeficientes para evaluar respuesta inmune sobre todo humoral, otros modelos animales usados son ratas inmunosuprimidas, becerros e incluso caballos (35,39,44,47).

Dentro de los mecanismos reconocidos se encuentra la participación de los linfocitos T (LT). Se ha observado en la etapa temprana de la infección un incremento de estas células en intestino (35,41).



Recientes estudios sugieren que las células T son requeridas durante la destrucción o pérdida de células epiteliales durante el curso de una infección por *Cryptosporidium* (26).

Los mecanismos efectores L1-dependientes contra *Cryptosporidium* parecen involucrar al interferón gamma (INF- $\gamma$ ) y se sugiere que juega un papel crítico en los estadios tempranos del desarrollo de la respuesta inmune produciendo un efecto tóxico al parásito, activa macrófagos y se ha observado que participa en la inhibición de la invasividad de las células hospedadoras, además incrementa la expresión de antígenos del complejo principal de histocompatibilidad y por tanto hay una amplificación de la inducción de la respuesta inmune (35).

Sin embargo se cree que las células T no son las únicas productoras de interferón (INF  $\gamma$ ) y que pueda haber otra fuente, como el caso de las células NK, lo que se manifiesta como resistencia a la infección mostrada por ratones adultos deficientes de células T y B (26,35,47)

En trabajos experimentales realizados con animales, se reporta que el incremento en los niveles de IgA actúan inhibiendo la penetración de los esporozoítos a las células hospedadoras. Es posible que en la primera etapa de la infección se estimule la producción de IgA mucosal via Placas de Peyer; sin embargo la presencia de esta clase de anticuerpos no es decisiva para limitar la infección, pues se ha observado resistencia en ratones adultos deficientes de linfocitos B (35).

Es posible que al inicio de la infección los mecanismos celulares sean capaces de bloquear la invasión local, sin embargo cuando ésta sale de control por una replicación masiva del protozoo, la permeabilidad de la mucosa se aumenta, tal vez por la reacción inflamatoria, es entonces cuando se observa la presencia de antígenos en sangre. En un estudio realizado en becerros, se detectaron antígenos circulantes desde el día 2 post-inoculación y se mantuvieron constantes hasta el día 22 post-inoculación, alcanzando un pico máximo entre los días 7-10 post-inoculación; detectándose los antígenos en un ensayo de ELISA (19,23,35,45).

Debido a las características del ciclo biológico de *Cryptosporidium*, los oocistos de pared blanda se rompen dentro del intestino del hospedero y con ello se produce una autofeccción, lo que se corrobora con los hallazgos de IgA, IgM e IgG en suero por varias semanas sin que el hospedero reciba estimulación antigénica (35,38).

Se ha observado que los títulos de coproanticuerpos de clase IgG se elevan durante el periodo de eliminación máxima de oocistos. En un estudio realizado en becerros se concluyó que existe relación entre la edad del individuo y los títulos de IgG presentes, debido muy probablemente a la maduración del sistema inmune del hospedero con el incremento de la edad (35,38).

La información sobre la función de la respuesta inmune humana a la criptosporidiosis es escasa. Se ha evidenciado que la respuesta celular y humoral son importantes pero se desconoce la importancia del papel de los mediadores inmunológicos en relación con *Cryptosporidium*. Se han identificado anticuerpos IgM, IgG, IgA en diferentes niveles según la etapa de la enfermedad, sus niveles varían dependiendo de las características del hospedador y del parásito (15,19).

En estudios recientes en humanos se han detectado anticuerpos tanto en pacientes con criptosporidiosis sintomática como asintomática e incluso la magnitud de los títulos es muy similar a los encontrados en personas sanas, lo que indica que la naturaleza de estos anticuerpos no es completamente protectora; los anticuerpos producidos principalmente son de clase IgM e IgG, aunque se estudia el papel de la IgA en la protección contra la infección (35).

Otra cuestión que es importante considerar, es que en sus diferentes estadios, el parásito se encuentra rodeado por una doble membrana cuyo origen es la membrana celular del hospedero, formando una vesícula parasitófora, evadiendo así la respuesta inmune. Es por ello que actualmente se centra la atención en la caracterización antigénica de merozoitos y esporozoítos, porque no solo representan los estadios autoinfectantes sino también los únicos que se encuentran libres al menos por breve tiempo en el lumen intestinal (18,22,35,45).

Es necesario seguir realizando estudios sobre los mecanismos de defensa, para con ello avanzar sobre una terapia efectiva contra *Cryptosporidium* spp. tanto para humanos como a nivel veterinario (17,19,35). Una prueba inmunológica para detectar los antígenos de *Cryptosporidium* circulantes puede ser de gran ayuda en la siguiente manera:

- 1.- Puede ser usado para detectar infecciones prodrómicas o subclínicas en pacientes inmunosuprimidos.
- 2.- Como un diagnóstico confirmativo.
- 3.- O como un medio para obtener una rápida respuesta de cualquier paciente para dar un tratamiento específico anti-*Cryptosporidium* (12,23).

Actualmente el conocimiento de la respuesta inmune del hospedador a *Cryptosporidium* ha sido expandida significativamente por la identificación de numerosos esporozoítos antigénicos y la generación de anticuerpos antiepitopes en estos antígenos. Anticuerpos monoclonales de muchos de estos antígenos han sido mostrados para confirmar parcial pero significativamente la protección en animales infectados experimentalmente y en cultivos celulares; datos que son importantes en los esfuerzos para desarrollar estrategias, desarrollo de vacunas y para inmunoterapia. Los anticuerpos contenidos en calostro hiperinmune bovino reconocen numerosos antígenos de *Cryptosporidium* y exhiben una actividad anti-criptosporidial (12,23,45).

## XII. CUADRO CLÍNICO

En la década pasada se reconocía al género *Cryptosporidium* como causante de diarreas de evolución prolongada actualmente se sabe que la intensidad de la infección depende de la especie a la que esta infectando, edad, estado inmunológico y nutricional del hospedador, las manifestaciones clínicas de una criptosporidiosis pueden variar de una infección subclínica o clínica, generalmente los

animales jóvenes son más susceptibles de infectarse presentando la mayoría de los signos clínicos; los reportes en humanos inmunológicamente sanos son en niños de menos de 2 años, sin embargo de todos los animales que adquieren esta enfermedad, solo los humanos, cerdos, cerditos de guinea adultos inmunológicamente competentes, son susceptibles a la reinfección (8,15,19,26,34).

Los individuos inmunológicamente competentes infectados por *Cryptosporidium* experimentan una enfermedad media que dura varios días en los casos usuales hasta un mes siendo transitorios y temporales los signos clínicos recobrándose espontáneamente sin efectos adversos posteriores (8,24,34,40,59).

Mientras que los individuos inmunocomprometidos con casos de criptosporidiosis tienen un curso crónico que dura meses y eventualmente años pudiéndose convertir en enfermos crónicos y fatales; sin embargo la muerte es un resultado de condiciones asociadas tales como desnutrición o interacciones infecciosas con otros patógenos (8,9,34,40,52)

La criptosporidiosis respiratoria es la más común y la que posiblemente causa más daños en las aves dejando una gran mortalidad; los sitios de infección son en su mayoría el tracto respiratorio y parte del intestino en este caso *Cryptosporidium baileyi* ha sido asociado con infecciones respiratorias severas. (2,10).

Los signos clínicos más característicos son diarrea generalmente muy intensa acuosa de color amarillenta con moco y algunas veces sangre, movimientos peristálticos aumentados seguidos de una constipación, anorexia, fiebre, vómito, deshidratación, pérdida de peso, letargo, disminución en el crecimiento, rigidez muscular y depresión en general, e inhabilidad en la infección terminal (15,19,20,40,44).

La eliminación de los oocistos en heces se correlaciona con la intensidad de la infección y suele disminuir progresivamente hasta la desaparición de los mismos, alrededor de la tercera semana de infección esto nos indica que los animales llegan a desarrollar resistencia (15,19,35).

En las aves el desarrollo del protozoo en intestino no siempre se acompaña de enfermedad demostrable y los parásitos se han encontrado asociados con diarreas acuosas cuando la infección es aguda. Los signos clínicos de una infección respiratoria incluyen rinitis, depresión respiratoria, senos infraorbitales distendidos secreción ocular, párpados enrojecidos e inflamados, gorgorosmos, tos, adormecimiento, descarga pulmonar lateral distendida hacia los senos infraorbitarios (19,30,35).

En humanos el rango de edad para la infección ha sido reportado desde 3 días post-nacimiento (en parto vaginal de madres con criptosporidiosis) hasta los 95 años siendo más susceptibles los menores de 5 años (35).

Recientemente se publicó un estudio sobre el hallazgo del parásito en individuos con diarrea y la relación entre el grado de desarrollo del país, siendo 2.2 - 2.5% del total de individuos con diarrea en países industrializados y de 7.2 - 8.5% para individuos con diarreas en países en vías de desarrollo (19,59).

Se estima que de los pacientes que cursan con episodios de diarrea asociada a SIDA, de aproximadamente el 10% el agente causal es *Cryptosporidium* [25,35].

Individuos inmunocompetentes, es generalmente de localización intestinal, autolimitante, de características semejantes a cólera y los síntomas más comúnmente reportados son diarrea acuosa (92%), dolor abdominal (45%), náuseas y vómito (51%), fiebre mayor de 39°C (63%), y dolor de cabeza. La infección dura de pocos días a un mes como máximo [19,35].

Individuos inmunosuprimidos, sometidos a quimioterapia de cáncer o bien que cursen por algún estado de mal nutrición importante, al retirar la causa de inmunosupresión la infección cede y se elimina el parásito, observándose los mismos síntomas [7,13,15,19].

En México se hacen consideraciones sobre la posibilidad de deficiencia inmunológica que existe en el lactante con desnutrición proteica-calórica acentuada, pudiendo actuar como paciente inmunosuprimido, y de ésta manera *Cryptosporidium* spp. pudiera ser causante de desnutrición proteico-calórica (DEP) en estos pacientes [35].

Individuos inmunodeficientes, ya sea primarios, o bien portadores del virus de SIDA (o cualquier estado de inmunodeficiencia secundaria), la infección es persistente, los puede llevar a estados de deshidratación con una pérdida importante de peso y en algún momento sobreviene la muerte. [19,34,35,47].

El síntoma más característico también es diarrea profusa y acuosa, conteniendo una cantidad elevada de moco y agua, muy raramente contiene sangre o leucocitos y la pérdida de líquidos por esta causa es muy grande: de 3-6 litros de heces acuosas se eliminan por día y se ha reportado hasta 17 litros y 71 evacuaciones por día [14,15,19,35].

Otros signos menos comunes incluyen dolor abdominal, náusea, vómito a fiebre. Ocasionalmente se pueden presentar síntomas inespecíficos, como malicia, dolor de cabeza, debilidad o anorexia. La duración y la intensidad de los síntomas varía con el estado inmunológico del individuo; se ha observado correlación entre la severidad de los síntomas y el grado de eliminación de los oocistos en heces [14,15,19,34,35].

Usualmente los pacientes con SIDA experimentan una infección prolongada, aunque también se han observado pacientes asintomáticos o con pocos síntomas infectados con *Cryptosporidium* spp. [6,12,14,19,29,35].

Existe variación en la severidad de la enfermedad de paciente a paciente y se sabe que el grado de eliminación de oocistos en heces, se correlaciona con el nivel de colonización del epitelio intestinal sin embargo la infección no está confinada al tracto gastrointestinal únicamente. Se puede presentar como colecistitis aguda, infección de las vías biliares y como afección respiratoria, los síntomas de esta son disnea, depresión, dificultad al respirar, congestión, hipersecreción de moco, congestión bronquitis e incluso neumonitis pudiéndose confundir con un cuadro de neumonía causada por cualquier otro

agente. Hay presencia de coágulos en esputo, aspirado traqueal y fluido broncoalveolar. Los casos más severos ocurren en individuos inmunodeficientes (7,15,19,35,39).

## 12.1 RUMIANTES

En los sistemas tanto de cría y explotación de ganado, de los países industrializados como en las regiones menos desarrolladas del mundo. Las enfermedades neonatales tienen un gran impacto, particularmente las infecciones entéricas. La criptosporidiosis es una de tantas enfermedades que deben ser controladas (15,22).

### BOVINOS

El primer reporte de infección por *Cryptosporidium* en bovinos apareció en 1971 cuando se detectaron estadios endógenos de *Cryptosporidium* en un examen histológico de yeyuno en una becerro de 8 meses de edad que padecía una diarrea crónica. La criptosporidiosis bovina puede tener una edad relativa de aparición y esta es predominantemente diagnosticada en becerros de 5-15 días de edad a la par con otros microorganismos como rotavirus, coronavirus, *Clostridium parvum* y *Escherichia coli*, observándose un mayor índice de mortalidad cuando los becerros con criptosporidiosis se exponen a temperaturas bajas extremas. Aparentemente la mala absorción intestinal y la pérdida de líquido debida a la infección no permiten que los nutrientes de las dietas especialmente formuladas con elementos energéticos adicionales para resistir el frío intenso sean aprovechados adecuadamente. (15,17,35,40,54)

Solamente 2 especies de *Cryptosporidium* han sido identificadas en bovinos: *Cryptosporidium parvum*, que es un agente muy común, en estudios realizados en el Reino Unido demostraron que éste es el segundo microorganismo causante de diarreas en becerros siendo los rotavirus los mayores agentes patógenos en este renglón. Sin embargo *Cryptosporidium muris* se ha localizado en abomaso; encontrándose en ganado de Norteamérica y en gacelas monteses en la República Federal Alemana; en especial este parásito produce lesiones muy características como hiperplasia epitelial con hipertrofia mucosal pero sin inflamación. (1,15,35).

En el aspecto de inmunización, el calostro no parece proveer protección muy efectiva contra el establecimiento de la enfermedad y no existe ningún fármaco que sea efectivo totalmente; la práctica de medidas sanitarias para minimizar la contaminación fecal puede resultar benéfica (15,17,19,40).

Es difícil estimar el impacto económico que produce como agente único, especialmente cuando otros organismos causan efectos similares (15,19).

