

11621
45

UNIVERSIDA NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

**Determinación de la presencia de *Cryptosporidium sp.* en un grupo de
serpientes elegidas al azar de la colección del Laboratorio de
Herpetología de la UNAM Campus Iztacala.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
PRESENTA:**

RICARDO HERRERA RIOS

**ASESORA:
MVZ BLANCA ROSA MORENO CARDENTI**

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2003



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

B



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

UNIDAD DE EXAMENES
DEPARTAMENTO DE CUAUTITLAN

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN. Q. Ma. del Carmen García Mjarez
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

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

"Definición de la presencia de Leishmaniasis en un
grupo de pacientes atendidos en el Centro de Diagnóstico del
Hospital de Aguascalientes, de la ENAH Campus Aguascalientes"
que presenta el pasante Ricardo Herrera Rivas
con número de cuenta 8706474-2 para obtener el título de
Medico Veterinario Zootecnico

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlan Izcahil Mex. a 22 de Octubre de 2002

PRESIDENTE	Dr. Fernando Alba Lardone	<i>[Signature]</i>
VOCAL	MVZ. Victor Quintana Ramirez	<i>[Signature]</i>
SECRETARIO	MVZ. Blanca Rosa Moreno Castellanos	<i>[Signature]</i>
PRIMER SUPLENTE	MVZ. Ignacio Carlos Rangel Rodríguez	<i>[Signature]</i>
SEGUNDO SUPLENTE	MVZ. Gerardo López Irujo	<i>[Signature]</i>

**TESIS CON
FALLA DE LEGEN**

C

AGRADECIMIENTOS:

A todos los que hicieron posible que cumpliera mi meta:
Mis padres, hermanos.
Mis amigos.
Mis maestros.
Y a la institución.

ÍNDICE.

RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
● Generalidades.....	7
● Ciclo de vida del parásito.....	9
● Epizootiología.....	9
● Cuadro clínico.....	10
● Diagnóstico.....	12
● Tratamiento.....	14
● Control.....	16
● Zoonosis.....	17
JUSTIFICACIÓN.....	18
OBJETIVOS.....	19
MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
RESULTADOS.....	25
DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIONES.....	36
RECOMENDACIONES.....	37
BIBLIOGRAFÍA.....	38
ANEXOS.....	41

RESUMEN

La criptosporidiosis es una enfermedad infecciosa importante porque es incurable y muy contagiosa. En el laboratorio de herpetología de la UNAM Campus Iztacala existe el precedente de esta enfermedad que afectó a la colección hace pocos años. Este trabajo se realizó con el fin de seguir el comportamiento del parásito en la población de reptiles del laboratorio y establecer si aún está presente. Se eligió a 30 ejemplares de forma aleatoria, se les elaboró una historia clínica, se tomó una muestra coprológica **directamente del recto** y se hizo un extendido en una laminilla para su posterior coloración y observación al microscopio. Se encontraron cuatro ejemplares que se dieron como positivos a *Cryptosporidium sp* pero que no presentaron signos aparentes de la enfermedad, por lo que se **consideraron como portadores sanos**, solo uno de ellos murió al poco tiempo de tomar la muestra. Los otros 26 resultaron negativos en la prueba y no presentaron ningún signo clínico de la enfermedad. Se puede considerar con estos resultados que la enfermedad está controlada porque no se ha vuelto a presentar aunque también se puede establecer que **permanece latente** si bien por el momento no representa mayor problema, no se puede decir que los ejemplares negativos en esta prueba estén libres de la enfermedad, por lo que es recomendable hacer más pruebas periódicamente.

INTRODUCCIÓN.

Existen aproximadamente 2500 especies dentro del orden *Squamata*, y el suborden *Serpentes*. En la clasificación de McDowell se incluyen tres subórdenes con un total de 16 familias, aunque las especies a las que normalmente tienen acceso los médicos veterinarios (que son las que se tienen como mascotas) pertenecen fundamentalmente a las familias *Boidae*, *Pythonidae* y *Colubridae*. Otras especies, como las serpientes venenosas (familias, *Elapidae* y *Viperidae*), suelen estar reducidas con respecto al punto de vista veterinario a los servicios clínicos en colecciones de centros zoológicos especializados. (McDowell 1987).

Las serpientes mexicanas.

México es un país biológicamente mega-diverso. A medida que esto es conocido, se resalta que los reptiles contribuyen mucho para el lugar privilegiado que ocupa el país. Con un estimado de 717 especies; además, es el país más rico en reptiles, incluso más rico que todo el continente australiano: 686 especies; que Indonesia: alrededor de 600; y mucho más rico que países tropicales considerablemente mayores, como Brasil (467) e India (453). De las especies de reptiles mexicanas, 322 son serpientes; esto es el 44.9%. (Sánchez, O. 1994). Fig. 1 y 2

Las serpientes de México comprenden 250 especies de culebras (familia *Colubridae*, 77.6%), 44 víboras (familia *Viperidae*, 13.66%), 15 coralillos y una serpiente marina (todas ellas de la familia *Elapidae*, 4.96%), cinco serpientes ciegas delgadas (familia *Leptotyphlopidae*, 1.55%), dos tropidofeidos (familia *Tropidopidae*, 0.62%), dos boas (familia *Boidae*, 0.62%), dos serpientes ciegas. (familia *Typhlopidae*, 0.62%) y una chatilla (familia *Loxocemidae*, 0.31%). Fig. 3

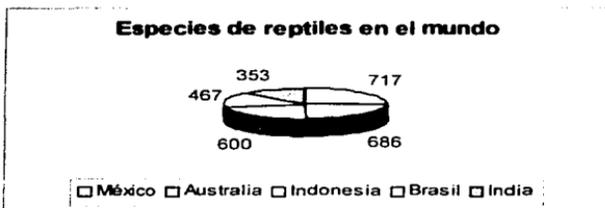


Fig. 1 Distribución de los reptiles a nivel mundial



Fig. 2 Cantidad de especies de serpientes en relación con el total reptiles en México

Más del 75% de las serpientes de México son culebras. Aunque algunas especies de culebras poseen un veneno de potencia moderada, no se ha sabido de ninguna que haya sido responsable de daños graves a la salud o de una muerte humana. Sumando los totales de las culebras, serpientes ciegas delgadas, tropidófidis, boas, y la chatilla, existen 262 especies inocuas. En nuestro país, las serpientes inofensivas representan 81.36% del total; el resto, 18.64% (viboras, coralillos y la serpiente de mar) son venenosas. Y más aun, dentro de esa minoría, no todas son capaces de matar seres humanos con su veneno. (Herpetofauna mexicana. 1993). Fig. 4

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

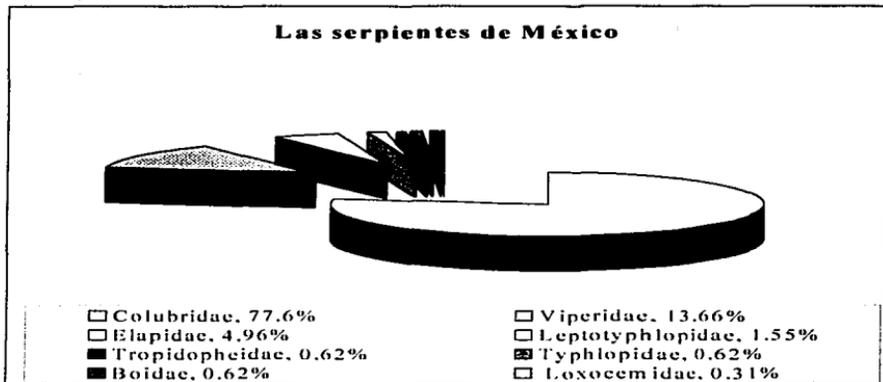


Fig. 3 Gráfica de la proporción de especies de serpientes en México

Las 322 especies mexicanas representan la mayor concentración de taxa de serpientes en un solo país. Además, esa riqueza significa 14.07% del total mundial (que es de alrededor de 2 288 especies). Fig. 5 Las especies mexicanas se agrupan en 86 géneros (21.4% del total mundial, que suma 401 géneros). Diecisiete de estos géneros (19.76%) y 159 de las especies (49.37%) son endémicos, es decir, que únicamente existen en el país. De las 159 especies de serpientes que son endémicas a México, 74 son micro endémicas y su distribución geográfica se restringe a un área menor de 8 000 km² (México tiene una extensión de 1.958.201 km²). Y aun más, 39 especies sólo se conocen de la localidad donde fueron encontradas por primera vez. (Flores-Villela, O. 1991).