## BORREGOS

La criptosporidiosis ovina fue diagnosticada por primera vez en 1974 en Austria, en corderos diarreicos de 1-3 semanas de edad en una granja productora de queso y otros derivados lácteos de ovinos (15,40).

Al igual que en otros animales se presenta preferentemente en neonatos, probablemente *Cryptosporidium parvum* sea el responsable ya que la presencia de un gran número de estadios endógenos fue confirmada por microscopía electrónica (15).

La infección es esporádica pero llega a causar una mortalidad elevada, sobre todo cuando las condiciones de alojamiento de los animales favorece el establecimiento de la infección (19).

Estudios experimentales demostraron que corderos más viejos fueron susceptibles a la infección a los 30 días de edad, los corderos fueron infectados pero solo tuvieron una leve respuesta clínica y en corderos de más de 7 meses fueron infectados pero la información clínica no fue suministrada (19).

En corderos muy pequeños puede haber sinergia entre, *Salmonella typhimurium*, o rotavirus y las infecciones pueden ser muy severas (35,54).

Es difícil establecer el impacto económico para los productores de estos animales, sin embargo se ha reportado pérdidas importantes en algunos países como Austria, Bélgica y Escocia (19).

## CABRAS

La enfermedad fue reportada por primera vez en Tasmania-Australia en 1981, en una cabra de Angora de 2 semanas de edad que murió después de un corto episodio de diarrea acuosa. No fue reconocido ningún agente patógeno bacteriano o viral en el contenido intestinal, pero fue encontrado *Cryptosporidium* en exámenes histopatológicos del yeyuno y del ileon. La pobre higiene puede tener un papel importante en el brote (15,40).

No existe mucha información disponible sobre la prevalencia del microorganismo en este animal, y definitivamente es necesario que se realicen más estudios con la finalidad de determinar su papel como patógeno en cabras y ovinos (15,19,35).

## 12.2 MONOGASTRICOS

### CERDOS

Las explicaciones iniciales de la infección natural en puercos fue reportada en Estados Unidos de Norteamérica durante 1977 en un puerco con enteritis necrótica en Dakota del Sur y en 3 puercos jóvenes raza Duroc en Kansas. De todos los estudios realizados a la fecha, una sola especie de

*Cryptosporidium* es capaz de infectar puercas; se ha encontrado que puercas al parto aisladas, son infectantes para los lechones. Estudios de transmisión cruzada han demostrado que *Cryptosporidium* no es un hospedero común del cerdo (15,40).

Se determinó que la edad tiene un efecto marcado en la severidad de la infección por un experimento realizado a este respecto se observó que al infectar lechones estos se veían mayormente afectados a la edad de 1-3 días mientras que si se infectaban a los 7 días de edad el efecto era moderado; en otro grupo de animales infectados a los 15 días de edad no se observaron signos clínicos de la enfermedad (19,35,42).

En lechones de 4 semanas de edad libres de patógenos específicos infectados durante el destete no presentaron diarrea sino post-destete tuvieron diarrea; los lechones fueron infectados con oocistos de bovinos, borregos y ratón así como de otras cerdas (15,19).

En un trabajo experimental el epitelio traqueal y conjuntival de los cerdos fueron infectados con oocistos aislados de bovinos y humano respectivamente. Esta infección sustenta la hipótesis que *Cryptosporidium* spp. posee la habilidad de infectar en sitios extraintestinales (9,35).

#### EQUINOS

La información de criptosporidiosis en caballos es reducida. El primer reporte fue en un potrillo Árabe inmunodeficiente en Estados Unidos de Norteamérica durante 1978 (19).

Dos potrillos pando en Australia y 5 de 6 en Colorado presentaron síndrome de inmunodeficiencia combinada con una diarrea severa; se cree que sus muertes fueron causadas por *Cryptosporidium parvum*. Pero un reporte reciente indica que la infección era debida a *Cryptosporidium muris* (15,19).

La falta de inmunidad es sin embargo la causa de la severidad y distribución de la infección (19).

#### PERROS

La criptosporidiosis intestinal en perros domésticos fue por primera vez reportada en 1983. De 200 perros examinados en Alemania, y de 57 en Finlandia no se logró detectar ningún oocisto de *Cryptosporidium* spp. en heces; sin embargo 4 cachorros con infección natural fueron identificados en Norte América teniendo un rango de edad de 1 semana a 3 meses todos presentaron la enfermedad clínicamente muriendo, e identificando *Cryptosporidium* spp. en el intestino delgado. La mayoría de los casos que se reportaron con criptosporidiosis son en animales jóvenes o inmunosuprimidos (15,19,22).

Este reporte y otros subsecuentes involucran a *Cryptosporidium* spp. morfológicamente e igual a *Cryptosporidium parvum*, sin embargo *Cryptosporidium parvum* que se aisló de becerros y humanos fue infectante para los perros; en la mayoría de los casos que se reporta *Cryptosporidium* son en animales jóvenes o inmunosuprimidos (19,22).

Dos cachorros de 1 y 2 meses de edad fueron inoculados con ooquistes de *Cryptosporidium muris*, presentándose pocas ooquistes en heces, pero la evidencia de infección no fue claramente establecida. Sin embargo se han encontrado infecciones naturales en animales con una edad entre una semana a tres meses, los parásitos se observaron accidentalmente a la necropsia en intestino delgado, los signos clínicos mostrados son diarrea y disnea (19,22,35).

En trabajos que se realizaron con pruebas serológicas para la búsqueda de anticuerpos específicos, han revelado la presencia de los mismos en una proporción importante de los animales muestreados, lo que significa un contacto previo con el parásito (15,40).

La prevalencia de criptosporidiosis en perros es desconocida (19).

### 12.3 AVES

En esta especie *Cryptosporidium* fue identificado por primera vez en 1929, dándose hasta 1955 el primer reporte de criptosporidiosis en aves, reconociéndose como una principal enfermedad en la cría comercial de pollos (30,15).

Hasta el momento se ha identificado al parásito infectando diferentes especies de aves en, Asia, Austria, Europa, y América del Norte. Encontrándose en pollo, gallina, pavos, patos, gansos, y algunas aves silvestres o exóticas en zoológicos; aunque se sabe poco acerca de la infección por *Cryptosporidium* en este tipo de aves se ha reportado en pericos, guacamayas, pavo reales, faisanes codornices, euphonias, pinzones e incluso canarios (15, 19,30,31,33).

Current reporta la existencia de 2 especies de parásitos que infectan aves: *Cryptosporidium meleagridis* y *Cryptosporidium baileyi*, se piensa que cada uno tiene preferencia particular hacia el sitio de colonización así que *Cryptosporidium meleagridis* se desarrolla de manera predominante en intestino delgado, y se le ve muy poco en aparato respiratorio o en intestino grueso. Sin embargo la enfermedad más común y la que posiblemente causa más daño es la de tipo respiratorio siendo responsable de esta infección *Cryptosporidium baileyi* el cual parece estar confinado al tracto respiratorio y a la porción distal del tracto gastrointestinal, incluyendo ciego, colon dista, cloaca y bolsa de Fabricio (14,19, 30,31,35). [Ver cuadro 3]

En una investigación la falta al experimentar con 7 especies de mamíferos con ooquistes aislados de pollos sugieren que *Cryptosporidium* spp. de las especies de aves no son una amenaza zoonótica para los humanos (15,22,30).

### 12.4 HUMANOS

La infección por *Cryptosporidium* spp en humanos, se ha descrito en todo el mundo, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo y en poblaciones urbanas y rurales (15,19,35,52).



El primer caso de infección por *Cryptosporidium* se reportó en 1976 en un niño de tres años de edad aparentemente sano que vivía en una comunidad rural de Tennessee. El niño presentaba vómito, severa diarrea acuosa, postración y restriado. Pero se recuperó dos semanas después del diagnóstico (15,19).

En 1982 se publicó el primer brote epidémico de *Cryptosporidium* en personas inmunológicamente sanas: las primeras estadísticas que provenían de los Centros de Control de Enfermedades (CDC) en Estados Unidos de Norteamérica de casos relacionados con *Cryptosporidium* y SIDA. El reporte más reciente informa que 14 de 21 pacientes con criptosporidiosis diarrea y SIDA, han muerto prefigurando un problema a gran escala en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia viral humana. Este reconocimiento del género como un patógeno entérico humano nuevo y potencialmente peligroso, estimula el incremento de la actividad de las comunidades médicas y científica, particularmente en refinar técnicas de diagnóstico, definir la epidemiología de la enfermedad y encontrar una cura para la criptosporidiosis (35).

En México existen muy pocos reportes al respecto, uno de ellos refiere los resultados de un estudio realizado en San Luis Potosí a niños asintomáticos, en donde se encontró que el 40% de estos pacientes estaban infectados por *Cryptosporidium*, lo que representa la cifra más elevada reportada en el país (35).

Para el año de 1992 en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, se realizó un trabajo con la finalidad de investigar la frecuencia de la criptosporidiosis asintomática en pacientes desnutridos y no desnutridos provenientes de una población rural del estado de Oaxaca, en donde se encontró una frecuencia de 9.8% en pacientes desnutridos y de 4.9% en niños no desnutridos, observándose como factor de riesgo el consumo de agua de pozo (35).

En el Hospital Infantil de México "Federico Gómez" (HIM) se realizó una revisión de los años 1988-1991, con los siguientes hallazgos: En total de niños infectados ascendió a 80 de los cuales el rango de edad fue de 28 días a 17 años, donde el 65% correspondió a pacientes menores de un año, 19.2% a lactantes mayores, 6.9% a preescolares, 4.2% a escolares y 4.2% a adolescentes (15,35).

## 12.5 GATOS

La infección por *Cryptosporidium* spp. en los gatos fue por primera vez reportada en 1979, cuando se detectaron oocistos en heces de 5 de 13 gatos examinados (15).

Posteriormente en 1983 se reportaron 2 casos clínicos (Poonacha y Pippin 1983, Koch y cols. 1983) y recientemente en la Escuela Veterinaria de Liverpool se detectaron 3 casos de criptosporidiosis felina siendo la única que hasta la fecha se ha reportado (4).

La criptosporidiosis en gatos muchas veces es secundaria a agentes inmunosupresivos tales como y leucemia viral felina e infecciones concurrentes con otros patógenos intestinales (11,22).

La prevalencia de criptosporidiosis en esta especie es desconocida. Pero se han detectado anticuerpos anti-*Cryptosporidium* en 20 de 23 gatos examinados en Escocia y República Federal Alemana se detectaron oocistos en heces de 4 de 300 gatos, y en Japón en 20 de 50 gatos adolescentes. No se encontraron oocistos en heces de gatos de Francia. La criptosporidiosis intestinal ha sido reportada en gatos domésticos de Estados Unidos de América, Checoslovaquia, e Inglaterra (4,15,19,22).

La criptosporidiosis intestinal en gatos positivos o negativos a leucemia viral felina también ha sido asociada con anorexia crónica, pérdida de peso, y diarrea persistente. La diarrea puede ser directa del intestino delgado caracterizada por un elevado volumen, tenesmo, sangre fresca, inflamación y malestar en general (22).

#### CASOS DETECTADOS EN GATOS

Varios reportes han asociado la infección intestinal de *Cryptosporidium* con las manifestaciones clínicas de la enfermedad y sin embargo aquí reportaremos casos que no presentan manifestaciones.

##### CASO 1

La infección fue diagnosticada en un gato doméstico de pelo largo, que presentaba anorexia, pérdida de peso, y diarrea con una duración de 2 meses, que había sido negativo en el diagnóstico de leucemia viral felina. Se observó a la necropsia el engrosamiento de las paredes intestinales del ciego y los linfonodos mesentéricos se encontraron aumentados de tamaño. Las lesiones histológicas incluyen fusión de vellosidades, hinchamiento celular e hiperplasia de las criptas, con distensiones ocasionales, presencia de detritus necrótico y una enteritis neutrofílica linfocítica ligera; encontrándose numerosas estadios de *Cryptosporidium* se observaron entre el lumen intestinal y las células intestinales de las criptas (15).

##### CASO 2

Otro caso de criptosporidiosis se reportó en un gato de 4 años de edad de pelo largo que presentaba una diarrea intermitente desde hacía 1 año; a la fecha del examen inicial, el gato resultó positivo a la prueba de leucemia viral felina por ELISA. Estaba infectado por *Toxocara* y *Coronavirus intestinal* y había evidencia histológica de una colitis. Se le realizó un cultivo aeróbico fecal para detectar bacterias patógenas intestinales, el cual salió negativo. El gato fue tratado contra la infección por *Toxocara* con Pamoato de pirantel y un antiinflamatorio; la diarrea decreció en la frecuencia de presentación y en los episodios periódicos a causa de la prednisolona. A los 18 meses después del

examen inicial el gato fue reexaminado por que presentaba los signos de anorexia, deshidratación y pérdida de peso, se encontraron oocistos de *Isospora* en las heces del gato. 5 meses después se presenta una discrasia sanguínea y una agamopatia policlonal y el gato fue sacrificado. No se identificó una infección por *Cryptosporidium* a la necropsia , pero histológicamente se observaron estados de *Cryptosporidium* en el epitelio de la mucosa del duodeno, yeyuno, e ileon la infección fue más severa en el yeyuno y se encontraron organismos cerca de las criptas. *Cryptosporidium* no se observó en el estómago o en el colon. Las lesiones en el intestino delgado incluyeron inflamación celular ligera, hiperplasia y una enteritis linfoplasmática difusa. Las lesiones fueron atribuidas a la infección por *Cryptosporidium* que fue secundaria a la inmunodeficiencia asociada con leucemia viral felina [15].

### CASO 3

Un gato de 6 meses de edad, presentó durante 8 semanas diarrea, inapetencia y pérdida de peso, anemia, deshidratación y ulceración bucal extensiva en vista del estado general fue sacrificado. Detectándose oocistos de *Cryptosporidium* en trots de heces tenidas con safranina y azul de metileno y por la técnica de flotación modificada sacarosa/fenol de Sheather. No se observaron grandes cambios en el tracto gastrointestinal, pero el examen histológico reveló estados endógenos de *Cryptosporidium* en el yeyuno (4).

No fueron detectados otros agentes patógenos y no hubo evidencias de infección por el virus de la leucemia viral felina también se realizó una prueba e fijación del complemento que dio un título de 1/64 para calicivirus felino (4).

### CASO 4

Fueron encontrados oocistos de *Cryptosporidium* en un gato de 4 meses de edad seguido de un diagnóstico de criptosporidiosis de su dueño un niño de 5 años de edad que estaba en tratamiento con leucemia (4).

No fueron encontrados oocistos en exámenes subsiguientes de heces del gato, ni en el niño después de haber concluido el tratamiento con drogas inmunosupresivas (4).

Dois meses después el niño nuevamente excretó oocistos de *Cryptosporidium* que fueron también observados al mismo tiempo en heces del gattito aunque no cuando se reexaminaron 4 días después. El gato estuvo libre hasta un mes antes de excretar oocistos el niño. La reexcreción no fue inducida por estres de cambio de casa o inmunosupresión por corticosteroides; hasta el final el gato fue clínicamente y hematológicamente normal y los resultados de la bioquímica sanguínea fueron normales. No se detectaron otros agentes patógenos, incluyendo el virus de la leucemia viral felina (4).

## CASO 5

Se presentó un gato con 6 meses de edad con diarrea persistente el cual fue hospitalizado, con un adelgazamiento poco aparente y los resultados de la química sanguínea y hematología fueron normales. Se detectaron ooquistes de *Cryptosporidium* en heces y la biopsia reveló estadios endógenos al término del intestino delgado: un *Campilobacter* no tipificado fue aislado en una ocasión solamente. No se detectó otro patógeno entérico ni hubo evidencia de infección con el virus de la leucemia viral felina (4).

La excreción de ooquistes terminó después de 6 semanas y después de los 6 meses las defecaciones fueron consistentes el gato fue dado de alta y no hubo reporte de recurrencia (4).

### XIII. DIAGNÓSTICO

Las primeras formas de diagnóstico de criptosporidiosis requerían necesariamente de la identificación del parásito en la región de las microvelosidades del epitelio intestinal o respiratorio y se lograba mediante biopsia yeyunal o al momento de la necropsia por microscopía de luz o electrónica, sin embargo la agresión de la biopsia y su poca efectividad en el diagnóstico ocasionó que se buscaran los ooquistes de *Cryptosporidium* en muestras de heces (1,9,15,20,46).

El primer diagnóstico fue reportado en 1978 en beceros y en 1980 por humanos cuando fueron detectados ooquistes en materia fecal a partir de estos diagnósticos se diseñaron técnicas específicas examinadas a la identificación de ooquistes en heces ya que el procedimiento coproparasitoscópico tal como se maneja para la identificación de ooquistes de protozoarios y huevos de helmintos, no ayudan por el tamaño de los ooquistes (2-5)µm, no permitiendo su observación, en pruebas indirectas tales como biometría hemática y sedimentación de eritrocitos no presentaban anomalías (15,19,20,34,35,46).

Actualmente existen diversas técnicas desarrolladas, que utilizan diferentes tipos de muestras dependiendo de la localización de la infección (15,19,35). [Ver Cuadro 4]

La mayoría de las técnicas usadas se apoyan en la evidencia que los individuos con infección sintomática eliminan una gran cantidad de ooquistes, además de que la consistencia líquida de las heces en la infección aguda facilita visualizar al parásito. Se ha discutido que la detección de ooquistes en muestras formadas tienen implicaciones importantes sobre todo en la identificación temprana del microorganismo en individuos inmunodeficientes y portadores asintomáticos. Es por ello que se siguen haciendo modificaciones de las técnicas existentes o diseñando nuevas con mayor sensibilidad (15,19,35).

El diagnóstico de *Cryptosporidium* en mamíferos (incluyendo humanos), se realiza preferentemente con muestras de heces porque la presentación de la infección es generalmente intestinal. En el caso de

microorganismo en individuos inmunodeficientes y portadores asintomáticos. Es por ello que se siguen haciendo modificaciones de las técnicas existentes o diseñando nuevas con mayor sensibilidad (15,19,35).

El diagnóstico de *Cryptosporidium* en mamíferos (Incluyendo humanos), se realiza preferentemente con muestras de heces porque la presentación de la infección es generalmente intestinal. En el caso de aves, las infecciones activas en intestino, aparato respiratorio o urinario, se determinan mediante búsqueda de ooquistes en moco, fluidos o heces a través de alguna técnica de tinción, pudiéndose utilizar previamente algún método de concentración o bien en cortes de tejido por histología (6,19,35).

**Preservación y Almacenamiento de los ooquistes.** La mayoría de los especímenes diagnosticados provienen de muestras fecales, pero podrían ser manejadas de la misma manera los provenientes de otros fluidos corporales. Las muestras fecales deben ser trabajadas del material fresco o conservadas en una solución de formalina al 10% o de acetato acético, ácido de formalina sódica (SAF). Si los parásitos no van a ser usados en estudios subsecuentes se recomienda la fijación de los especímenes debido a los posibles biológicos (19,35,39).

**Almacenamiento.** La solución de dicromato de potasio en agua al 2.5% es usada normalmente para preservar los ooquistes viables esta sustancia no es un fijador, pero cuando se almacenan a 4°C con la misma los ooquistes permanecen viables por lo menos 3 meses y algunos se mantienen infectantes hasta por más de 12 meses. Debido a que el porcentaje de ooquistes viables comienza a decrecer después de los 3 meses de almacenamiento en frío, se recomienda realizar aislamientos de ooquistes cada 3 meses. Algunos investigadores prefieren almacenar los ooquistes en una Solución Balanceada de Hank's (HBBS) (15,19,22).

**Identificación de los ooquistes.** Se sugiere utilizar un método de concentración para disminuir la posibilidad de dar un resultado falso negativo, sobre todo en el caso de heces formadas donde se sabe que se requiere una concentración de  $500 \times 10^9$  ooquistes por gramo de heces para que puedan ser observados; mientras que en algunos laboratorios de Microbiología clínica se usan técnicas de tinción antes o después de concentrar los ooquistes. Debido a que los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. son muy similares en tamaño y forma de algunas levaduras, requiriéndose suficiente experiencia para poder obtener lecturas confiables en las técnicas (15).

Algunos investigadores piensan que la prueba de Sheather puede ser la técnica de concentración más usada en la detección e identificación de estados endógenos (15,56).

Recientemente se publicó una modificación a la técnica de sedimentación formal acetato de etilo (FEA) la cual corresponde a la flotación de las estructuras parasitarias con una solución saturada de cloruro de sodio, después de sedimentar, obteniéndose con ello preparaciones más limpias que facilitan su observación (35).

## TINCIONES

Después de concentrar, comúnmente se hacen las preparaciones para evidenciar a los parásitos, para ello se han utilizado un número considerable de técnicas de tinción, las más empleadas son las modificaciones hechas a los métodos para tinte microorganismos ácido resistentes, en donde se observan los coquistes teñidos de rojo diferenciándose de otras estructuras con el colorante de contraste. En algunos casos se recomienda aclarar la pared de los coquistes mediante un tratamiento con hidróxido de sodio, lo que permite la observación de las estructuras internas, particularmente de los esporozoitos (15,19,46).

Dentro de las modificaciones hechas a las técnicas de tinción para colorear microorganismos ácido-resistentes se pueden mencionar las variaciones en los colorantes de contraste, utilizándose verde brillante y azul de metileno, entre otros, así como se ha planteado el uso de estas técnicas tanto en caliente como en frío, y en general los resultados son buenos. Otras tinciones utilizadas para detectar coquistes de *Cryptosporidium* se incluyen en el Cuadro 4 (19,22,35).

La lectura al microscopio de las preparaciones se realiza con el objetivo de inmersión. Las tinciones fluorescentes no permiten visualizar en detalle a las estructuras internas de los coquistes y en ocasiones es necesario realizar una técnica de tinción confirmatoria (19,35).

Una forma sencilla y económica de monitorear la presencia del parásito en tracto respiratorio es mediante raspado del epitelio traqueal utilizando un hisopo; con este procedimiento los microorganismos son arrastrado por las fibras de algodón y mediante agitación mecánica con alguna solución fijadora o aclarante se pueden separar a los coquistes para teñirlos (34).

## HISTOLOGÍA

En el diagnóstico por histología estos protozoos son reconocidos por su diminuto tamaño, se observan sobre la superficie del epitelio incrustados en las microvelosidades, y dan la impresión de ser proyecciones esféricas del lumen. No existen coloraciones histológicas específicas que faciliten su identificación en los tejidos, por lo que se utiliza la tinción de rutina Hematxilina-Eosina; este tipo de diagnóstico también ha sido usado para la detección de estadios endógenos de *Cryptosporidium* spp. en especímenes que se localizan en la mucosa intestinal pero la identificación de los diferentes estadios del ciclo biológico puede ser muy difícil. Las muestras de tejido más utilizadas son ileon, duodeno, colon, recto, tráquea y pulmón (15,19,35).

## BIOLOGÍA MOLECULAR

Dentro de las técnicas más modernas de biología molecular ha sido posible utilizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar *Cryptosporidium* en tejidos fijados y embebidos en parafina. Esta prueba permite hacer estudios retrospectivos, ya que emplea muestras que pueden ser conservadas por un largo período de tiempo. La aplicación de este tipo de método provee una mayor sensibilidad y especificidad al diagnóstico, sin embargo su uso se restringe a trabajos de investigación (35).

## TIFICACIÓN

Esta se realiza en general por observación del tamaño del oocisto y por la morfología del mismo, no obstante algunos autores sugieren el empleo de la técnica de inmunoelectrotransferencia (Western blot) para diferenciar a *Cryptosporidium muris* de *Cryptosporidium parvum*. Se llega a observar diferencia en los patrones de corrimiento aún para una misma especie, debido quizá a que los antígenos presentes en la superficie de los oocistos pueden ser modificados por algunas enzimas del hospedero o de la flora microbiana, dañándose así a las proteínas, los carbohidratos o los lípidos, componentes esenciales de los antígenos. También se considera como posible interferencia las soluciones conservadoras, o bien, que incluso algunos componentes derivados de las células hospederas pueden enmascarar a los antígenos presentes (35,38,42).

## SERODIAGNÓSTICO

El uso de técnicas de serodiagnóstico para monitorear la exposición de humanos y animales al *Cryptosporidium* no ha tenido mucho éxito pues como se describe en lo referente a respuesta inmune, la presencia de anticuerpos específicos no es determinante de infecciones. La detección de éstos se realiza mediante inmunofluorescencia, así como ELISA para determinar IgG e IgM (15,16,23,42).

Aun se discute la posible aplicación de éstas pruebas en el diagnóstico presuntivo de criptosporidiosis; pero ya han sido usadas para detectar anticuerpos específicos de *Cryptosporidium* en suero humano, pollos y de 8 especies animales diferentes (38).

Las pruebas serológicas, ensayo de inmunofluorescencia (IFA) e inmuno ensayo enzimático indirecto (ELISA) se utilizan en la determinación de prevalencia, pero al igual que en mamíferos no se emplean en el diagnóstico de rutina; con respecto a las técnicas para el aislamiento de los merozoítos han mejorado mucho y cada vez se perfeccionan más ya que en cantidades suficientes se pueden tener características antigénicas por esto los merozoítos no han sido estudiados en gran detalle con la excepción de los reportes detallados de sus estructuras finas (35,48).

En México actualmente el diagnóstico de criptosporidiosis está enfocado a la investigación de ooquistes en materia fecal. Técnica no agresiva al paciente de fácil manejo para un hábil microscopista, con el inconveniente de que las técnicas hasta ahora descritas no permiten distinguir los esporozoitos contenidos en el interior. Se describe un procedimiento de concentración, aclaramiento y tinción (CONATIN), que permite teñir no sólo al ooquiste, sino aclarar y colorear el contenido de cuatro esporozoitos, cuya observación no deja dudas en cuanto a la identificación (46)

Este procedimiento se puede establecer como técnica de rutina, para el diagnóstico de criptosporidiosis. Su alta confiabilidad para identificación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. ayudará a conocer la verdadera prevalencia de criptosporidiosis en niños con diarrea y pacientes con SIDA (9,13,20,46).

Finalmente, la elección de la técnica de diagnóstico depende principalmente de los recursos con que se cuenta, pero también se deben considerar las características y origen de las muestras. Algunos autores afirman que los métodos para detectar antígenos en heces, son más sensibles que las técnicas microscópicas tradicionales para detección de ooquistes. Sin embargo, todas las técnicas tienen limitaciones y se requieren más estudios para determinar el alcance de cada una de ellas (15,19,35,46).