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Fig. 4 Proporción de especies venenosas e inofensivas



Fig. 5 Cantidad de especies de serpientes mexicanas

Las patologías de este suborden son muy numerosas, pudiendo verse afectada, generalmente cualquier especie. Existen patologías específicas de familias determinadas, particularmente víricas, como neumonía por paramyxovirus, que afecta a los vipéridos (McDowell, S. B. 1987). Una de las enfermedades parasitarias importante es la criptosporidiosis, que afecta el aparato digestivo. Actualmente es una de las enfermedades más temidas entre los criadores de serpientes y en las colecciones zoológicas. Casi todos los casos descritos en serpientes se han asociado con gastritis crónicas, aunque recientemente se ha publicado un caso de criptosporidiosis biliar en dos ejemplares de *Elaphe guttata* (Cimon *et al.*, 1996).

También es destacable que la mayoría de los casos se dan en animales **mantenidos en cautividad**, siendo escasas las referencias en reptiles de vida libre. Por lo que puede pensarse que **el estrés del cautiverio** aunado a un mal manejo de **temperatura y humedad**, son factores importantes para la aparición de esta enfermedad. (Mader 1996 y Upton *et al.*, 1989).

El epitelio gástrico hipertrofiado es susceptible a la invasión de la flora del estómago, esto también ocurre por un cambio de pH; muchas serpientes terminan con bacteremia. Se ha encontrado que en varios casos de **criptosporidiosis gástrica** en *Crotalus horridus*, estas mueren por invasión y diseminación sistémica por un hongo *Zygomycetes* no descrito. (Montali R. J. 1980).

Cryptosporidium (Generalidades).

Los organismos del género *Cryptosporidium* son coccidias pequeñas intracelulares obligadas que infectan las microvellosidades de las células epiteliales que se encuentran en el tracto digestivo y respiratorio de los vertebrados, miden dependiendo del estadio del ciclo de vida de 2 a 6 μm . (McAllister, C T et al 1995).

Existen dos familias de coccidias verdaderas la *Eimeriidae* y la *Cryptosporidiidae*, que contienen miembros que frecuentemente se alojan en el intestino en vertebrados. La familia *Cryptosporidiidae* contiene solamente un género: *Cryptosporidium*. Todas las especies conocidas son monógenas, es decir, tienen un solo hospedador en su ciclo de vida (Mader 1996). El *Cryptosporidium* tiene una relación taxonómica cercana con otras coccidias verdaderas por ejemplo: *Isospora belli*, *Sarcocystis sp.*, *Toxoplasma gondii* que afectan a humanos y a Eimerias e Isosporas que infectan otros mamíferos y aves (Upton, S. J. et al 1989).

Se considera que son varias las especies de *Cryptosporidium* las que existen y afectan a diferentes grupos de animales; de las que se presentan en mamíferos, incluyendo humanos, *C. parvum* ha sido el más documentado en casos de criptosporidiosis, aunque hay otras especies que aparentemente solo afectan a una especie animal: *C. felis*, *C. andersoni*, *C. muris* y *C. wrairi*. En el caso de los reptiles, *C. serpentis* es el más estudiado. En las aves se han estudiado dos especies, las cuales son: *C. meleagridis* y *C. baileyi*. En peces se ha detectado *C. nassorum* (McAllister et al 1995). Cuadro 1

Antes de 1980 las infecciones con especies de *Cryptosporidium*. eran consideradas poco comunes en animales y en humanos; se creía que eran resultado de patógenos oportunistas debido a una inmunodeficiencia del individuo. Para 1982 el concepto de estos protozoarios cambió; y ahora son considerados importantes como causa de diseminación de la enfermedad diarreica en humanos y en algunos animales silvestres y domésticos. (Mader 1996).

Especies de *Cryptosporidium*

Especie	Hospedador	Sitio de Infección
<i>C. andersoni</i>	Bovinos	Abomaso
<i>C. baileyi</i>	Pollos	Cloaca/ tracto respiratorio /riñón
<i>C. felis</i>	Gato doméstico	Intestino
<i>C. meleagridis</i>	Pavo	Intestino/ tracto respiratorio
<i>C. muris</i>	Roedores	Estómago
<i>C. nasonum</i>	Peces	Estómago/intestino
<i>C. parvum</i>	Mamíferos	Intestino (predominantemente)
<i>C. saurophilum</i>	Reptiles	* Actualmente en investigación
<i>C. serpentis</i>	Reptiles	Estómago principalmente
<i>C. wrairi</i>	Cuyo/cobayo	Intestino

Cuadro 1 (www.edfound) * No afecta a serpientes y no se aloja en intestino (O'Donoghue, P. J. 1995).

Los primeros reportes confirmados de este parásito en reptiles fueron hechos por Brownstein y colaboradores en 1977 y McKenzie y colaboradores en 1978. Desde ese momento, la criptosporidiosis ha sido diagnosticada con mayor frecuencia y puede ser un problema serio en reptiles en cautiverio (O'Donoghue, P. J. 1995).

La infección por diferentes especies de *Cryptosporidium* han sido reportados en más de 57 especies de reptiles, incluyendo 40 especies de serpientes (boidos, colúbridos, elápidos, vipéridos), 15 especies de lagartijas (agámidos, gecónidos, camaleónidos, helodermátidos, lacértidos, teído y varánidos) y dos especies de tortugas (ambas testudínidas) (O'Donoghue, P. J. 1995). El análisis morfométrico de los ooquistes de las serpientes y lagartijas revelaron por lo menos 5 tipos morfológicos, uno de los cuales coincidió con las descripciones previas de *Cryptosporidium serpentis*. (Mader 1996).

Cryptosporidium serpentis es el nombre común de un parásito de los reptiles. Aunque Upton et al sugiere que son más las especies de *Cryptosporidium* que afectan a los reptiles (McAllister et al 1995) y por lo menos se ha identificado una más. Este parásito tiene el potencial para causar una infección tan severa que puede provocar la muerte y su diagnóstico puede ser muy difícil de realizar. El nombre de *Cryptosporidium* quiere decir “esporoquistes ocultos”. Hasta ahora todos los tratamientos utilizados para esta enfermedad han sido poco efectivos. (MR Cranfield, T Graczyk et al. 1999).

Ciclo de vida del parásito.

Los ooquistes esporulados excretados por el hospedero infectado contienen cuatro esporozoítos cada uno. Luego de ser ingeridos (y también posiblemente inhalados) ocurre la **exquistación** (liberación de trofozoítos) dentro del nuevo hospedador. Los esporozoítos son liberados y parasitan las células del epitelio gastrointestinal (y a veces del aparato respiratorio).

Una vez en las células, el parásito experimenta una multiplicación asexual (mero o esquizogonia) y luego una multiplicación sexual (gametogonia). Después de la fertilización del macrogameto por los microgametos, se forman ooquistes que esporulan dentro del hospedero infectado y luego son excretados. Debido a que los ooquistes esporulan dentro del hospedador, puede haber auto-infección. Se forman dos tipos de ooquistes. Los de paredes delgadas, que son los responsables de perpetuar la auto-infección y los ooquistes de paredes gruesas, que son los eliminados por la material fecal (Fowler, M. E., Miller, R. E. 1999). Fig. 6

Epizootiología.

La transmisión es vía oral-fecal. Los ooquistes de *Cryptosporidium* **esporulan dentro de las células hospedadoras** y son infectantes inmediatamente después de ser liberados en las heces (en esto se diferencian de otros coccidios como *Eimeria* o *Isospora*, que esporulan fuera del hospedador).

La enfermedad no es auto-limitante, y aunque todavía no se conoce con exactitud se cree que la principal fuente de infección en serpientes son otros reptiles, descartándose a los ratones con criptosporidiosis (Tilley *et al.*, 1990). El diagnóstico *in vivo* se realiza mediante la detección de ooquistes de criptosporidios en heces. Los ooquistes de *Cryptosporidium* son muy resistentes a los desinfectantes comunes y puede resistir durante meses si se mantiene en temperatura baja y con humedad, la forma más efectiva para eliminarlos es por desecación o aumentando la temperatura a 60° C o más. (Fowler *et al.* 1999).

Algunas serpientes pueden comportarse como portadores sanos, es decir, que no presentan signos de la enfermedad; eliminando periódicamente ooquistes esporulados por heces, esto plantea la posible existencia de varias especies de *Cryptosporidium* con distinta virulencia, o bien la posibilidad que sea el sistema inmune de cada individuo el que determina la severidad de la infección. (Upton *et al.*, 1989).

Por otra parte, la posibilidad de que más de una especie de *Cryptosporidium* parasite a reptiles podría explicar las diferentes lesiones descritas en serpientes y saurios (Upton *et al.*, 1989).

Cuadro Clínico

El curso clínico de la criptosporidiosis en las serpientes es marcadamente diferente al de los mamíferos y aves. En serpientes, *Cryptosporidium* se localiza normalmente en la mucosa gástrica. Aunque los ooquistes pueden salir en las heces por muchos meses incluso años (Cranfield M R; T. K. Graczyk: 1995). La mortalidad en estas especies es baja en lotes donde la prevalencia es alta y que incuban o mantiene los ooquistes en sus heces, se han reportado que en 20 años los animales incluso no manifiestan signos clínicos. La mayoría de las serpientes positivas son eliminadoras intermitentes de ooquistes, aunque **hay periodos en los cuales los animales salen negativos a ooquistes** (Mader 1996).