MÉTODOS DISPONIBLES PARA EL DIAGNÓSTICO DE		<i>Cryptosporidium</i> spp.
MÉTODO	MUESTRA	MORFOLOGÍA
<b>CONCENTRACIÓN</b>		
FLOTACIÓN	HECES	
Azúcar de Sheather		BUENA
Sulfato de zinc		REGULAR
Cloruro de sodio		BUENA
<b>SEDIMENTACIÓN</b>		
Formol-Eter (FE)	HECES, ESPUTO Y ASPIRADO BRONQUIAL (AB)	BUENA
Formol-Acetato de Etilo (FEA)		BUENA
FEA Modificada		BUENA
<b>TINCIONES</b>		
<b>CONVENCIONALES</b>		
Ziehl-Neelsen	HECES, ESPUTO Y (AB)	EXCELENTE
Kinyoun Modificada		EXCELENTE
Giemsa		EXCELENTE
Gramm		BUENA
Safranina-Azul de Metilo		BUENA
<b>NEGATIVAS</b>		
Metenamina de Ag	HECES, ESPUTO Y (AB)	DEFICIENTE
Negrosina		DEFICIENTE
PAS Modificada		DEFICIENTE
Metabromina		DEFICIENTE
Verde Brillante		DEFICIENTE
<b>FLUORESCENTE</b>		
Naranja de acridina	HECES, ESPUTO Y (AB)	NO SE DIFERENCIA POR DIFERENCIA DE COLOR
Auramina-Rodamina		NO SE DIFERENCIA POR DIFERENCIA DE COLOR
Auramina-Carbol Fucsina		NO SE DIFERENCIA POR DIFERENCIA DE COLOR
<b>PRUEBAS INMUNOLÓGICAS</b>		
Imunofluorescencias directa	HECES, ESPUTO	
ELISA	HECES, ESPUTO Y SUERO	
<b>BIOLOGÍA MOLECULAR</b>		
PCR	TEJIDO DE DUODENO ÍLEON, COLON, RECTO, PULMÓN Y TRAQUEA	

Fuente 15,19,35

#### XIV TRATAMIENTO

Alrededor de 94 formas farmacéuticas se han usado para intentar el tratamiento y prevención; contra *Cryptosporidium*, pero ninguna de estos agentes quimioterapéuticos probados han sido capaces de eliminar substancialmente los signos clínicos o síntomas en humanos o animales (15,17,47) [Ver cuadro 5]

Los tratamientos a la fecha han sido limitados primariamente a hidratación oral o intravenosa y con nutrición parenteral esta es una intervención terapéutica que ofrece un claro beneficio para la mayoría de los pacientes inmunocompetentes; para estas personas la enfermedad marca su propio límite por lo que la hidratación puede ser tratamiento suficiente (8,15,19)

Pero en pacientes con deficiencias inmunes los tratamientos tienen una eficiencia pobre, algunos éxitos se han observado con Furazato de Nitroina, Furazolidona, Quina con Clindamicina, Amprolium, señalando que estas mejoras se observaron en pacientes que cursaban las etapas tempranas de la infección. Sin embargo Aprinocina, Dinitolmida, Salinomicina, y Sulfaguanoralina reducen el número de oocistos excretados comparándolos con un grupo control (6,15,35,40)

En un estudio experimental con cabras infectadas con *Cryptosporidium parvum* en el que se utilizo Lasaloic un antibiótico ionóforo se encontro que este resulta efectivo pero es toxico a los niveles que fue administrado (6,15).

En otro estudio reciente en el cual se trabajo con Dehydroepiandrosterona (esteroide nativo) que fue usado clinicamente, dio efectos colaterales minimos por lo que la utilidad de este inmunomodulador terapéutico merece un gran interes para su estudio (6,15,47).

Pero resultados peores se han obtenido con la Espamicina (antibiótico macrolido), un paciente con SIDA se curó de la diarrea pero continuó eliminando oocistos de *Cryptosporidium* después de un tratamiento de 4 semanas se vio que el medicamento a dosis elevadas puede generar toxicidad directa en el epitelio intestinal manifestándose por dolor abdominal, nauseas, vómito, necrosis celular (apoptosis) y degeneración del epitelio por esta causa su utilidad como terapia puede verse limitada (6,57).

La mayoría de las drogas probadas en animales ha sido conducida bajo el regimen de profilaxis, pero de 15 anticoccidiales probadas ninguno mostro prevenir la infección incluso a dosis elevadas; las restricción dietética no resulta efectiva para aliviar los signos o síntomas del paciente (15,34,47,52).

En un modelo para criptosporidiosis respiratoria en ratas inmunosuprimidas los medicamentos Inpracina y Sulfadimetaxina mostraron un eficacia parcial, haciéndose necesario ahondar mas en sus estudio (6,35).

Ya que ni vacunas ni regimenes terapéuticos son capaces de controlar o prevenir contra los organismos del genero *Cryptosporidium* y considerando que el estado inmunológico del individuo es determinante en la duración y severidad de la infección, la inmunoterapia representa una buena alternativa en la búsqueda de un tratamiento verdaderamente efectivo (18,35,49).

## INMUNOTERAPIA

Los primeros intentos de proveer inmunidad pasiva constituyeron la utilización de calostro hiperinmune bovino (HBC) y a la fecha existen numerosos trabajos al respecto, la mayoría coinciden en que la administración del mismo en forma continua y no por dosisación puede ayudar a controlar la diarrea presentada por algunos pacientes con SIDA e incluso se llega a disminuir la eliminación de ooquistes en heces. Se observa también que cuando se administra calostro hiperinmune bovino a ratones lactantes puede proveer cierto grado de protección (16,17,19,27,45,55).

En un caso particular el calostro bovino inmune anti-*Cryptosporidium* administrado oralmente a niños hipogamaglobulinémicos con persistencia de criptosporidiosis resolvió los signos clínicos asociados con la enfermedad y terminó con la excreción de ooquistes (49).

Sin embargo no en todos los casos esta inmunoterapia ha funcionado deteniendo la infección, tal vez por que si recordamos, la absorción de las inmunoglobulinas se da en intestino delgado principalmente en leon y por lo tanto si el epitelio colonizado esta dañando la función de absorción también. Se sabe que uno de los anticuerpos protectores presentes en el calostro es la IgG1. Algunos autores coinciden en que el HBC reconoce a una proteína de 15 kDa y a otra de 32 kDa localizada en la pared exterior del ooquiste (18,35,52,55).

No obstante una mejor estrategia sería neutralizar a los esporozoítos y merozoítos que son los estados autofecundantes, para de esta manera interrumpir el ciclo biológico del parásito. En este aspecto se han realizado estudios de neutralización y se propone dirigir la producción de anticuerpos del calostro contra antígenos comunes presentes tanto en esporozoítos como en merozoítos. Se reporta una proteína de 15 kDa con estas características y ha sido usada en la producción de anticuerpos monoclonales dirigidos como inmunodominantes, observándose en la mayoría de los casos disminución de la carga parasitaria sin seguir un patrón definido confiriendo protección parcial pero significativa (18,24,27,35,44,45,49).

Se plantea el uso de calostro hiperinmune bovino, suero hiperinmune o anticuerpos monoclonales en pacientes con infección persistente con la finalidad de evitar autofecundación por ruptura de los ooquistes de pared delgada y con esto detener el daño a nuevas células (35,52).

Aún se requieren más estudios sobre la caracterización antigénica y las posibles reacciones cruzadas con otros protozoarios relacionados. Recientemente se observó reconocimiento de algunas proteínas de un sonocado de ooquistes de *Cryptosporidium* por el suero de animales infectados con *Eimeria* spp. Esto demuestra la existencia de epítopes comunes entre estos protozoos (12,29,35,55).

Existe un reporte donde se propone la utilización de yema de huevos hiperinmunes de gallina (HEY) como fuente de anticuerpos para inmunidad pasiva, los anticuerpos protectores son de clase IgY y están contenidos en la yema, son termoestables y resistentes al tratamiento con ácidos, sin embargo la concentración de IgY es menor que la de IgG1 en HBC, pero es mucho más fácil producir huevos

hiperinmunes a mayor escala que el caso de cólera. En un estudio en el que se utilizaron ratones lactantes, se observó efecto protector al administrar un preparado de HEY (8,35).

Otros intentos por hallar algún elemento que permita restablecer el nivel inmunológico de los individuos con criptosporidiosis, corresponde al uso del Factor de transferencia (TF) preparado a partir de linfocitos obtenidos de sujetos convalecientes de una infección por la coccidia, pero que además mostraron resistencia a un desafío con oocistos de *Cryptosporidium parvum*. En este reporte se indica que en 6 de 7 pacientes con SIDA y criptosporidiosis intestinal se logró controlar la diarrea tras la administración oral de TF, e incluso 4 de los 6 pacientes recuperados dejaron de eliminar oocistos en heces (35,37).

No se ha trabajado mucho en el desarrollo de un inmunógeno que desencadene la respuesta inmune humoral por dos razones principales, la primera de ellas corresponde a las características de los individuos infectados de ser inmunodeficientes o cursar con una depresión del sistema inmune, esto los hace incapaces de montar una buena respuesta en contra del parásito, aún tratando de inducirla, por otro lado se ha observado que los anticuerpos juegan un papel mínimo en la inmunidad protectora, debido a que el parásito está confinado a la superficie epitelial y además está protegido con una membrana cuyo origen es la membrana misma de la célula hospedera, evadiendo así la respuesta inmune (35).

Algunos autores apoyan la idea de que los anticuerpos secretorios acoplados a mecanismos inmunes mediados por células, son los encargados de remover a los parásitos del epitelio intestinal. (29,35).

Con respecto a cultivo *in vitro* se han hecho estudios con líneas celulares MDCK estas son excelentes células hospederas para el cultivo de *Cryptosporidium parvum*. Una ventaja es que dan acceso a un gran número de trofozoitos y merontes libres de otros microorganismos; este sistema de cultivo da un método conveniente para evaluar la viabilidad de los oocistos pero se requieren más estudios (24).

Los estudios continúan en modelos animales, cultivos celulares, cultivos, en embrión de pollo y en humanos con SIDA, los esfuerzos se conjuntan con la finalidad de encontrar un tratamiento efectivo contra *Cryptosporidium*, siendo uno de los aspectos primarios en la investigación de este agente (6,12,35,37).

FÁRMACOS PROBADOS PARA EL TRATAMIENTO DE CRIPTOSPORIDIOSIS

Albortin *	Espiramicina * J	Norfloxacina *
Anfotericina B J	Estreptomina *	Octreotida J
Amikacin J	Etoposbato *	Oxitetraciclina-metronidazole *
Amoxicilín J *	Fenamicina *	Paragólico J
Ampicilina *	Fampricelín J	Paromomicina J
Ampicilum * J	Furazolidona *	Penicilina J
Apinacina *	Furazolidona * J	Penfamida J
Beomicina *	Furoato de diloxanida J	Penamida *
Carbencilina J	Gentamicina * J	Piperacina J
Cefamandol J	Halofuginona *	Polimeixín-Furazolidina *
Cimetidina J	Indometacina J	Pristinamicina *
Clindamicina J	Interleukin-2 J	Primetamina J
Clonidina J	Isapactina *	Quinacina * J
Clopidol *	Iodoquinol J	Quinina J
Cloroquina J	Iprnidazol *	Quina-clindamicina J
Cloroxilina J	Ivermectina *	Robenidina *
Colestramina J	Kaolin-pectina * J	Salicato de Bi J
Colistina J	Ketoconazol J	Salmomicina * J
Cotrimoxazol J	Lasalocid J	Septina J
Decoquinato *	Levamisol J	Somatostatín J
Dehydroepiandrosterona *	Uincamicina *	Sulfonamida * J
Difluorometil-om *	Loperamida J	Sulfadimetoxina *
Dimetildazol *	Mepacina J	Tetraciclina J
Dinfolimida *	Metilbenzato *	Ticabendazol J
Defenoxato HCl J	Metronidazol * J	Trimetoprim-sulfametoxazol * J
Doxiciclina J	Monensina *	Tintura de opio J
Emetil *	Naproxen J	Trinamida *
Enterolit N *	Neomicina * J	Vancomicina J
Eritromicina J	Nicarbocina *	Zalovudine J
Espectinomina *	Nistatina *	Zooquin *

Fuente: 15,19,47

\* animales

J Humanos

## XV. PREVENCIÓN Y CONTROL

Como ya hemos mencionado la enfermedad es autolimitada en hospedadores inmunocompetentes pero es persistente en hospedadores inmunodeficientes, animales neonatos o en terapias inmunosupresoras [14,15,49].

Sin embargo cabe mencionar que en poblaciones de adultos y niños se pueden infectar por el consumo de agua contaminada estas infecciones episódicas indican que la susceptibilidad puede estar condicionada por la exposición, ya que una vez que se aloja *Cryptosporidium* es difícil de controlar [15,34].

Por lo tanto el punto clave para la prevención y control de la enfermedad es la eliminación o reducción de los oocistos exógenos del ambiente o evitar el contacto con las fuentes de infección; teniendo en cuenta que ciertos grupos de personas o animales son de más alto riesgo y otros [15,19]. (Ver cuadro 6)

En condiciones favorables de humedad y temperatura los oocistos de *Cryptosporidium* pueden permanecer viables aún después de un año [15,19,35]

Las formas infectivas son resistentes a los desinfectantes más comunes y pueden sobrevivir por muchos meses. En estudios realizados con la finalidad de evaluar estas sustancias, se observó que únicamente el amoníaco al 50% o más, y formol al 30% durante 30 min. son capaces de destruir a los oocistos de *Cryptosporidium*, de aquí que los productos empleados para sanitizar el mobiliario y algunos materiales en los hospitales y laboratorios no sean efectivos contra el parásito [15,19,35].

Otros desinfectantes usados más eficazmente contra los oocistos son el peróxido de hidrógeno, dióxido de cloro básico (Exspor esterilizador en frío), y productos que liberen en dos fases amoníaco y ozono [15,19,35]. (Ver cuadro 7)

La cloración rutinaria que se hace al agua no tiene ningún efecto sobre la viabilidad de los oocistos, pues estos resisten contactos más o menos prolongados con hipoclorito de sodio a una concentración comercial [15,19].

Se ha reportado que un choque térmico aplicado a temperaturas de 45°C por 5 a 20 min. los oocistos disminuyen su infectividad y a temperaturas de mayores de 60°C seguida de un descenso hasta -20°C mata los oocistos. [15,35].

Por lo tanto hay que tomar medidas de prevención y control solamente como:

1. Se recomienda esterilizar el material potencialmente contaminado, mediante calor húmedo (autoclave) y para sanitizar mobiliario o fumigar recintos se puede utilizar formol o amoníaco .
2. En lo que respecta a pacientes inmunodeficientes, se debe evitar su contacto con animales, incluso de compañía, para minimizar el riesgo.

3. Práctica de medidas sanitarias para minimizar la contaminación fecal puede resultar benéfico.
4. Evitar hacinamientos y lugares muy fríos.
5. Manejo adecuado de animales neonatos.
6. Evitar la ingestión de agua o alimentos contaminados.
7. Consumo de colostro de buena calidad ya que contiene una buena cantidad de inmunoglobulina IgA que da una función protectora de una inmunidad preformada.
8. El personal de asistencia médica, médicos veterinarios y laboratoristas deberán manejar con debida precaución tanto a los individuos sospechosos como a las muestras.
9. La examinación de rutina para oocistos de *Cryptosporidium* en heces deberá ser hecha en todos los pacientes sin importar la ausencia o presencia de síntomas o signos gastrointestinales.
10. La vitamina A pareció tener un efecto significativo para prevenir una infección de criptosporidiosis pero estos resultados preliminares necesitan ser más estudiados (6,38,40,52,59).

Finalmente los principios básicos de higiene y el tener una alimentación adecuada se aplican como medidas fundamentales en el control de la infección por cualquier agente infeccioso (35).

Gatos.- Si un gato diagnosticado como portador de criptosporidiosis presenta una diarrea severa esté debe ser aislado hasta que la diarrea pase, o hasta que los oocistos no sean excretados por un largo período (11).

#### C U A D R O      6

##### GRUPOS DE RIESGO PARA ADQUIRIR CRIPTOSPORIDIOSIS

- Agrupaciones profesionales
  - Médicos Veterinarios
  - Granjeros
  - Entrenadores de perros para guardia y protección
- Agrupaciones sociales en contacto con personas infectadas
  - Familiares
  - Compañeros sexuales
  - Nosocomial
  - Guarderías
  - Propietarios de mascotas
- Pacientes inmunodeficientes e inmunosuprimidos
  - Deficiencias congénitas
  - Deficiencia adquirida
  - Supresión inducida con químico

Fuente 15,19

CUADRO 7

## DESINFECTANTES USADOS PARA DESTRUIR OOCISTOS DE

*Cryptosporidium* spp.

Agentes	Concentración
Amoniaco	1% - 5%
Cloruro de benzalconio	5%
Solución Campden	0.5%
Clorammina B	3%
Ácido cresylad	3%
Etolanol	90%
FAM 30	1%
Formaldehido	1%-5%
Formal salino	10%
Glutaldehido	2%
Peróxido de hidrogeno	10 vol.
Hipoclorito	1%
Hipoclorito pH 7.6	10%
Iodoformas	4%
Isopropanol	10%
Lysol	4%
Ácido paracetico	0.2%
Fenol	1%
Perrnanganato de potasio	1%
Propanol	90%
*Iodine providone	10%
Productos Comerciales	
Buraton	Lastanox @ 0.2%
Dettol 5%	Mycolastanox 0.2%
Decont 3%	Oo-cide 5%
Expor	Presept
Formula H	Sporocidin
Mycolin	Tegodor
Jactonal A 3%	Vircon1%

Fuentes 15,19,35

\*Aunque la resistencia de los oocistos a los tratamientos químicos hace impracticable el uso de desinfectantes (15,19,35)



## XVI. OBJETIVOS

Demstrar una infección cruzada con *Cryptosporidium* spp. del humano al gato (*Felis catus*) analizando la evolución en la expulsión de oocistos.

Observar las alteraciones causadas por *Cryptosporidium* spp. en el tracto intestinal de gatos (*Felis catus*) de 1.5 - 2 meses aproximadamente por medio de cortes histopatológicos con la tinción Hematoxilina - Eosina.

Determinar la posibilidad de cambios en la biometría hemática.

Evaluar la detección de los oocistos de *Cryptosporidium* con la tinción modificada de Kinyoun.

## XVII. MATERIAL Y MÉTODOS

### 17.1 ANIMALES

Los animales empleados fueron 15 gatos (*Felis catus*) raza Europeo de ambos sexo con una edad que fluctuó de un mes y medio a dos meses. Estos animales se obtuvieron de donación directa de particulares del área de Cuauhtlán y Ecatepec en 1994, los cuales fueron alojados primeramente todos juntos en el Laboratorio de Parasitología, de la Facultad de Estudios Superiores Cuauhtlán, a los cuales se les realizó un examen clínico general y una desparasitación externa con Propoxur (Botta taico a dosis indicada por laboratorio Bayer ) a cada uno de ellos; los animales enfermos clínicamente se desecharon.

Posteriormente se les realizó un examen coproparasitológico de flotación a cada gato con la finalidad de determinar si estaba presente algún género parasitario en el tracto gastrointestinal de los animales. Los gatos que presentaron *Taraxacra* spp. se desparasitaron con piperazina a una dosis de 45 mg / kg. pv. Al 3er. día se volvieron a tomar muestras de heces de todos los gatos para realizar nuevamente la técnica por 3 días consecutivos para comprobar que estuvieran libres de parásitos gastrointestinales, los animales que salían positivos a *Isospora* u otra coccidia fueron desechados. Posteriormente se les realizó la técnica de concentración aclaración y tinción. técnica para detectar ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Siendo negativos se formaron 3 grupos de 5 gatos cada uno escogidos al azar los cuales se alojaron en jaulas de alambre galvanizado que median 90 x 40 x 60 cm. previamente lavadas y desinfectadas.

La eliminación de otros géneros fue para evitar la interferencia con los resultados obtenidos durante el desarrollo del experimento partiendo pues de animales libres.

Aclaración: No se contemplaron pruebas para enfermedades inmunosupresoras en los gatos.

También se efectuó un análisis sanguíneo cada 8 días para conocer los valores hematológicos normales de cada uno de los gatos antes de iniciar el trabajo experimental para utilizarlos como un punto de referencia con los valores obtenidos después de la inoculación. Para este análisis se utilizó una aparato Coulter de Mexico Modelo CX 5 Beckman

Los animales se agruparon de la siguiente manera:

El Grupo I o Control .- Estuvo formado por 5 gatos que se mantuvieron juntos en la jaula 1 a estos se les asignó una caja de plástico con arena, una frazada, un recipiente de plástico para agua, y otro de cartón adaptado para el alimento, este grupo se aisló de los demás en el laboratorio tanto como se pudo.

(Aclaración: se presenta la muerte de 2 gatos al inicio del experimento por causas no determinadas; sospechando de leucemia viral felina ya que no se contó con el procedimiento para hacer el

diagnóstico diferencial por lo tanto ya no se pudo hacer una reposición de los animales por que ya había iniciado el experimento trabajando con 3 solamente)

El Grupo II o gatos inoculados .- Estuvo formado por 5 gatos los cuales se separaron de la siguiente manera en la jaula #2 se alojaron 3 gatos con separaciones que se hicieron con alambre de gallinero; en la jaula # 3 se alojaron 2 gatos separados de igual manera que los anteriores

A partir de este grupo cada gato tuvo una caja de arena, una frazada, un recipiente de plástico para agua y otro de cartón adaptados para alimento los cuales se identificaron con el mismo número asignado a cada uno de los gatos.

El Grupo III o gatos tratados con ciclofosfamida e inoculados .- Estuvo formado por 5 gatos los cuales se separaron de igual manera que el Grupo II, solo que en las jaulas # 4 y # 5, con los mismos accesorios del grupo anterior. Este grupo se inmunosuprimió por 7 días antes y durante todo el período de experimentación con ciclofosfamida (Genoxal) por vía oral a una dosis de 2.5 mg/Kg. p.v. El objetivo de la inmunosupresión era asegurar una infección constante para el momento de la inoculación y posteriormente seguir inmunosuprimendoseles para inducir un cuadro clínico muy marcado.

Los grupos II y III se colocaron en un anaquel en forma de batería. En cuanto a alimentación para los 3 grupos fue similar leche por las mañana posteriormente agua a libre acceso así como alimento comercial propio de su especie previamente esterilizado en paquetes. Tanto jaulas como recipientes y cajas con arena se asearon diariamente con agua, detergente, e hipoclorito de sodio como desinfectante.

## 17.2 INOCULÓ

El inoculó se obtuvo como donación de la QFB. Laura Martínez Méndez a partir de un paciente del Hospital Infantil afectado por *Cryptosporidium* en asociación con SIDA. Sabiendo el origen y las consecuencias posibles del mismo se procedió a semipurificarla de acuerdo con la técnica descrita por Martínez. ( 1994 )

### SEMIPURIFICACIÓN DE OOCISTES

- Adicionar a un tubo cónico de 15 ml. aproximadamente 7 ml. de heces y diluir con solución de bicarbonato de sodio al 2.5% p.v. (1:1) agitar con vortex y dejar reposar 10 min.
- Centrifugar a 1000g 2 min. eliminar el sobrenadante
- Agregar al botón 10 ml. de bicarbonato de sodio al 2.5% agitar, centrifugar y eliminar el sobrenadante.
- Hacer un lavado al botón con 10 ml. de agua destilada.
- Adicionar 5 ml. de hipoclorito de sodio al 10% v/v. agitar y mantener en baño de hielo por 5 min.

- Centrifugar a 1000g 2 min. y separar el sobrenadante.
- Lavar el botón alternando agua destilada y solución salina fisiológica, hasta que el olor a cloro desaparezca.

Una vez semipurificada la muestra, se procedió a hacer el conteo de los parásitos tomando una gota del inoculo con jeringa insulínica, y se contaron los parásitos con un microscopio óptico usando el objetivo seco fuerte (40x) haciéndose esto como mínimo 10 veces, sacando un promedio para obtener el número de parásitos aproximados que requeríamos para inocular a nuestros animales en experimentación.

Se procedió a inocular por vía oral al grupo II y III con una concentración de 5000 a 5203 oocistos de *Cryptosporidium* (equivalente a 0.7 ml. del inoculo) tomando como día 1 el día de la inoculación.

### 17.3 HECES

A partir de ese momento diariamente a la hora de la limpieza, las heces de cada gato se recolectaron e identificaban en forma individual en bolsa de plástico poniéndoles la fecha de recolección ya que las heces de cada 3 días son las utilizadas para la cuantificación de los oocistos de *Cryptosporidium* utilizando la Prueba de Stoll que incluye:

- Dilución
- Aclaración
- Fijación

Esta prueba se tuvo que modificar a un 25% , por el volumen de heces producidas por los gatos; ya modificada consistió en tomar:

- 1 gr. de materia fecal
- 14 ml. de solución NaOH al 0.1N

En una probeta de 50 ml. con 5-6 perlas de cristal se agregaron los 14 ml. de solución NaOH al 0.1 N y se mezcla con las heces previamente pesada hasta que se obtuvo una solución homogénea tomándose 0.075 ml. de la muestra con una pipeta graduada 1/10, colocándose en un portaobjetos posteriormente se le puso un cubreobjetos (5 x 2.4 cm.) teniendo cuidado al colocar el cubreobjetos de que no forme burbujas o se derrame parte de la muestra ya que esto alteraría el conteo. Esta muestra se observa en un microscopio óptico, con el objetivo seco fuerte (40x) contando los parásitos uno por uno, auxiliándose con un contador. (Se incluyen microfotografías en el apartado de resultados)

El factor de multiplicación que se uso fue de acuerdo al nivel de hidratación de la muestra .

- 100 en muestras sólidas.
- 200 en muestras pastosas
- 400 en muestras caseicas

Posteriormente se multiplica por 0.75 y de esta manera se suma el número total de oquistes evacuados por animal por día durante el periodo de patencia y en que momento tuvimos el mayor número de desenquistamiento, e interpretándose como número de oquistes por mililitros.

#### 17.4 MUESTRAS RECOLECTADAS

Al día 20 post-inoculación los gatos que quedaron se eutanasiaron con una dosis elevada de anestesia procediéndose a realizar la necropsia a cada gato para observar las lesiones macroscópicas más relevantes y posteriormente tomar muestras de intestino delgado (por ser la zona más probable de implantación) de cada gato las cuales se depositaron en frascos de 40 ml. con formal bufferado al 10% previamente identificados con el mismo número del gato.

A estas muestras se les realizó un procesamiento histopatológico con tinción de Hematxilina-Eosina para tratar de ver los diferentes grados de lesiones que causa el parásito.

Las muestras histopatológicas se observaron en un microscopio óptico con el objetivo de inmersión (100x) y con el objetivo seco fuerte (40x); de las alteraciones microscópicas más significativas se tomaron microfotografías que se incluyen en el apartado de resultados.

Este procedimiento se les dio también a los gatos que murieron durante el experimento.

Solo para confirmar la presencia de oquistes de *Cryptosporidium* en las heces de cada gato se realizó la tinción modificada Kinyoun la cual consiste en:

- Fijar el frotis con metanol hasta evaporación
- Teñir con carbol-fucsina (Fucsina básica 1 gramo, cristales de fonal 5 gramos, etanol al 95% 10 ml. y aforar a 100 ml. con agua destilada; esta solución se filtra antes de usar) por 3 minutos y lavar con agua corriente.
- Decolorar con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 10% v/v y lavar con agua corriente
- Contrastar con verde brillante al 1% p/v por 30 segundos, y lavar con agua corriente. Dejar secar y observar.

La lectura de los frotis se hizo con el objetivo de inmersión (100x). Se incluyen microfotografías en el apartado de resultados.

Los resultados obtenidos del conteo de oquistes en los diferentes grupos se organizó en cuadros y figuras para su mejor análisis y se sometieron a la prueba estadística análisis de variancia (ANOVA) para determinar la validez de esos resultados.

## XVIII. RESULTADOS

Se logró establecer la infección en los gatos experimentales con *Cryptosporidium* spp. de origen humano. El período de prepatencia fue de solo un día posterior a la inoculación.

En la que refiere a la eliminación de ooquistes; los datos se pueden observar en las gráficas que expresan su comportamiento y se comentan en las siguientes líneas.

**Grupo I o Control .-** Este grupo presentó una contaminación accidental con ooquistes de *Cryptosporidium* spp. ya que al día 6 arrojando (450 ooquistes) que aumentó al día 7 con (1350 ooquistes) y se redujeron posteriormente al día 10 con (300 ooquistes) manteniéndose la eliminación casi constante hasta el día 20 que concluyó la investigación.

Los gatos de este grupo mostraron una ligera diarrea, depresión general ocasional mostrándose en ocasiones recuperaciones de forma espontánea.

**Grupo II o Inoculado .-** Este grupo los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. se presentaron al siguiente día de la inoculación (6690 ooquiste) con un incremento gradual al día 7 (29460 ooquistes) siendo en aumento los siguientes días hasta el día 13 donde se presentó el pico máximo (34665 ooquistes) comenzando a reducirse gradualmente con ( 8280 ooquistes) hasta el final del período de la investigación. (Ver gráfica 1)

Cada animal de este grupo presentó diarrea acuosa con moco, que se alternó con constipación, mostrando un grado variable de deshidratación, anorexia, depresión y una marcada pérdida de peso gradual con recuperaciones ocasionales, sin que se presentara mortalidad. Estos signos se acentuaban en los días que aumentaba el número de eliminación de ooquistes.