Todos estos casos pasan desapercibidos a no ser que se estén efectuando muestreos de heces rutinariamente, estos estudios deben ser hechos por técnicos muy hábiles para demostrar la presencia de dicho parásitos La criptosporidiosis es más frecuentemente diagnosticada por los signos clínicos que pueden incluir: **anorexia, regurgitación postprandial, persistente o intermitente, donde se eliminan ratones no digeridos de 3 a cuatro días después de la ingesta, letargia, hinchazón de la parte media del cuerpo y pérdida de peso progresivo.** (Mader 1996).

Las lesiones asociadas con criptosporidiosis en serpientes consisten en gastritis proliferativa caracterizada por la hiperplasia e hipertrofia de las células mucosas de las glándulas gástricas y consecuente atrofia de las células de las glándulas. (Cranfield & Graczyk, 1996).

En los casos más graves existe incluso una sustitución de las células granulares, edema de la lámina propia y **submucosa gástrica, presencia de infiltrado inflamatorio mixto y necrosis de la mucosa gástrica se observa exagerada rugosidad de las papilas gástricas en donde se encuentra mucho moco adherido El exceso en la producción de moco y la secreción inadecuada de enzimas gástricos origina un síndrome de mala digestión, pérdida progresiva de peso, y finalmente muerte.** La parasitación **también incrementa la susceptibilidad a padecer infecciones bacterianas secundarias.** Microscópicamente se pueden observar fácilmente los parásitos con relación a la porción apical de las células epiteliales de las glándulas gástricas(Cranfield & Graczyk, 1996). Fig. 7.

En la necropsia son característicos el **engrosamiento de la mucosa gástrica** y la consiguiente **disminución del diámetro de la luz del estómago.** Las petequias, sufusiones en la mucosa; además de la necrosis, son hallazgos frecuentes. (Cranfield & Graczyk, 1996).Fig. 8.

La mayoría de los casos que se han reportado hasta el momento en lagartos, tienen que ver con infecciones gástricas de carácter subclínico y existen dos reportes de casos que han afectado a tortugas, en estos se describen signos clínicos de gastritis y regurgitación, similar a lo que sucede en serpientes (Upton *et al.*, 1989).

Diagnóstico.

Hasta hace poco tiempo no existían pruebas serológicas o inmunológicas muy confiables para determinar a las serpientes que habían estado expuestas a este parásito. Solo se podían referir animales positivos si se observaban ooquistes en las heces y negativos si no se observan. Se pueden observar ooquistes por examen directo de heces, con coloración de Ziehl-Neelsen modificado, si bien con esta técnica sigue siendo difícil realizar un diagnóstico 100 % seguro. Fig. 9. (Mader 1996).

Se ha utilizado la endoscopia para hacer lavados, y un resultado negativo no significa que el animal sea negativo. Por lo que esta técnica no es necesariamente más efectiva que la anterior. (Wright K; 1997). Aunque se ha utilizado este método de forma experimental para diagnosticar la criptosporidiosis subclínica. Se pueden efectuar frotis del moco que rodea el alimento regurgitado y tiñéndolo con Ziehl -Neelsen modificado. (Graczyk, T.K.; et al 1996).

Algunas veces se efectúan biopsias gástricas que son de relativa seguridad, pero que llegan a tener resultados variables. Las biopsias positivas auxilian en el pronóstico del caso, pero en encontrar una distribución poco uniforme del parásito sobre la mucosa gástrica hace difícil interpretar las biopsias negativas (Coles, E. H., 1986).

Cryptosporidium serpentis

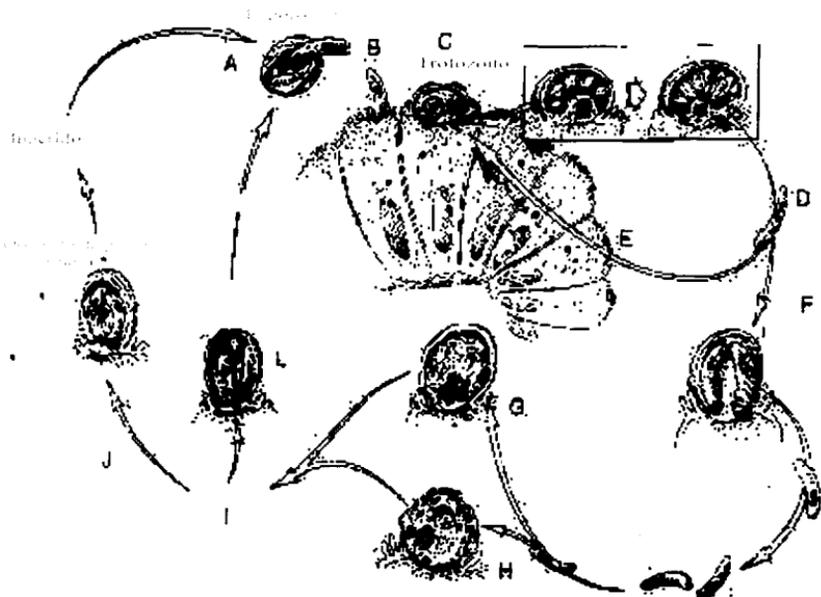


Fig. 6 Ciclo de vida del parásito (Mader 1996)¹

¹ Modificado por Ricardo Herrera Rios

Se pueden efectuar estudios con sulfato de bario lo cual puede diferenciar entre oclusión gástrica debido a la hinchazón de la mucosa y la oclusión debida a un cuerpo extraño, esta técnica nos ayuda a que exista un cambio de densidad y se observe el bario hasta donde puede entrar y si la distribución de la lesión es homogénea o localizada (Coles, E. H., 1986).

El examen a la necropsia es importante, porque se puede ver directamente el **engrosamiento de la mucosa, el edema y las hemorragias**. Se deben cortar varias muestras del intestino porque hay ocasiones en que las serpientes que salen positivas en heces, han sido negativas en la necropsia cuando se toman pocas muestras. (Coles, E. H., 1986).

En la actualidad existe un método de diagnóstico basado en una reacción **antígeno-anticuerpo** que se utiliza para detectar *C parvum* en mamíferos. Este método se está utilizando para detectar *C serpentis* en reptiles con buenos resultados, más del 80 % de las muestras probadas resultan positivas y se ha encontrado que no hay falsos negativos con esta técnica. (Graczyk, T K; MR Cranfield, 1995)

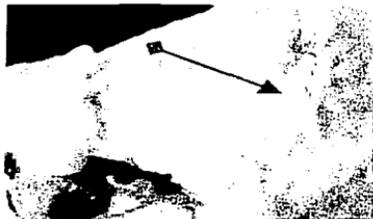
Tratamiento

No se ha reportado tratamiento 100% eficiente para el control de *Cryptosporidium*. Las sulfas con trimetoprim (30 mg/kg) una vez al día por 14 días y luego 1 a 3 veces semanalmente por muchos meses, Espiramicina 160 mg/kg por 10 días y paromomicina 100 mg/kg por 7 días y luego 2 veces por semana por tres meses. Se ha visto que son efectivos para reducir los signos clínicos y también reducen la eliminación de los ooquistes (Mader 1996).



Criptosporidios en las glándulas gástricas de un ejemplar de *Crotalus* sp
(www4.ulpgc.es)

TIPO CON
 FALLA



Engrosamiento de la mucosa gástrica
(www.afip.org/vetpath)



C. serpentis de un ejemplar de *Crotalus* sp
(www4.ulpgc.es)

No obstante, estos fármacos resultan inefectivos y su uso por largo tiempo puede ser tóxico para la serpiente (McAllister et al 1995). Aunque la espiramicina y la paromomicina producen resultados fecales negativos, por resultados a la necropsia revelan organismos de *Cryptosporidium* presentes en la mucosa gástrica. No se han hecho necropsias de los animales tratados con los otros antibióticos, aunque la colección de biopsias gástricas después del tratamiento con sulfas y trimetoprim fueron negativas. Junto con estos tratamientos se les debe de dar a las serpientes tratamiento de soporte como elevar la temperatura a $\geq 27^{\circ} \text{C}$, suero subcutáneo e intubación digestiva para proveer alimento de alta digestibilidad. (Cranfield M R; T. K. Graczyk 1994)

Esto mejora el pronóstico de la enfermedad en los animales. Se ha reportado la utilización de calostro hiperinmune bovino y como posibilidades para el tratamiento en serpientes. (Graczyk, T. K., M. R. Cranfield, et.al, 1995 y 1999)