**Grupo III o Inoculado inmunosuprimido.-** En este grupo también se observaron los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. al siguiente día de la inoculación (13905 ooquistes) alcanzando su pico máximo el día 5 (21260 ooquistes) con tendencia a reducirse gradualmente. En este grupo se presentó la muerte de 3 gatos identificados en el experimento como C1194 el día 9, C1394 el día 11 y el C1294 el día 13, posteriormente se incremento la eliminación de ooquistes (15900) con los gatos restantes (2) decreciendo el número de ooquistes gradualmente con la diferencia de que el gato C1494 de este grupo el día 19 no presentó eliminación de ooquistes dándolo como negativo. En el gato C1594 fue decreciendo gradualmente el número de ooquistes (2700) hasta el final del período de la investigación. (Ver gráfica 1)

Los gatos de este grupo presentaron diarrea acuosa con gran cantidad de moco que se alternó con constipación, mostraron deshidratación, anorexia, depresión y una marcada pérdida de peso. La diarrea observada en estos animales presentaba una coloración amarillenta y en algunos casos se vio que presentaban estrias de sangre. La severidad de los signos clínicos se acentuó en menos días causando la muerte de 3 gatos.

Todos los animales que desarrollaron la infección días después de la inoculación empezaron a eliminar oquistes de *Isospora*.

#### LESIONES A LA NECROPSIA

En este aspecto los datos obtenidos no mostraron la existencia de lesiones relevantes en el tejido intestinal, observándose solamente gas, engrosamiento de la mucosa y pequeñas áreas con apariencia congestiva lo cual implica una dispersión de los parásitos por la mucosa intestinal sin una destrucción significativa, se debe sobre todo a la forma de implantación de los parásitos en las células y a la duración de desarrollo.

#### LESIONES HISTOPATOLÓGICAS

Después de un análisis de los cortes de tejido intestinal se detectó la presencia de parásitos en la superficie de las células intestinales que fueron como cuerpos protuberantes que presentaron una gran dispersión observándose en la superficie del epitelio sobre el borde de las microvelosidades dando la impresión de ser proyecciones esféricas de la células epiteliales. No existen coloraciones histológicas específicas que faciliten su identificación en los tejidos, por lo que se utilizó la tinción de rutina Hematoxilina-Eosina

En algunos cortes se observo un incremento en densidad y tamaño de las células calciformes lo cual puede asociarse a un incremento en la cantidad de moco presente en las heces. (Ver microfotografías 1, 2, 3, y 4)

#### RESULTADOS ESTADÍSTICOS

Para determinar diferencia en la eliminación de oquistes entre los grupos se utilizó el método estadístico de Análisis de Varianza (ANOVA) que por su flexibilidad permite analizar cualquier número de tratamientos y repeticiones, probando las siguientes hipótesis donde:

$$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k$$

$H_1$  = Al menos una igualdad no se cumple

Partiendo de la fórmula se obtuvieron los siguientes resultados.

C U A D R O 8

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F c
TRATAMIENTO	2	1.0445245 x 10	5.2222622 x 10	10.485
ERROR	27	1.3447929 x 10	49871.44	
TOTAL	29	2.3893174 x 10		

Como  $F_c = 10.48 > F_1 = 3.35$  (Con 0.05 de nivel de significancia implica la existencia de diferencia significativa entre los grupos)

Por lo tanto se rechaza  $H_0$ . (28,58)

Para comprobar los resultados obtenidos de las medias se aplico la Prueba de Tukey obteniendo los siguientes resultados:

C U A D R O    9

PRUEBA DE TUKEY			
TRATAMIENTO	GRUPO CONTROL	GRUPO INOCULADO	GRUPO INOC. INMUNOSUPRIMIDO
PROMEDIO DE MEDIAS	547.5	15000	7924.1

Diferencia Media Significativa = 6470.14

Diferencia Media Significativa Honesta = 7811.12

Con los resultados obtenidos en la prueba de Tukey se reforza con lo encontrado en el análisis de varianza siendo significativo entre los grupos de experimentación inoculados e inoculados inmunosuprimidos contra el grupo control a pesar de la contaminación con coquistes de *Cryptosporidium* spp. no fueron significativos cuando se tomo como referencia al grupo control contra los grupos de experimentación, por lo tanto se confirma la hipótesis de trabajo planteada originalmente.

En cuanto a los resultados obtenidos de la biometría hemática no hubo diferencia significativa los cuales se agrupan en promedio representandose en la gráfica 2.

\* El promedio de la biometría hemática por grupos la podemos ver en el cuadro 12.



C U A D R O 10

ASPECTO DE HECEs DE LOS GRUPOS II Y III						
IDENTIFICACIÓN		F E C H A				
		15-Sep-94	17-Sep-94	19-Sep-94	21-Sep-94	23-Sep-94
C0694	<i>Hece</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Pastosas Si Normal	Compactas Si Normal	Líquidas Poco Deprimido	Líquidas y past No Apático	Líquidas No Apático
C0794	<i>Hece</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Pastosas Si Normal	Líquidas Si Normal	Líquidas Poco Deprimido	Pastosas Poco Deprimido	Líquidas Poco Apático
C0894	<i>Hece</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Compactas Si Normal	Compactas Si Triste	Pastosas No Triste	Liq y pastosas Poco Apático	Compactas Poco Apático
C0994	<i>Hece</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Compactas Si Normal	Compactas Si Poco triste	Pastosas Poco Triste	Pastosa No Apático	Compactas Poco Normal
C1094	<i>Hece</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Pastosas Si Normal	Líquidas Si Triste	Líquidas Poco Triste	Pastosas No Apático	Líquidas Poco Apático
C1194	<i>Hece</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	No defeco Si Normal	Líquidas No Apático	Líquidas No Apático	Pastosas No Muy triste	Compactas R I P
C1294	<i>Hece</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Compactas Si Normal	Compactas Si Normal	Muy líquidas poco Lagartoso	Muy Líquidas Poco Apático	Muy líquidas Si Apático
C1394	<i>Hece</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Compactas Poco Normal	Compactas Poco Apático	Compactas Poco Apático	Pastosas No Apático	Muy líquidas Poco Apático
C1494	<i>Hece</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Compact Si Normal	Pastosas No Apático	Líquidas No Apático	Muy líquidas Poco Mejoro	Líquidas No Apático
C1594	<i>Hece</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Compact Si Normal	Líquidas Si Normal	Pastosas No Muy apático	Comp y past No Apático	Liq y past Si Apático

RIP MUERTE

Aparencia de heces del grupo II o inoculado (C0694 - C1094) con oospores d *Cryptosporidium* spp y grupo III o inoculado e inmunosuprimido con ciclostamida (C1194 - C1504) durante todo el periodo de la investigación

ASPECTO DE HECES DE LOS GRUPOS II Y III						
IDENTIFICACION						
		25-Sep-94	27-Sep-94	29-Sep-94	1-Oct-94	3-Oct-94
C0694	<i>Heces</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Pastosas Poco Menos apático	Defeca poco Poco Menos apático	Muy líquidas No Menos apático	Líquidas Poco Menos apático	Pastosas No Menos apático
C0794	<i>Heces</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Líquidas Si Normal	Pastosas Poco Apático	Líquidas No Menos apático	Pastosas Si Menos apático	Pastosas Poco Apático
C0894	<i>Heces</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Comp y Liq Si Menos apático	Compactas Poco Menos apático	Compactas No Menos apático	Compactas Si Normal	Compactas Poco Apático
C0994	<i>Heces</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	No defeca Poco Apático	Muy líquidas No Menos apático	Pastosas Si Menos apático	Líquidas Si Menos apático	Líquidas Poco Menos apático
C1094	<i>Heces</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Pastosas Poco Apático	Líquidas Si Menos apático	Muy líquidas Si Menos apático	Líquidas Poco Menos apático	Líquidas Poco Menos apático
C1194	<i>Heces</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	R I P	R I P	R I P	R I P	R I P
C1294	<i>Heces</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	No defeca No Muy apático	R I P	R I P	R I P	R I P
C1394	<i>Heces</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	R I P	R I P	R I P	R I P	R I P
C1494	<i>Heces</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Líquidas Si Menos apático	Líquidas Poco Menos apático	Defeca poco Si Normal	Defeca poco Si Normal	Compactas Si Normal
C1594	<i>Heces</i> <i>Consumo de alimento</i> <i>Aspecto</i>	Pastosas Si Menos apático	Líquidas No Menos apático	Pastosas Si Normal	Pastosas Si Normal	Muy líquidas Si Normal

## R I P MUERTE

Apariencia de heces del grupo IIa inoculado (C0994 - C1094) con oocistos *Cryptosporidium* spp y grupo III o encluido e inmunosuprimido con ciclofosfamida (C1194 - C1594) durante todo el periodo de la investigación

C U A D R O      1 1

**NÚMERO DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* spp. ELIMINADOS DURANTE EL EXPERIMENTO.**

Identificación	Fechas de recolección									
	15 Sep.	17 Sep.	19 Sep.	21 Sep.	23 Sep.	25 Sep.	27 Sep.	29 Sep.	01 Oct.	03 Oct.

GRUPO CONTROL	Negativo	Negativo	450	1350	825	1050	300	450	300	750
---------------	----------	----------	-----	------	-----	------	-----	-----	-----	-----

Promedio 684.37

Desviación estándar 345.64

GRUPO INOCULADO	4950	7650	31200	36000	44400	6000	2475	9900	7200	4200
C0694	4950	7650	31200	36000	44400	6000	2475	9900	7200	4200
C0794	3450	14700	16200	18600	12600	750	9000	22500	3600	3300
C0894	4575	5175	12300	16200	7200	3000	9750	2550	3750	900
C0994	12675	22500	13500	52500	4500	?	128700	900	14400	14700
C1094	7800	13200	18300	24000	26400	7500	23400	13200	7800	18300

Promedio 14.949

Desviación estándar 19.605.43

GRUPO INOC. INMUNOSUPRIMIDO	? <th style="width: 5%;">19800</th> <th style="width: 5%;">18000</th> <th style="width: 5%;">6000</th> <th style="width: 5%;">R I P</th> <th style="width: 5%;">R I P</th> <th style="width: 5%;">R I P</th> <th style="width: 5%;">R I P</th> <th style="width: 5%;">R I P</th> <th style="width: 5%;">R I P</th>	19800	18000	6000	R I P	R I P	R I P	R I P	R I P	R I P
C1194	?	19800	18000	6000	R I P	R I P	R I P	R I P	R I P	R I P
C1294	13200	4200	9900	21000	6000	?	R I P	R I P	R I P	R I P
C1394	38775	5100	5550	15900	5625	R I P	R I P	R I P	R I P	R I P
C1494	9975	11100	19800	10200	5400	108000	11400	3000	4500	Negativo
C1594	7575	15600	37050	11400	4200	1500	20400	2700	2400	5400

Promedio 13,161.4

Desviación estándar 18.634.6

**7 DÍAS QUE NO DEFECA**

Relación del número de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. eliminados durante el experimento por grupos y días post-inoculación.

C U A D R O 1 2

PROMEDIO DE BIOMETRIA HEMATICA POR GRUPOS

	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III
Leucocitos x 10 <sup>6</sup>	13.03	9.78	6.24
Eritrocitos x 10 <sup>6</sup>	6.66	6.13	6.27
Hemoglobina g/dl	10.99	9.93	10.1
Hematocrito %	30.9	28.76	29.19
VGM fl	44.3	47.69	46.59
CMH pg	16.66	14.94	16.95
CHCMg/dl	32.98	31.92	36.5
* ADE %	20.52	23.18	24.27
Plaquetas x 10 <sup>3</sup>	211.13	232.5	154.67
+ VPP fl	7.24	9.16	6.65
Unifocitos %	64.4	72.36	49.88
Monocitos %	12.38	8.17	7.01
Granulocitos %	4.36	3.64	4.93
Unifocitos x 10 <sup>3</sup>	9.87	7.36	3.64
Monocitos x 10 <sup>3</sup>	1.51	0.87	0.45
Granulocitos x 10 <sup>3</sup>	1.15	0.38	0.22

\* ADE: Ancho de distribución de los eritrocitos.

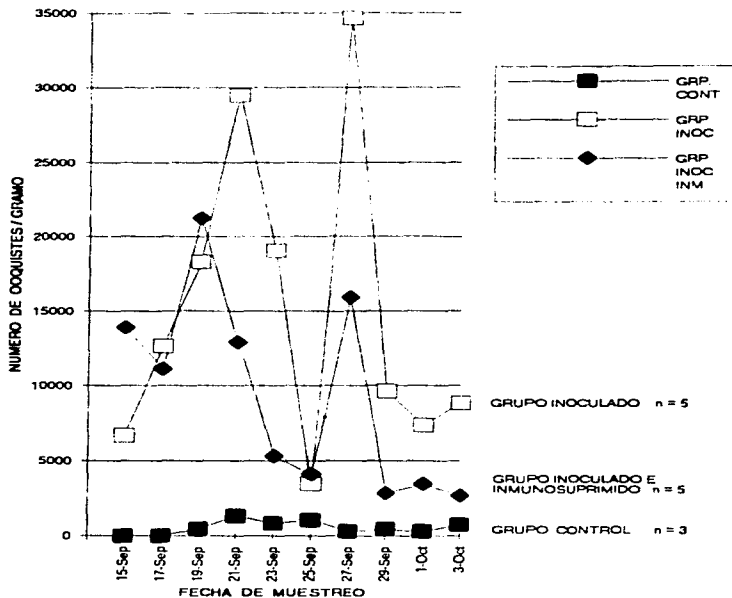
+ VPP: Volumen promedio plaquetario.

Promedio de las biometrias hematias por grupo realizadas cada 8 dias post-inoculación con *Cryptosporidium* spp durante todo el periodo de la investigación para determinar posibles alteraciones.