Control

Los elementos importantes para el control de esta enfermedad son: higiene estricta y un buen manejo de los animales, es decir, tener separados a los sospechosos y dejarlos siempre al final cuando se haga la limpieza de los encierros. (Cranfield, M.R.; Graczyk, T.K. 1995)

En mamíferos la enfermedad es auto-limitante, cuando se trata de individuos inmunocompetentes y se desarrolla la infección en los inmunodeficientes. Esto puede ser válido para los reptiles, por ejemplo en el caso de las serpientes de cascabel que son muy nerviosas se aumenta la incidencia al cuadro patológico de la enfermedad. (Mehren, K.G., Crawshaw, G.J., 1999)

La eliminación de cualquier problema, ya sea ambiental, nutricional, de otras enfermedades, así como reducir el manejo a lo estrictamente necesario puede ser tan útil y efectivo como el uso de cualquier fármaco o tratamiento contra *Cryptosporidium*. (Frye, F.L., 1991)

Actualmente las formas más efectivas de romper el ciclo de vida del parásito, en experimentos *in vitro* son: calor húmedo, congelación y desecación. De 7 desinfectantes comunes, solo el amoníaco al 5%, y formalina salina fueron efectivos en la eliminación de ooquistes infectivos después de 18h de contacto a 4° C (Campbell & Tzipori, 1982). Los desinfectantes no efectivos son: Iodóforos al 1-4 %, el ácido cresílico al 2.5-5 %, hipoclorito de sodio al 3 %, y el cloruro de benzalconio al 5-10 % a 0.2 molar. (Mader 1996).

La infectividad de los organismos fue neutralizada por exposición a calor húmedo 45-60° C durante 5-9 minutos. Debido a que los ooquistes se mantienen con capacidad de infectar aún a temperaturas de 4° C hasta por 6 meses.

Es necesario hacer una limpieza profunda que incluya la remoción de materia orgánica a todos los implementos que están en contacto con la serpiente: cajas, bebederos, piedras, ramas y el sustrato que se utilice. Se recomienda lavar con una solución amoniacal y se deja secar por lo menos 3 días. Los animales portadores deben ser separados de los no portadores y mantenerse aislados (Jacobson, Elliot R., 1994).

Zoonosis

Aunque *C. parvum* y *C. muris* pueden causar una infección cruzada en algunos mamíferos y los criptosporidios aviares han infectado a estos, en experimentos limitados, hasta el momento no hay evidencia definitiva que indique, ya sea en forma natural o experimental, que *C. serpentis* tenga la capacidad de infectar a mamíferos. (O'Donoghue, P. J. 1995)

Sin embargo, debido a que los reptiles son portadores de otros organismos patógenos potenciales, se debe implementar un protocolo de higiene para la gente, particularmente con niños y con inmunodeficientes, especialmente con estos porque son susceptibles de enfermarse prácticamente de cualquier cosa, incluso se han reportado casos de infección con *C. muris*, por lo que no sería raro que alguna persona con síndrome de inmunodeficiencia pudiera contagiarse. (O'Donoghue, P. J. 1995 y Barnard, S., Upton S.J., 1994)

JUSTIFICACIÓN.

La criptosporidiosis es una enfermedad que afecta a reptiles principalmente en cautiverio, en México, existen pocos estudios que tengan relación a esta enfermedad, por esta situación es sumamente importante comenzar a trabajar en todo lo relacionado con este tema y no solo con esta enfermedad sino con las enfermedades de reptiles en general.

Un aspecto que se debe de tomar en cuenta es que el hecho de no saber nada acerca de la criptosporidiosis o de alguna otra enfermedad (por ejemplo: curso, modo de transmisión o que tan virulenta sea) es más peligroso que el hecho de que exista o no dicha enfermedad en el país, por lo que el problema se va acrecentando.

La consecuencia de esta situación es que, conforme pase más tiempo será todavía más difícil entender como se desarrolla la infección, y cuales son los factores que la desencadenan o si hay más de una especie de *Cryptosporidium* en México y de este modo poder encontrar un método de control que sea útil, de fácil aplicación y que no sea de costo muy elevado; así como dar con un tratamiento efectivo para poder combatirla.

Dentro de la colección de reptiles de la UNAM Campus Iztacala ya se ha reportado la enfermedad hace algunos años. Este trabajo se hace pensando en la conveniencia de seguir el comportamiento del parásito desde que se registró en primer caso hasta la actualidad y así poder saber si existen individuos que sean positivos al *Cryptosporidium Serpents*.

OBJETIVOS.

➤ **Objetivo general:**

- ❖ Determinar la presencia de *Cryptosporidium* sp. En un grupo de serpientes mediante la observación directa al microscópio de muestras de heces usando la coloración de Ziehl Neelsen.

➤ **Objetivos particulares:**

- ❖ Identificar ejemplares clínicamente sanos, positivos a *Cryptosporidium* sp (portadores sanos), a través de historia clínica y pruebas empleadas.
- ❖ Identificar ejemplares clínicamente enfermos, positivos a *Cryptosporidium* sp. (animales que padecen la enfermedad) a través de historia clínica y pruebas empleadas.
- ❖ Identificar ejemplares clínicamente sanos, negativos a *Cryptosporidium* sp a través de historia clínica y pruebas empleadas.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se trabajó con 30 serpientes, pertenecientes a los Géneros: *Alsophis*, *Boa*, *Diadophis*, *Drymarchon*, *Elaphe*, *Lampropeltis*, *Leptophis*, *Masticophis*, *Nerodia*, *Oxibelis*, *Pituophis*, *Python*, *Salvadora*, *Thamnophis*, *Trimorphodon*. Todos ellos pertenecientes a la colección del laboratorio de Herpetología de la U.N.A.M. Campus Iztacala. Los ejemplares fueron elegidos al azar utilizando las tablas de dígitos aleatorios (G) de bioestadística (Daniels 1984). (Anexo 1)

Las serpientes se encuentran tanto en exhibición como en encierros individuales dentro del laboratorio, los encierros son variables según la ubicación de los animales.

Los encierros pueden ser cajas de plástico con tapa, de diferentes dimensiones, de acuerdo con el tamaño de la serpiente, Fig.10 o existen estructuras adaptadas con dimensiones similares para algunas especies venenosas, Fig.11 el sustrato que utiliza para los encierros que se encuentran en el interior del laboratorio, es por lo general papel periódico y "peat moss" o musgo, para algunas especies. Para los que están en exhibición el tipo de encierro y el sustrato difiere, está adecuado al hábitat de la especie que se trate: arena, tierra de hojas, agua, piedras, ramas. Fig. 12.

Los animales están a una temperatura constante de 25° C, son alimentados una vez por semana. El alimento que se da para la mayoría de las serpientes está compuesto por roedores principalmente, normalmente se dan vivos y de un peso que corresponde al 10 % del peso de la serpiente; hay algunas a las que se les proporciona el ratón muerto. Las serpientes que no consumen ratones, porque se trata de especies pequeñas que son insectívoras, estas se alimentan con insectos (serpientes ciegas delgadas, tropidófidis).

Las especies de serpientes que no tienen como parte de su dieta habitual a los roedores, son acostumbradas a consumirlos; esto se logra "impregnando" el olor de la presa natural al ratón frotando por ejemplo, una rana en el caso de serpientes raneras. En algunos casos se opta por dar alimentación forzada hasta que se adaptan al tipo de alimento.

Una vez elegidos los ejemplares se procedió a la obtención de la muestra de heces de cada uno de ellos, con ayuda de un hisopo para hacer una toma directa del recto (Fig.13), programándose 5 serpientes por día, para su posterior proceso de coloración. (Anexo 2) Antes de tomar la muestra se llenó una hoja clínica que contendrá los datos del animal: género, especie, número. (Anexo 3)

Se usaron 30 portaobjetos, 30 hisopos estériles de diferente tamaño según la especie de serpiente, para tomar la muestra; 30 tubos de ensaye, que sirvieron para colocar el hisopo; guantes, microscopio, metanol absoluto, Ac. Sulfúrico al 4%, Cristales de Fucsina básica, Alcohol etílico al 99%, Cristales de fenol licuado, Glicerol químicamente puro, DMSO, Agua destilada, azul de metileno al %, Ácido Acético Glacial (99.5%)

Preparación del colorante (Anexo 4)

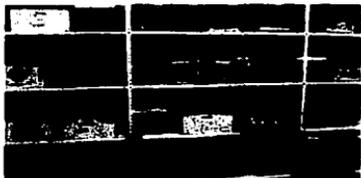
Técnica de ácido-resistente (Ziehl-Neelsen) modificada.