G R A F I C A 4

PROMEDIO DE ELIMINACION DE OOQUISTES DE

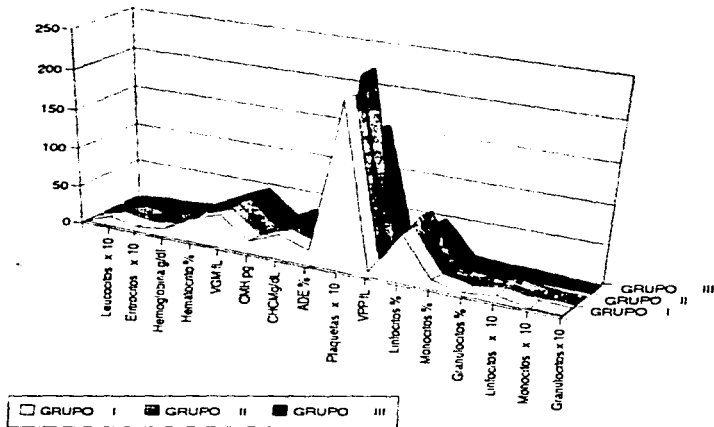
*Cryptosporidium* spp. POR GRUPOS



Promedio de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp del grupo I o control, grupo II o inoculado y grupo III o inoculado e inmunosuprimido con ciclofosfamida durante todo el periodo de la investigación

G R A F I C A 5

PROMEDIO DE BIOMETRIA HEMATICA POR GRUPOS



Promedio de biometria hematologica de los grupos I o control grupo II o inoculado y grupo III o inoculado inmunosuprimido, con boquistas de *Cryptosporidium* spp.

MICROFOTOGRAFÍA 1



Corte de intestino delgado a nivel de duodeno de un gato del grupo inoculado en el que se observan algunos parásitos © superficiales sin generar alteraciones aparentes (40x) con tinción Hematoxilina - Eosina a los 20 días post- inoculación.



Acercamiento de epitelio intestinal de un gato del grupo inmunosuprimido inoculado en el que se pueden observar 8 ooquistes de *Cryptosporidium* en la superficie de la mucosa en las células diferenciadas. La alteración visible en este campo es la densidad de células calciformes y sus dimensiones que se asocian con la gran cantidad de moco encontrado en las heces (100x) a los 20 días post-inoculación.



### MICROFOTOGRAFÍA 3



Acercamiento de la mucosa del intestino delgado de un gato del grupo control con una apariencia totalmente normal en toda su extensión, en este campo se ve una densidad normal de células calciformes y solo se aprecia la presencia de un ooquiste de *Cryptosporidium* de gran dimensión (100x) a los 20 días post-inoculación.

MICROFOTOGRAFÍA 4



Oocistes de *Cryptosporidium* (10µ), después de un contacto de 4 horas con solución de exquistación. Se observan algunas paredes (no teñidas) debido a la ruptura de los oocistes (OR) y se aprecian en algunos casos los esporozoitos (E) visibles dentro del oociste teñido. Tinción modificada de Kinyoun (400x) de las heces de un ratón .

## X. DISCUSIÓN

De los datos obtenidos en este trabajo se pudo comprobar que es factible la transmisión cruzada de *Cryptosporidium* spp. de los humanos a los gatos y dado que se trata de un protozooario obtenido originalmente de humanos es factible que el gato actúe como animal diseminador que contamine a los seres humanos al multiplicarse por un periodo prolongado el parásito en su intestino de este modo el gato podrá formar parte de un complejo epidemiológico en el que pueden estar incluidas otras especies de animales domésticos y no domésticos. Los datos obtenidos en este aspecto nos dan una idea del papel que puede desempeñar el gato como animal asociado al humano en la transmisión de agentes infecciosos los cuales tienen un amplio margen de hospederos para dispersarse. También es digno de señalar que en este trabajo la condición de inmunidad del hospedero no influyó de forma importante en el desarrollo de la infección, los animales eliminaron oocistos durante todo el lapso de la observación encontrándose un importante descenso al final sin que cesara por completo, de un periodo de observación de 20 días tiempos después del cual aparentemente la infestación desaparecería, aspecto que merece ser revisado ya que se sabe que este protozooario puede causar infestaciones persistentes (con duración de meses).

Los datos expresados al principio conciden con los señalados por García y cols. 1983 quien dice que la información reciente sugiere que la criptosporidiosis es una enfermedad zoonótica y que *Cryptosporidium* no tiene un hospedador específico y probablemente la transmisión es por vía fecal/oral o cruzada entre especies. (20)

Bennett en 1985 reportó un caso clínico en el que encontraron oocistos de *Cryptosporidium* en un gato de 4 meses de edad asociado a criptosporidiosis de su dueño un niño de 5 años de edad que estaba en tratamiento contra leucemia. No fueron encontrados oocistos en exámenes subsecuentes de heces del gato, ni en el niño después de haber concluido el tratamiento con drogas inmunosupresivas en contra de lo que debería ser ya que los fármacos inmunosupresores son favorables para mantener la infección. (4)

Dos meses después el niño excretó nuevamente oocistos de *Cryptosporidium* que se observaron también en las heces del gatito de forma intermitente. La reexcreción no fue inducida por estrés de cambio de casa o inmunosupresión por corticosteroides, hasta el final el gato fue clínicamente y hematológicamente normal y los resultados de la bioquímica sanguínea fueron normales. No se detectaron otros agentes patógenos. (4)

Dubey en 1992 comenta que la posibilidad de transmisión existe cuando hay contacto entre las personas y animales silvestres, animales de zoológico, y de compañía como roedores, cochonitos de perros y gatos pueden también ser reservorios, y si a esto se suman los más de 40 diferentes tipos de mamíferos que se han reportado como susceptibles a la infección, podemos entonces concluir que la mayoría de casos en humanos muy probablemente son el resultado de una transmisión zoonótica. (15).

Comell en 1991 ha sugerido que se podría presentar una transmisión de *Cryptosporidium* entre los gatos y humanos: por lo tanto es discutible que la especie de *Cryptosporidium* en gatos puede infectar gente y otros animales ya que cuando el ooquiste pasa por heces debe ser considerado como una fuente de infección para todos los otros animales, y miembros de la familia aunque no esta documentada la receptibilidad del gato a infecciones de origen humano (11)

Con los resultados obtenidos de este trabajo se pudo comprobar que si hay transmisión de humanos a gatos, ya que los ooquistes utilizados para la inoculación de los estos eran de origen humano logrando reproducir la infección y por lo tanto se comprueba la alta infectividad de los ooquistes también es digno de mención el hecho de que los ooquistes permanecen largo tiempo infectantes, puesto que el inoculo ya concentrado se mantuvo por más de un año en refrigeración antes de usarse en el experimento, logrando la infección. (11)

Con respecto a los grupo experimentales: el grupo I o control presentó una contaminación accidental al día 6 a pesar de la distancia de estos con los otros gatos lo que refleja el grado de infecciosidad que tienen los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. posiblemente la infección de estos animales fue por medio de la bata o utensilios que se emplearon en el experimento o moscas que hallan servido como vectores y además la falta de aislamiento de los animales con respecto a los gatos experimentales. Dier (1989), Dubey (1992) y Fayer (1986). Afirman que los artrópodos en áreas contaminadas pueden ser considerados como vectores y además que otros factores que permiten la transmisión son los fomites: alimentos o agua contaminada con ooquistes de *Cryptosporidium* (13, 15, 19).

Para tener un mejor control el alimento se esterilizó previo a su administración y primero se les servía al grupo control y posteriormente a los otros grupos, tratando con esto de evitar la contaminación del grupo I; sin embargo presentó una contaminación accidental al día 5 siendo el periodo de prepatencia que coincide con lo encontrado por Dubey 1992 y Fayer 1986 quienes señalaron que este periodo tiene una duración de 5 a 6 días y el periodo de incubación va de 7 a 10 días en gatos infectados en forma natural, con respecto al periodo de incubación coinciden con los resultados que se obtuvieron ya que la eliminación se incrementó hacia los días 4 y 12 post-inoculación con referencia a los signos clínicos estos se observan a partir del momento de eliminación de ooquistes que fueron constantes durante todo el experimento (20 días). Bennetf. (1985) reportan en varios casos gatos con diarreas persistentes inoperencia y baja de peso progresiva. Mismos hallazgos que se reportaron en los animales de este trabajo tanto en el grupo I como el grupo II y III (4, 15, 19).

Es importante señalar el corto periodo de prepatencia que se observó en los gatos de los grupos II y grupo III junto con la persistencia de la infección ya que la liberación de ooquistes del parásito en heces se registró a partir del 1er. día post-inoculación y el periodo de patencia fue también de un día.

Curents (1986) y Flanigan (1991) citados por Martínez en 1992 reportó la presencia del parásito sobre células epiteliales del intestino delgado del ratón desde las primeras horas post-inoculación (4 a 6 horas) (35).

En un trabajo experimental Dubey reportó que el tiempo de desarrollo de cada uno de los estadios del parásito en el hospedero no es conocida con certeza pero los esquizontes tipo I y II maduros, los gamontes y los oocistes han sido observados *in vitro* a las 12, 24, 48, y 72 horas respectivamente después de la inoculación de cultivos celulares con esporozoitos. También reporta que al estar presente una cantidad elevada de oocistes de *Cryptosporidium* spp. en el intestino tratando de infectar a las células se produce por competencia entre los parásitos y con ello una menor tasa de implantación (15).

Tomando en cuenta lo anterior podría ser el motivo de la eliminación de oocistes del grupo II y grupo III en forma tan temprana o bien que la multiplicación y dispersión de los parásitos ocurre de forma gradual hasta desencadenar inmunidad y con ello reducir la proliferación provocando una disminución en la cantidad de oocistes eliminados.

A partir del día 13 post-inoculación en este grupo el patrón de eliminación de oocistes en heces se volvió constante y continuó hasta el final del experimento que duró 20 días. Dubey en 1992, Heine en 1984 y Martínez en 1994; reportaron que la infección toma un carácter de cronicidad esto significa que el parásito permanecerá hasta que el hospedador se restablezca si cursa por una estado de malnutrición, mal manejo, hábitos higiénicos-dietéticos deficientes o este sometido a algún tratamiento de quimioterapia, al tratar la causa la infección cede y se elimina el parásito (15,26,35).

En el grupo III presentó una eliminación de oocistes de (13905 oocistes) desde el 1er. día post-inoculación, y alcanzaron un pico máximo de eliminación al 5o. día con (21260 oocistes) la severidad de la infección por la alteración producida al sistema inmune dejó a su paso la muerte de 3 animales de este grupo. Dittick en 1991, Dubey en 1992 y Fayer (1986) reportaron que la duración y la intensidad de los signos varían de acuerdo con el estado inmunológico del individuo observándose la correlación entre la severidad de los signos como diarreas acuosas con gran cantidad de moco que se alterna con constipación, deshidratación, anorexia, depresión y una marcada pérdida de peso; estos signos no van siempre asociados con el grado de eliminación de los oocistes en heces (14,15,19).

En el grupo III el gato C1494, al día 19 post-inoculación no elimina oocistes, se ha observado que a cierto nivel de la infección se suspende la eliminación pero vuelven haber una eliminación intermitente. Dubey (1992) y Fayer (1986) dicen que el calostro juega un papel muy importante en la inmunidad láctea pasiva pues la cantidad de IgA, IgG y IgM detectadas en el calostro es alta (15,19).

Y el gato C1594 del mismo grupo siguió eliminando oocistes hasta el final de la investigación que duró 20 días. Bennett en 1985 reporta que un gato arrojó oocistes por un lapso de 5 meses pero la relación entre esta infección y la inmunodeficiencia no fue determinada (4).

A partir de los resultados obtenidos con la prueba de Tuley el grupo II resulto ser el más importante ya que la infección tendió a la cronicidad, en particular si se consideran los hábitos de los animales y la persistencia de las formas infectantes que son un medio de contaminación para otros mamíferos susceptibles (15). En los grupos II y III post-inoculación se reactivó una infección latente por *Isospora* spp. que previamente no se había detectado y que se consideraban como un factor de exclusión de los animales para la experimentación los cuales persistieron durante todo el tiempo que duró el trabajo; Dubey en 1992) y Fayer en 1986 reportaron que al presentarse una infección combinada de *Cryptosporidium* spp. y otra enfermedad el epitelio se coloniza en menor grado por el primero representándose así un riesgo en el diagnóstico al enmascara la causa real de la diarrea que puede ser confundida con una infección por *Isospora* esporozoario común en el gato ya que produce efectos similares (15,19).

El no haberse detectado *Isospora* antes implica esto una infección latente. Esto implica que muchas coccidiosis pueden ser consideradas rutinariamente como causa directa de diarreas cuando puede existir una sinergia con *Cryptosporidium* como causa subyacente.

Martinez en 1992 y Zar en 1985 dicen que mientras no se implementen las técnicas de diagnóstico específicas para *Cryptosporidium* en todos los centros, las cifras presentadas no reflejan de manera real la prevalencia del microorganismo ya que los oocistos eliminados en la heces diarréicas se encuentran rodeados de una gran cantidad de moco por lo que es difícil separarlos de los restos fecales (35,59).

Con los hallazgos histopatológicos se identifica al parásito en la superficie epitelial del intestino delgado, observándose células calciformes más grandes y con una mayor concentración de lo normal la observación se realizó con el objetivo de inmersión (100x) , se reconocieron como pequeñas estructuras redondas adheridas a la superficie luminal en los enterocitos sobre el borde de las microvelosidades intestinales.

Dubey en 1992 y Fayer en 1986 reportaron lesiones en el intestino delgado incluyendo inflamación celular, ligera hiperplasia y una enteritis linfoplasmática difusa (15,19)

Bennett y cols. en 1985 reportaron que no hay cambios en la biometría hemática, concidiendo con los resultados obtenidos de nuestras biometrías hemáticas las cuales entran dentro de los valores promedio ya establecidas (4).

Para poder integrar tan solo estos 3 grupos de 15 animales previa a esto murieron de 15 a 20 gatos aproximadamente ya que no se contaban con las instalaciones adecuadas, muriendo los primeros de una neumonía fulminante; y algunos otros tuvieron que ser desechados ya que en el examen coproparascópico se les diagnosticó una infección con coccidias por lo que no podían ser usados en el presente trabajo.