- Se hace un extendido de heces en un portaobjeto y se seca al aire.
- Los portaobjetos son prefijados con metanol absoluto por 10 segundos.
- Las laminillas se tiñen en una solución de carbol fucsina-DMSO por lo menos 5 minutos.
- Las laminillas se lavan en agua destilada hasta que el exceso de solución se haya lavado (10 a 30 segundos por laminilla)
- Se tiñen las laminilla con azul de metileno al 3 % para contrastar el fondo de la misma.
- Las laminillas se lavan en agua destilada
- Se ponen en las laminillas un contrastador decolorante (Ac. Sulfúrico al 4%) por lo menos 1 minuto;
- Se lava por 10 segundos a poca presión de aguan, y se permite que se seque al aire. Fig. 15
- Con un hisopo se pone una película delgada de aceite de inmersión en la laminilla teñida y se revisa al microscopio óptico.

- La laminilla se va observando con el objetivo seco fuerte y las partículas sospechosas se observan bajo aumento de 100x. Los ooquistes se observan de color rosa brillante contra un fondo de color verde pálido. Los ooquistes miden de 4 a 5 μm con una vacuola interna típica de material condensado en uno de los polos. Se pueden observar fantasmas o paredes vacías de los quistes. Estas no se tiñen adecuadamente y parecen como espacios vacíos del tamaño típico y forma del quiste sin tener estructuras internas.
- Otras partículas que se pueden confundir con los ooquistes de *Cryptosporidium* no se tiñen igual, las células inflamatorias no son positivas a esta coloración y se ven de color azul-verdoso; los eritrocitos son parcialmente ácido rápidos y tienen una superficie que se llega a observar de tonalidad café o negro además tiene una superficie rugosa geométrica.

Se consideró como positivos a los ejemplares cuya muestra presente una estructura de forma esférica con pared gruesa, que se tiña de color rojizo o rosa intenso, y que contenga pequeñas estructuras en su interior de un color oscuro.

Todo aquel que no presentó esta estructura se consideró como negativo.



Encierros de plástico



Encierros de madera



Diferentes tipos de exhibidores adaptados según la especie.



Region donde se localiza la cloaca



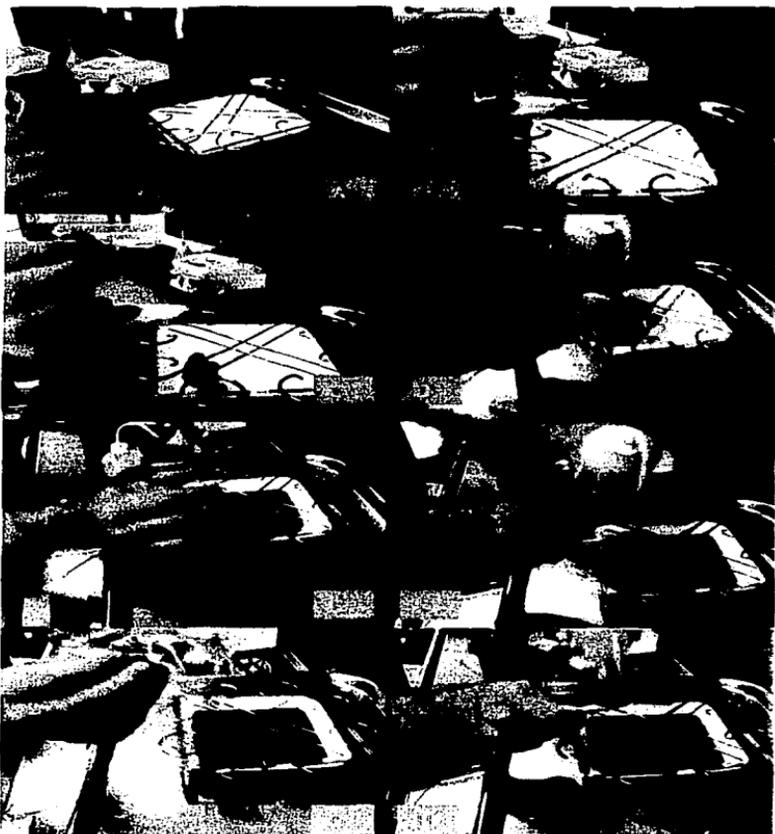
Introducción del hisopo



Espermatozoide



Estructura sospechosa



Proceso de coloracion Extendido Fijado con metanol Carbollucina,
Enjuague. Azul de metileno. Enjuague. Acido sulfurico. Enjuague final

RESULTADOS

	Género	Número de ID	Ziehl Neelsen	Descripción	Observaciones
1	Alsophis	1389	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo rosado con algunas áreas azules y abundantes fibras vegetales. Al acercamiento se observa gran cantidad de células, en su mayoría epiteliales. Hay escasas bacterias teñidas de rojo (cocos y bastones) y algunos cristales de diferente forma y tamaño. También se ven algunas estructuras azules de forma ovoide.	Clínicamente sano
2		71	Positivo	Con poco aumento se ve un fondo uniforme azuloso con algunas fibras vegetales dispersas. Al acercarse se puede observar abundante celularidad y escasos cristales de diferente tamaño y forma así como una gran cantidad de bacterias (cocos y bastones) en su mayoría teñidos de rojo y algunas azules. Se observa unas estructuras redondeadas de color rojo Fig. 16	El ejemplar no presenta ningún signo de enfermedad
3	Boa	1679	Negativa	Con poco aumento se observa un fondo de color azul uniforme con poco sedimento y algunas fibras vegetales. Al acercamiento se ven abundantes cristales de diferente tamaño y forma así como escasas bacterias (bastones) teñidas de rojo. Hay pocas células epiteliales y algunas inflamatorias, algunas estructuras de forma esférica sin teñir.	Las estructuras esféricas pueden ser otras coccidias.
4		1681	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo azuloso uniforme con algunas fibras vegetales. Al acercamiento se pueden ver abundantes bacterias (en su mayoría bastones), escasos cristales de diferente tamaño y forma. Hay pocas células epiteliales, también se observan algunas estructuras ovaladas que pueden ser huevos de nematodos.	Aunque se observan huevos de nematodos no hay pérdida de peso

RESULTADOS

	Género	Número de ID	ZIEHL Neelsen	Descripción	Observaciones
5	Boa	1821	Negativo	Se observa un fondo azul con algunas zonas de color rosa pálido, con pocos cristales de diferente tamaño y forma, así como algunas fibras vegetales, al acercamiento se aprecia abundante celularidad y bacterias en su mayoría bastones que se tiñen de rojo.	Clinicamente sano
6		1932	Positivo	Se observa un fondo rosa pálido uniforme con gran cantidad de cristales de diferente tamaño y forma. Hay escasa celularidad y abundantes bacterias (cocos y bastones) que se tiñen de rojo. También se ven algunas estructuras ovoides compatibles con huevos de nematodos, así como algunas estructuras redondeadas de pared gruesa	Este ejemplar no muestra ningún signo de la enfermedad
7		2892	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo en su mayoría de color azul combinado con algunas zonas rosadas, escasas fibras vegetales y poco sedimento. Hay abundantes cristales de distintas dimensiones y formas, escasa celularidad y algunas bacterias teñidas de rojo (en su mayoría bastones).	Clinicamente sano
8		3824	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo de color azul con algunas zonas de color rojo. Al acercamiento se ve una gran cantidad de cristales de diferente forma y tamaño; baja cantidad de células epiteliales y algunas bacterias (bastones) teñidas de rojo.	Clinicamente sano

RESULTADO

	Género	Número de ID	Ziehl Neelsen	Descripción	Observaciones
9	Boa	4125	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo uniforme de color azul y algunas fibras vegetales. Al acercamiento se ve abundante celularidad, cristales de diferente tamaño y forma. Hay estructuras de forma esférica sin teñir.	Posible presencia de otras coccidias, no muestra signos de algún trastorno.
10	Elaphe	4053	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo uniforme de color azul, algunas fibras vegetales dispersas y escaso sedimento. Al acercamiento se ven abundantes bacterias teñidas de color rojo, en su mayoría bastones.	Clinicamente sano
11	Drymarchon	4127	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo rosado uniforme con zonas azules dispersas y fibras vegetales. Al acercamiento se ven abundantes bacterias teñidas de rojo (cocos y bastones), así como cristales de diferente tamaño y forma y escasa celularidad. También se observan algunas estructuras de forma esférica	Animal que fue decomisado en junio de 2002, clínicamente sano.
12	Lampropeltis	13	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo de color azul con algunos puntos de color rojo y fibras vegetales. Al acercamiento se ve moderada cantidad de cristales de diferente tamaño y forma, escasas bacterias (cocos y bastones) teñidas de rojo, abundantes células epiteliales.	Clinicamente sano.