Para la cuantificación de oocistos de *Cryptosporidium* se usó la técnica de Stoll la cual se redujo a un 25% por el volumen de heces producidas por los gatos. Esta técnica no requiere manejar al gato y se podría establecer como una técnica de rutina para el diagnóstico de oocistos de *Cryptosporidium*:

pero con el inconveniente de que se necesita experiencia para la detección de dicho parásito ya que en esta técnica no se emplea ningún colorante, regularmente no se observan los esporozoitos en el interior del parásito y estas muestras deben ser leídas lo más rápido posible ya que la desecación puede alterar la cuantificación de oocistos y se perdería la correlación entre los signos clínicos y la eliminación de oocistos.

## XX. CONCLUSIONES

Se logró en este trabajo experimental producir la transmisión cruzada de *Cryptosporidium* spp. de origen humano a los gatos (*Felis catus*), demostrándose la posible participación de esta especie en la diseminación del protozoo.

El período de prepatencia del grupo inoculado y de grupo inoculado e inmunosuprimido fue de solo 1 día post-inoculación y el período de mayor eliminación fue entre los días 5 y 7.

Se observó una diferencia significativa entre los grupos inoculados sin inmunosuprimir e inmunosuprimidos con respecto al grupo testigo no inoculado; los signos clínicos si se presentaron acentuándose más en el grupo III y quedando el grupo inoculado sin inmunosuprimir con una infección constante hasta el día que concluyó la investigación, con una tendencia a hacerse un proceso crónico.

Se logró observar en cortes histopatológicos con tinción Hematxilina-Eosina con un microscopio óptico (40x y 100x) a los oocistos de *Cryptosporidium* spp. sobre el borde de las microvellosidades del intestino delgado, dejando evidencia de alteraciones mínimas en la morfología del epitelio.

En la biometría hemática no se observaron alteraciones de los valores.

Se pudieron observar los oocistos de *Cryptosporidium* spp. con las tinción modificada de Kinyoun en los frots de heces de los gatos.



XXI. REFERENCIA.

1. Anderson, B.C.: Experimental Infection in Mice of *Cryptosporidium muris* Isolated from a Camel. *J. Protozool.* 38: 16-17 (1991)
2. Atwood, J.M. and Sterling, Ch. R.: Isolation of *Cryptosporidium* Oocysts and Sporozoites using Discontinuous Sucrose and Isopycnic Percoll Gradients. *J. Parasit.* 73: 314-319 (1987)
3. Blank, H.I. J.: El Maravilloso Mundo de los Gatos. Edit. Continental Mex. 1982
4. Bennett, M. Baxby, N. Blundell, C.J. Gaskell, C.A. and Hart, D.F.: Cryptosporidiosis in the Domestic Cat *The Veterinary Record* 116: 73-74 (1985)
5. Botera, D. and Restrepo, M.: PARASITOSIS HUMANAS. 1a. Edic. Edit. Corporación para investigaciones biológicas, Colombia 1984
6. Brasseur, P., Lemetet, D. and Ballet, J.J.: ANTI-*Cryptosporidial* Drug Activity Screened with an Immunosuppressed Rat Model. *J. Protozoology*. 38: 230s-231s (1991)
7. Brea, H.A.J., Bandres, F., Mosquera, L. J.D., Landero, B.M. and Ezquerro, L. M.: Pulmonary Cryptosporidiosis and Aids. Presentation of a Case and Review of the Literature. *An-Mod-Interna* 10: 232-236 (1993)
8. Carna, A.V. and Sterling, Ch. R.: Hyperimmune Hens as a Novel Source of Anti-*Cryptosporidium* Antibodies Suitable for Passive Immune Transfer. *J. Protozool.* 38: 42s-43s (1991)
9. Chichino, G., Bruno, A., Cevini, C., Atzori, Ch., Gatti, S. and Scaglia, M.: New Rapid Staining Methods of *Cryptosporidium* Oocysts in Stools. *J. Protozool.* 38: 212s-214s (1991).
10. Contrepas, A.: La Experimentación Animal de la Indiferencia al Derecho. *Mundo Científico* 13: 1078-1086 (1995)
11. Cornell Feline Heart Center College of Veterinary Medicine the Cornell, Book of Cat. Edit. Mordecai Siegal 1991. p.p. 283

12. Current, W.L. and Blagburn, B.L.: *Cryptosporidium* and Microsporidia: Some Closing Comments. *J. Protozool.* 38; 244s-245s (1991)
13. Diers, J. and McCallister, G.L.: Occurrence of *Cryptosporidium* in Home Daycare Centers in West-Central Colorado. *J. Parasit.* 75; 637-638 (1989)
14. Ditlich, O. Palkovic, L. Sterba, J. Protokovic, J. Loudova, J. and Giboda, M.: The First Finding of *Cryptosporidium baileyi* in Man *Parasitology research.* 77; 44-47 (1991)
15. Dubey, J.P., Speer, C.A., and Fayer, R.: *Cryptosporidiosis Man and Animals*. 1th. ed. 1992
16. Enriquez, J. F. and Sterling, Ch. R.: *Cryptosporidium* Infections in Inbred Strains of Mice *J. Protozool.* 38; 100s-101s (1991)
17. Fayer, R., Andrews, B.L.P. and Blagburn, B.: Efficacy of Hyperimmune Bovine Colostrum for Prophylaxis of Cryptosporidiosis in Neonatal Calves *J. Parasit.* 75; 393-397 (1989)
18. Fayer, R., Perymann, L.E. and Riggs, M.W.: Hyperimmune Bovine Colostrum Neutralizes *Cryptosporidium* Sporozoites and Protects Mice Against Oocyst Challenge. *J. Parasit.* 75; 151-153 (1989)
19. Fayer, R. Ungar, B.L.P.: *Cryptosporidium* AND CRYPTOSPORIDIOSIS. *Microbiological Reviews.* 50; 458-483 (1986)
20. Garcia, L.S., Bruckner, D.A., Brewer, T.C. and Shimizu, R.Y.: Techniques for the Recovery and Identification of *Cryptosporidium* Oocyst from Stool Specimens. *Journal of Clinical Microbiology.* 18; 185-190 (1983)
21. Georgi J.R. and Georgi M.E.: *Canine Clinical Parasitology*. By Loe and Febiger (1991)
22. Greene C.E. DVM, SM: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. ED. W.B. SAUNDERS COMPANY. 1990 p.p. 847-853
23. Gomez, M. M.A. Pozio, E. and Croppo, G.P.: Detection of *Cryptosporidium* Circulating Antigens in Human and Calf Sera. *J. Protozool.* 38; 72s-73s (1991)

24. Gut, J., Peterson, C., Nelson, R. and Leech, J.: *Cryptosporidium parvum*: in Vitro Cultivation in Madin-Darby Canine Kidney Cells. *J. Protozool.* 38; 72s-73s (1991).
25. Guy, J.S., Levy, M.G., Ley, D.H., Barnes, H.J., and Geng, T. M.: Interaction of Reovirus and *Cryptosporidium baileyi* in Experimentally Infected Chickens. *Avian. Dis.* 32:381-390 (1988).
26. Heine, J., Moon, H.W. and Woodmansee, D.B.: Persistent *Cryptosporidium* Infection in Congenitally Athimic (Nude) Mice. *Infection and Immunity.* 43; 856-859 (1984)
27. Hoskins, D., Chisp, C.E., Suckow, M.A. and Fayer, R.D.: Effect of Hypenimmune Bovine Colostrum Raised Against *Cryptosporidium parvum* on Infection of Guinea Pigs by *Cryptosporidium writi*. *J. Protozool.* 38; 185s (1991)
28. Hurley, D. Aguilar, A. Garbay, J. Landeros, J. *Técnicas de Diseño Experimental Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM.* p. p. 8-40 Junio 1981.
29. Kuhn, T.L., Mosler, D.A. and Crawford, D.L.: Effects of Carbohydrates and Lectins on *Cryptosporidial* Sporozoite Penetration of Cultured Cell Monolayers. *J. Protozool.* 38; (1991)
30. Lindsay, D., Blagburn, B.L., Hoerr, F.J., and Smith, P.C.: *Cryptosporidiosis* on Zoo and Pet Birds. *J. Protozool.* 38; (1991).
31. Lindsay, D., Blagburn, B.L., Sundermann, Ch. and Giambone J.V.: Experimental *Cryptosporidium baileyi* Infection in Chickens and Turkeys Producen by Ocular Inoculation of Oocysts. *Avian Diseases.* 31 (1986).
32. Lindsay, D., Blagburn, B.L., Sundermann, Ch. A. Hoerr, F.J. and Giambone, J.J.: *Cryptosporidium baileyi*: Effects of Intra-Abdominal and Intravenous Inoculation of Oocysts on Infectivity and Site of Development in Broiler Chickens. *Avians Diseases.* 31; 841-843 (1987)
33. Lindsay, D., Sundermann, Ch. A. and Blagburn, B.L.: Cultivation of *Cryptosporidium baileyi*: Studies with Cell Cultures, Avian Embryos, and Pathogenicity of Chicken Embryos-Passaged Oocysts. *J. Parasit.* 74: 288-293 (1988)
34. Long, P.: *Coccidiosis of Man and Domestic Animal.* CRC. Press U.S.A. p.p. 152-156 (1990)

35. Martínez, M. G.: Desarrollo de un Modelo Experimental para Cryptosporidiosis Intestinal en Raton Lactante. Tesis de Lic. Q.F.B. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán, México. D.F. (1994).
36. Mateos, P.A., Enriquez, O.J.J. Chavez, G.G. y Sanchez, S.M.R.: Patología Sistemica Veterinaria Vol. III 1a. Edic. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
37. Mead, J.R., Arowood, M.J. and Healey, M.C.: Cryptosporidial Infections in Suid Mice Reconstituted with Human or Murine Lymphocytes. *J. Protozool.* 38: 595 (1991).
38. Mead, J.R., Arowood, M.J. and Sterling, Ch. R.: Antigens of *Cryptosporidium* Sporozoites Recognized by Immune Sera of Infected Animals and Humans. *J. Parasit.* 74: 135-143 (1988)
39. Meulbroek, J.A., Novillo, M.N. and Current, W. L.: An Immunosuppressed Rat Model of Respiratory Cryptosporidiosis. *J. Protozool.* 38: 113s-115s (1991)
40. Merck, INC and Co. Manual Merck de Veterinaria 3a Edic. 1990.
41. Novak, S.M. and Sterling, Ch. R.: Susceptibility Dynamics in Neonatal Balb/c Mice Infected with *Cryptosporidium parvum*. *J. Protozool.* 38: 102s (1991)
42. Nichols, G.L., McLachlan, J. and Samuel D.: A Technique for Typing *Cryptosporidium* Isolates. *J. Protozool.* 38: 237-240S (1991).
43. Organización Panamericana de la Salud. Principios de Epidemiología para el Control de Enfermedades. PROGRAMA AMPLIADO DE LIBROS DE LA O.P.S. 1988 7o. Folleto.
44. Pennyman, L.E., Bjomeby, J.N.: Immunotherapy of Cryptosporidiosis in Immunodeficient Animal Models. *J. Protozool.* 38: 98s-99s (1991)
45. Pennyman, L.E., Riggs, M. W., Mason, P.H. and Fayer, R.: Kinetics of *Cryptosporidium parvum* Sporozoite Neutralization by Monoclonal Antibodies, Immune Bovine Serum, and Immune Bovine Colostrum. *Infection and Immunity* 58: 257-259 (1990).
46. Ramirez, H.Z. y Bernal R. R.: Conatin Método para la Identificación de Ooquistes de *Cryptosporidium* spp., en Material Fecal. *Revista Mexicana de Parasitología* 1: (1988).

47. Rasmussen, K. R., Martin, E. G., Arowood, M.J. and Healey, M.C.: Effects of Dexamethasone and Dehydroepiandrosterone in Immunosuppressed Rats Infected with *Cryptosporidium parvum*. *J. Protozool.* 38: 157s (1991).
48. Regan, S., Cama, V. and Steling, Ch. R.: *Cryptosporidium* Merozoites Isolation and Purification Using Differential Centrifugation Techniques *J. Protozool.* 38: 202s-204s (1991).
49. Riggs, M.W. and Peryman, L.E.: Infectivity and Neutralization of *Cryptosporidium parvum* Sporozoites. *Infection and Immunity* 55: 2081-2087 (1987).
50. Ringler, H.D. and Peter, G. K.: Dogs and Cats as Laboratory ANIMALS p.p.267-269
51. San Martín, H.: Salud y Enfermedad Edit. La Prensa Médica Mexicana 12-13 (1984)
52. Saxon, A. Weinstein, W.: Oral Administration of Bovine Colostrum Anti-Cryptosporidia Antibody Fails to Alter the Course of Human Cryptosporidiosis. *J. Parasit.* 73: 413 - 415 (1987).
53. Scham O.W. *Felina Practice-Hematology Felina practiC.* 11: 32-34 (1981).
54. Soulsby, E. J. L.: *Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos* 7a. Edic. Edit. Interamericana México D. F. 1987.
55. Tilley, M. and Upton, J. S. J.: Sporozoites and Merozoites of *Cryptosporidium parvum* Share a Common Epitope Recognized by a Monoclonal Antibody and Two-Dimensional Electrophoresis. *J. Protozool.* 38: 48s-49s (1991).
56. Upton, J. S. and Curent, W. L.: The Species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporididae) Infecting Mammals. *J. Parasit.* 71: 625-629 (1985)
57. Welzel, C., Lazenby, A., Bellson, P., Medewitt, M., Fleming, H.E. and Barbacci, M.: Intestinal Injury Associated with Splamycin Therapy of *Cryptosporidium* Infection in Aids. *J. Protozool.* 38: 147s (1991).
58. Wayne, O. W. *MOESTADISTICA* 3a. Edic. Edit. Limusa

59. Zar, F., Gelster, P. J. Brown, V. A.: Asymptomatic Carriage of *Cryptosporidium* in the Stool of a Patient with Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Journal of Infectious Diseases* 151:195,1985