RESULTADO

	Género	Número de ID	Ziehl Neelsen	Descripción	Observaciones
13	Leptophis	4099	Positivo	Con poco aumento se observa un fondo rosado uniforme con algunas fibras vegetales dispersas. Al acercamiento se ve escasa celularidad, bacterias teñidas de rojo (bastones). También se observan algunas estructuras de forma esférica de color rojizo con puntos oscuros en su interior: <i>Cryptosporidium</i> sp	Este ejemplar se encontró muerto el día 9/04/02. No se hizo necropsia ni examen histopatológico por el avanzado edo. de descomposición.
14	Masticophis	3588	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo color rosa con zonas teñidas de azul y con abundantes fibras vegetales y sedimento. Al acercamiento se ve gran cantidad de células epiteliales y algunas inflamatorias. Hay espermatozoides, Fig. 1 ^o escasos cristales de diferente tamaño y forma, y poca cantidad de bacterias (bastones) teñidas de rojo.	Clinicamente sano.
15	Nerodia	3462	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo uniforme azuloso con algunas zona rojizas dispersas. Al acercarse se pueden apreciar algunas estructuras ovoides de tamaño considerable. Escasos cristales de diferente forma y tamaño. Abundante celularidad y bacterias.	Clinicamente sano.

RESULTADOS

	Género	Número de ID	Ziehl Neelsen	Descripción	Observaciones
16	Oxibelis	3481	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo de color azul con abundantes fibras vegetales y sedimento. Al acercamiento se ven escasas bacterias (bastones) teñidas de rojo, moderada cantidad de células epiteliales. También se observan estructuras ovoides.	Clinicamente sano. Con posible presencia de huevos de nematodo.
17		1116	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo de color azul con algunas fibras vegetales y escaso sedimento. Al acercamiento se ve poca cantidad de cristales abundantes bacterias (bastones) teñidas de rojo y espermatozoides.	Clinicamente sano.
18	Pituophis	2016	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo uniforme azuloso y algunas fibras vegetales. Al acercarse se ven abundantes células epiteliales, escasos cristales y moderada cantidad de bacterias (cocos y bastones) teñidas de rojo.	Clinicamente sano.
19		2107	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo azul y rojo, fibras vegetales. Al acercamiento se ven abundantes bacterias (bastones) teñidas de rojo, escasas células epiteliales y células inflamatorias, cristales y algunas estructuras ovoides	En este ejemplar se aprecia una mayor cantidad de bacterias, pero no presenta signos clínicos de algún trastorno digestivo.

RESULTADOS

	Género	Número de ID	Ziehl Neelsen	Descripción	Observaciones
20		2348	Positivo	Con poco aumento se observa un fondo azul y rojo. Al acercarse se ven abundantes bacterias (cocos y bastones) teñidos de rojo. Escasos cristales, algunas células epiteliales. Hay una estructura redondeada de paredes delgadas y con algunos puntos oscuros en su interior se considera como <i>Cryptosporidium</i> sp	Este animal no muestra ningún signo aparente de enfermedad. Portador sano
21		2468	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo uniforme color rojo y azul y fibras vegetales. Al acercarse se ven abundantes bacterias teñidas de rojo. (bastones). Hay escasos cristales y células epiteliales. Se observa una gran cantidad de espermatozoides.	Clinicamente sano.
22		2925	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo rojo y azul, algunas fibras vegetales. Al acercamiento se ven abundantes cristales. Hay escasa celularidad, moderada cantidad de sedimento.	Clinicamente sano.
23		3031	Negativa	Con poco aumento se observa un fondo rojo y azul al acercarse se ven abundantes bacterias teñidas de rojo. Hay escasa celularidad y cristales, también se observan fibras vegetales.	Clinicamente sano.

RESULTADOS

	Género	Número de ID	Ziehl Neelsen	Descripción	Observaciones
24	Pituophis	3267	Negativa	Con poco aumento se observa un fondo azul y rojo con algunas fibras vegetales y escaso sedimento. Al acercamiento se ven cristales así como abundantes bacterias (bastones) teñidas de rojo. Hay baja cantidad de células inflamatorias, también se observan estructuras de forma esférica.	Se ven estructuras que tienen una forma parecida a <i>Cryptosporidium</i> sp pero no se tiñen de rojo.
25		3464	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo de color azul con rojo, y algunas fibras vegetales. Al acercamiento se ven poca cantidad de bacterias (cocos y bastones) teñidas de rojo, hay escasos cristales, algunas estructuras ovoides, y células epiteliales.	Las estructuras ovoides que se ven pueden ser huevos de nematodos y aparentemente no causan problemas.
26		4200	Negativa	Con poco aumento se observa un fondo de color azul, uniforme con algunas fibras vegetales dispersas. Al acercamiento se ve abundantes células epiteliales, pocos cristales de diferente tamaño y forma. Hay poca sedimento, moderada cantidad de bacterias (en su mayoría bastones) teñidas de rojo.	Clinicamente sano.

RESULTADOS

	Género	Número de ID	Ziehl Neelsen	Descripción	Observaciones
27	Python	3688	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo azul con algunas fibras vegetales y sedimento. Al acercarse se ve gran cantidad de cristales y bacterias (bastones) teñidas de rojo. Hay espermatozoides, células epiteliales en poca cantidad y algunas estructuras ovoides.	Clinicamente sano, con posible presencia de huevos de nematodos.
28	Salvadora	2322	Negativo	Con poco aumento se puede ver un fondo azulado uniforme con fibras vegetales. Al acercamiento se observan bacterias teñidas de rojo (cocos), abundante celularidad y escasos cristales.	Clinicamente sano.
29	Thamnophis	3184	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo color rojo y azul con fibras vegetales y escaso sedimento. Al acercamiento se ven abundantes células epiteliales y bacterias teñidas de rojo (bastones).	Clinicamente sano.
30	Trimorphodon	3688	Negativo	Con poco aumento se observa un fondo de color azul con rojo, fibras vegetales y escaso sedimento. Al acercamiento se ven pocas bacterias (cocos y bastones) teñidas de rojo. Hay baja celularidad.	Clinicamente sano.

DISCUSIÓN

Ninguna otra nación tiene el privilegio de poseer tanta variedad de especies de serpientes como México. Así como ninguna otra nación tiene a su cargo una obligación mayor hacia la conservación de la diversidad de serpientes. Tanto mayor es la obligación, por el hecho de que las serpientes han llegado a ser un símbolo internacional de nuestras raíces históricas. Las características biológicas de estas, aunado a la ignorancia de la gente que convive con ellas las hacen vulnerables, y nuestro compromiso para asegurar la permanencia de las serpientes debe ser claramente visible en los hechos más que en papel (Sánchez, O. 1994).

Este parásito es sumamente pequeño y es muy fácil que se le pase por alto en el examen microscópico. (McAllister, C T; R Lenington 1995) Debido a que existen periodos donde no se eliminan estos parásitos, más del 40% de los resultados pueden ser falsos negativos (Graczyk, T K; MR Cranfield, 1995 y Wright K; 1997)

La criptosporidiosis en serpientes parece presentarse en dos síndromes principales; uno de los cuales es el portador asintomático que elimina al parásito durante mucho tiempo incluso años, en contraste con los mamíferos que se recuperan completamente después de la infección. El otro síndrome, del cual la serpiente indigo es un ejemplo, es el que se caracteriza por el engrosamiento gástrico y la regurgitación. (Klingererg, R.J. 1996)

De igual forma se deben considerar otros aspectos que pueden afectar los resultados: número de muestreos a realizar, el momento mismo de realizarlo. Hasta ahora, la prueba que puede considerarse como la más efectiva, es la llamada Meriflour, que ha mostrado un alto porcentaje en los resultados positivos.

Hay muchos misterios acerca de la diseminación y la capacidad insidiosa de estos parásitos, de igual forma, aún se especula con respecto al número de especies de *Cryptosporidium* que pueden afectar a las serpientes o bien, si es que hay varios serotipos del mismo (Mader 1996).

Existe una necesidad básica para una mejor caracterización del parásito: para ver si es una de varias especies que se presentan en los reptiles, en este caso en serpientes (Wright K; 1997).

Porque se ha descubierto otra especie que no afecta a serpientes sino que aparentemente solo a lagartijas. Se requieren más estudios acerca de la transmisión cruzada y tener conclusiones definidas del potencial zoonótico. Los reptiles, reaccionan de forma distinta a la criptosporidiosis que otros grupos de animales, en estos se vuelve una enfermedad activa crónica, con o sin signos clínicos.

Existen animales aparentemente sanos que dan un resultado positivo por lo que son considerados portadores, pero se dice que tal resultado representa la presencia de *C. parvum* y *C. muris* obtenidos de las presas infectadas; esto se toma en cuenta para separar serpientes clínicamente normales de las que son portadoras, aunque en algunos estudios se ha visto que *Cryptosporidium serpentis* no infecta a ratones neonatos, por lo que aún se especula si las presas pueden ser parte de la transmisión de esta enfermedad (Fayer, R. et al 1995). Es muy probable que los ratones adultos tengan al *Cryptosporidium* pero esta teoría aun requiere más estudios, porque hasta ahora no ha sido demostrado. (McAllister, C T; R Lenington 1995)

Una posible razón de que solo un bajo porcentaje de serpientes expuestas se vuelven clínicamente enfermas es que algunas especies o cepas de *Cryptosporidium* son más virulentas que otras; aunque también se sugiere que la capacidad del sistema inmunológico del hospedero dicta la severidad de la infección (Mader 1996).

Quizá los animales crónicamente estresados y en pobres condiciones de manejo son más susceptibles por un aumento en los niveles de cortisol. Se ha postulado que una enfermedad recurrente predispone a las serpientes al síndrome clínico y posiblemente un lentivirus de estas se halla presente (Jacobson, Elliot R., 1993).

No se debe ignorar que ninguno de los ejemplares elegidos ha presentado ningún signo de la enfermedad, al menos no en una forma característica, ya sea hinchazón de la región media del cuerpo o regurgitación; de los animales sospechosos, solo una de las serpientes (4099) no se alimentaba por voluntad propia, pero este animal fue capturado y donado, es frecuente que bajo esta condición las serpientes dejen de comer durante un tiempo y algunas nunca se adaptan; además de la anorexia, no presentó algún otro signo.

No se pudo obtener muestra de tejido alguna debido al avanzado estado de descomposición, para establecer si existía engrosamiento en estómago o detectar al parásito en una prueba histopatológica.

En todas las laminillas se reporta la presencia de fibras vegetales, esto se debe a que las serpientes no digieren los alimentos de esta naturaleza, estos provienen de la alimentación que se le da a los ratones.

También se observa en algunas laminillas que hay aparentemente huevos de nemátodos, aunque esto no parece representar problema alguno. Cuando la cantidad de nemátodos es baja no causa trastornos serios visibles porque los animales continúan alimentándose y con ganancia de peso.

La presencia de cristales ocurre porque al manipular a las serpientes, tienden a orinar y por lo tanto se impregna el hisopo que se utiliza para la toma de muestra. Así como se reporta la presencia de bacterias en mayor o en menor cantidad, esto no es indicativo de enfermedad alguna, debido a que el recto y cloaca son el hábitat natural de bacterias del tubo digestivo, aunque algunas especies de bacterias son patógenas para otros grupos de animales como por ejemplo los mamíferos, pero que a ellas no les representa ningún problema.

Se reporta la presencia de espermatozoides en algunas de las muestras, los ejemplares son machos adultos, el muestreo se hizo en abril, por lo que puede decirse que estaban en su etapa de mayor producción, es decir, estaban listos para la reproducción y algunos se encontraban en la cloaca, al pasar el hisopo por la zona, se adhirieron a este.

CONCLUSIONES

Se encontró una estructura que se puede considerar *Cryptosporidium sp.* aunque la prueba realizada no es determinante para establecer al 100% la presencia de *Cryptosporidium serpentis* en los ejemplares a los que se tomó la muestra.

Todos los ejemplares muestreados que salieron negativos a *C. sp.* están clínicamente sanos.

Se encontró a 4 ejemplares sospechosos de ser portadores de *C. sp* de los cuales, 3 no presentan ningún signo clínico de la enfermedad. Por lo que se consideran como portadores sanos.

Uno de los sospechosos presentó anorexia desde que ingresó al laboratorio hasta que murió, pero ese fue el único signo clínico aparente.

RECOMENDACIONES

Es necesaria una prueba de rutina que permita determinar el estatus del animal y saber si son negativos. Existen algunos resultados prometedores realizados para una prueba de ELISA antígeno-anticuerpo fecal, que se ha desarrollado en la Johns Hopkins University School of Medicine y el Zoo Baltimore. Es importante tomar en cuenta que esta prueba se hizo para el diagnóstico de *C parvum*, pero al compartir un antígeno se puede utilizar para *C serpentis*. (Graczyk, T.K.; Cranfield, M.R 1997). La interrogante de esta situación es determinar si es que se está detectando *C serpentis* y no el *C parvum*, porque aún se especula si este último se puede encontrar en las serpientes que lo ingieren junto con el alimento. Sin querer decir que por esa razón haya infección cruzada solo que puede confundirse el resultado y dar un falso positivo.

Pero, ¿cómo saber si una serpiente está libre del parásito? La respuesta no es sencilla, ahora ya existe la prueba de antígeno-anticuerpo, pero no es accesible para todos; pero volviendo a la pregunta inicial, si se recibe un grupo de serpientes ajenas a la colección y no se tienen muchos antecedentes, lo recomendable es hacer lo mismo que para cualquier otra especie animal: poner en cuarentena. ¿Por cuanto tiempo? Se recomienda un mínimo de 90 días durante los cuales se van a efectuar pruebas para tratar de detectar al parásito, se debe obtener por lo menos 3 resultados negativos en forma consecutiva con al menos 7 días entre una y otra prueba. (Wright K: 1997).

Tomando en cuenta todo lo mencionado de la enfermedad y de su comportamiento tan atípico, no se puede considerar que el animal definitivamente está libre de la misma, de cualquier forma, siempre es recomendable tener precauciones y continuar el monitoreo. El tiempo no se ha establecido aún porque se ha observado que la serpiente puede diseminar el ooquiste durante varios años, pero si durante varios meses la prueba es negativa, se puede pensar que el animal está libre de la enfermedad.

De cualquier forma es conveniente seguir cierto protocolo de limpieza al manejar a los animales, como es el usar un desinfectante al terminar de manejar a una serpiente, para comenzar con la siguiente, y dejar hasta el final a las que son sospechosas. Esta es una forma sencilla de prevenir cualquier eventualidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barnard, S., Upton S.J., (1994). "A veterinary guide to the parasites of reptiles". Vol. I Protozoa. Krieger Publishing Co., Malabar, FL.
2. Campbell, I. & Tzipori, S. (1982): "Effects of disinfectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts". Vet. Rec. 111, 414
3. Cimon, K Y; R D Oberst. (1996): "Biliary cryptosporidiosis in two corn snakes (*Elaphe guttata*)" J Vet. Diagn Invest 8: 398-399.
4. Coles, E. H., (1986). "Veterinary Clinical Pathology". W.B. Saunders Company, Philadelphia, 486.
5. Cranfield M R; T. K. Graczyk: (1994): "Experimental infection with *Cryptosporidium serpentis* in Elaphid Snakes". The Balt. Zoo, Balt, MD USA. Bull of the Assoc of Rept and Amph Vet 123-125
6. Cranfield M R; T. K. Graczyk: (1995): "An update on ophidian cryptosporidiosis". Am. Assoc. of Zoo Vet., Wildlife Dis Assoc, and Am. Assoc of Wildlife Vet, East Lansing, MI., 225-230
7. Cranfield, M.R.; Graczyk, T.K. (1995). "Cryptosporidiosis in Manual of reptile medicine and surgery", D.R. Mader, ed. The Curtis Center, Philadelphia, PA: WB Saunders Company. 359-363
8. Daniels, W W : (1984) "Bioestadística". Ed Limusa S.A. de C. V. México.
9. Fayer, R.; Graczyk, T.K.; Cranfield, M.R. (1995). "Multiple heterogeneous isolates of *Cryptosporidium serpentis* from captive snakes are not cross-transmissible to neonatal mice" (*Mus musculus*). J. of Par. 81(3):482-484,
10. Flores-Villela, O. (1991). "Análisis de la distribución de la herpetofauna de México". Tesis doctoral, Depto. de Biol, Facultad de Ciencias, UNAM, 269.
11. Fowler, M. E., Miller, R. E. (1999): "Zoo and wild animal medicine: current therapy" W.B. Saunders company.
12. Frye, F.L., (1991). "Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry". Krieger Publishing Co., Malabar, FL.
13. Gasser RB, O'Donoghue P: (1999) "Cryptosporidium". Int. J. Par 29:1379-1413.

14. Graczyk, T K; MR Cranfield, et al. (1999): "Cryptosporidiosis. The Baltimore Zoo", Univ. Balt. MD USA Bull. of the Assoc of Rep. and Amph.Vet., 9(3):15-24
15. Graczyk, T.K.; Cranfield, M.R. (1997). "Detection of *Cryptosporidium*-specific immunoglobulins in captive snakes by a polyclonal antibody in the indirect ELISA". Vet. Res. 28:131-142.
16. Graczyk, T.K.; Owens, R.; Cranfield, M.R. (1996) "Diagnosis of subclinical cryptosporidiosis in captive snakes based on stomach lavage and cloacal sampling". J. Vet. Par. 67:143-151.
17. Graczyk, T K; MR Cranfield, (1995): "Comparative assessment of direct fluorescence antibody, modified acid-fast stain, and sucrose flotation techniques for detection of *C. serpentis* oocysts in snake fecal specimens". J. zoo wild med. 26 (3): 396-402
18. Graczyk, T K; R Owens, et.al. (1996): "Diagnosis of subclinical cryptosporidiosis in captive snakes based on stomach lavage and cloacal sampling", Johns Hopkins Univ., Balt, USA Vet Par Vol. 67 (3-4) 143-151
19. Graczyk, T. K., et.al. (1999) "Therapeutic efficacy of hyperimmune bovine colostrum treatment against clinical and subclinical *Cryptosporidium serpentis* infections in captive snakes" Johns Hopkins Univ., Balt, MD 21205, USA Vet. Immunology and Immunopathology Vol. 72, Issue 1-2, 15- 18
20. Jacobson, Elliot R.. (1993). "Implications of infectious diseases for captive propagation and introduction of threatened/endangered species". J of Zoo Wild Med 24:3, 245-255
21. Jacobson, Elliot R., (1994). "Veterinary procedures for the acquisition and release of captive bred herpetofauna.". In J.B Murphy, K. Adler, and J.T. Collins (eds.), SSAR, Ithaca (New York). Contributions to Herpetology, Vol. 11. 109-118
22. Klingererg, R.J.: (1996) "Enteric criptosporidiodis in a colony of Indigo Snakes, (*D. corais*), a Panther Chameleon, (*C. pardalis*) and a Savannah Monitor, (*V. exanthematicus*). Bull. Assoc. Rept. and Amph. Vet. 6 (1) : 5-10
23. Mader D.R. (1996). "Reptile medicine and surgery". Saunders Company 360-362.

24. McAllister, C T; R Lenington: (1995) "Notes on the general ecology of *Cryptosporidium* sp. Herpetological Medicine". 7 (3):10-11
25. McDowell, S. B. R. A., Collins, J. T., Novak, S. S. (1987): "*Snakes: ecology and evolutionary biology*" Systematics in Seigel, eds. MacMillan, New York 3-50
26. Mehren, K.G., Crawshaw, G.J., (1999). "Medical Aspects of EMR Recovery". Second International Symposium on the Conservation of the Eastern Massasauga rattlesnake. Ed. Johnson & Wright . Toronto Zoo. 53-57
27. Montali, R. J. ; Migaky, G. (1980). "The comparative pathology of zoo animals", Smithsonian Institution Press. Washington D.C. 25-30.
28. O'Donoghue, P. J. (1995): "*Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals". *Int. J. Par.* 25, 139-195
29. Runquist, E. R: (2000) "Mantenimiento en Cautividad de Anfibios y Reptiles". Ed. Hispano Europea. 37-40
30. Sánchez, O. (1994). "Serpientes de México". *Rev. Escala/Aeroméxico*, 4(59):50-66.
31. Uptown, S. J., McAllister, C. T., Freed, P. S. & Barnard, S. M. (1989): "*Cryptosporidium* spp. in wild and captive reptiles". *J. Wildl. Dis.* (25): 20-30
32. Wright K: (1997): "Cryptosporidium controversy: when do you consider a reptile crypto-free?" *Proced. Assoc. of Rept and Amph Vet.* 169-173
33. <http://www.afip.org/vetpath/WSC/wsc00/WSC/images/0w081a.jpg>
34. <http://www4.ulpgc.es/departamentos/animal/morfo/reptiles/serpi.htm>
35. <http://www.cdfound.to.it/HTML/khan.htm>

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

ANEXOS

ANEXO I Selección de los ejemplares

	Géneros		de	Ser	pie	tes	al	12	De	febr	ero	De	200	2	Sistr	Tha	Trim	
	Ag	Also	Boa	Bot	Crot	Dri	Elap	La	Mas	Ner	Oxi	Pitu	Pyth	Salv	ad	mn	orph	
	kist	phis		hro	alus	mar	he	mpr	tico	odia	belis	ophi	on	ador	urus	oph	odon	
	rod			ps		cho		op	phis			s				is		
	on					n		letis										
13	1614	1389	71	378	5	4127	1	13	4099	3418	3462	3481	55	3688	2322	1612	3184	3368
71	1615		1679	2120	54		3583	15	3444	2398	4223	63		4004	1870	3358		
1116	1616		1681	2121	59		4053	16	3588	3967		1116		4082	2290	3382		
1389	1618		1683	2122	60		4072	2266	3799			2016			2391	3446		
1679	1619		1684	2123	231		3927		4100			2107			2447	3713		
1681	3122		1685	2124	822		4016					2200			3641	3965		
1932	1620		1688	2126	1312		4017					2274			3710	4098		
2016	1621		1693	2128	1423		4018					2348			3711	4212		
2107	1622		1816	2131	1461		4020					2354			3823			
2322	1623		1821	2132	1566		4021					2370			4213			
2348	2047		1822	2138	1576							2411						
2468	2048		1932	2141	1605							2468						
2892	2049		2032	2144	1661							2831						
2925	2050		2033	2741	1709							2833						
3031	2051		2228	3127	1712							2925						
3184	2052		2284	3725	1717							3018						
3267	2053		2892	3726	1765							3031						
3368	2054		3239	3729	1841							3057						
3462	3579		3318	3734	1867							3088						
3481	2055		3461	3736	1930							3089						
3588	2056		3466	3737	1960							3099						
3688	2057		3696	3740	1971							3131						
3824	2058		3824	3742	1987							3266						
3927	3124		4113		2065							3267						
4021	2059		4125		2066							3372						
4053	2060				2067							3382						
4099	2061				2071							3464						
4125	2062				2072							3661						
4129	2063				2111							4012						
4200	2719				2222							4035						
	2720				2345							4036						
	3388				2410							4037						
30	2721				2476							4038						
	2722				2575							4041						
	2723				2643							4043						
	2724				2673							4044						
	2731				2723							4045						
	2726				2746							4200						
	2729				2747							4201						
	2730				2748							4204						
	2732				2749							4208						
	2733				2753							4217						

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

42

	Géneros		de	Ser	pien	tes	al	12	de	Febr	ero	de	200	2	conti	nua	ción	
	Agk istro don	Also phis	Boa	Bot hros	Crot alus	Dri mar cho n	Elap he	La mpe litis	Lept ophi s	Mast icop his	Nero dia	Oxib elis	Pitu ophi s	Pyth on	Sal va dor a	Sistr urus	Tha mn oph is	Trim orph odon
	2734				2754													
	2736				2755													
	2737				2782													
	2738				2835													
	2739				2879													
	3387				3199													
	2738				3262													
	3123				3291													
	3580				3306													
					3319													
					3330													
					3331													
					3331													
					3332													
					3357													
					3441													
					3559													
					3560													
					3565													
					3566													
					3576													
					3577													
					3578													
					3586													
					3652													
					3666													
					3698													
					3719													
					3724													
					3771													
					3791													
					3810													
					3832													
					3970													
					3971													
					3976													
					4007													
					4013													
					4061													
					4084													
	51	1	25	23	83		4	10		5	3	2	42	1	3	10	8	1 27

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

ANEXO 2. Serpiente no venenosas elegidas:

Gpo		Día		Día		Día
1	Lampropeltis # 13	16/04/02	Python 3368	16/04/02	Leptophis 4099	16/04/02
	Trimorphodon # 3368	16/04/02	Boa 3824	16/04/02	Pituophis 2925	17/04/02
	Oxibelis # 3481	17/04/02	Boa 1679	17/04/02		
2	Elaphe 4053	17/04/02	Drimarch on 4127	17/04/02		
3	Alsophis 1389	18/04/02				
4	Thamnophis 3184	18/04/02				
5	Pituophis 2468	18/04/02	Boa 1821	18/04/02		
6	Boa 2892	18/04/02	Boa 1932	19/04/02		
7	Pituophis 3031	19/04/02	Pituophis 3464	19/04/02		
8	Pituophis 2107	19/04/02	Pituophis 2348-E	19/04/02		
9	Boa 1681	22/04/02	Boa 71	22/04/02		
10	Pituophis 3267	22/04/02	Pituophis 2016	22/04/02		
11	Pituophis 4200	22/04/02	Pituophis 1116	23/04/02		
12	Masticophis 3588	23/04/02	Boa 4125	23/04/02		
13	Salvadora 2322	23/04/02	Nerodia 3462	23/04/02		

**FALTA
LAS
PAGINAS**

44

A

46

Anexo 4.

Preparación del Colorante.

A. Carbol fuchsina_DMSO.

4 gr. Cristales de Fucsina básica.

Se disuelven en:

25 ml. Alcohol etílico al 99%

12 gr. Cristales de fenol licuado en baños de agua o

12 ml Fenol licuado de alguna marca comercial

Se juntan todos los componentes y se mezclan bien con un agitador de vidrio.

Se agrega:

25 ml Glicerol químicamente puro.

25 ml DMSO (Lab. Sigma)

75 ml Agua destilada.

Se mezclan bien se permite que la solución se encuentre a la temperatura ambiental por 30 minutos, luego se filtra. Y se almacena indefinidamente a la temperatura del lugar en una botella de cristal ámbar. (Mader 1996)