



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

---

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**IDENTIFICACION DE MICROSPORA  
(*Encephalitozoon cuniculli*) EN EL CONEJO  
DOMESTICO (*Oryctologus cuniculus*) EN TRES  
DIFERENTES TIPOS DE SISTEMA DE PRODUCCION.**

TESIS PRESENTADA ANTE LA  
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
E LA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOCTECNISTA  
POR

**JORGE ANTONIO LASSARD LOPEZ**

ASESOR: M.V.Z. MARISELA JUAREZ ACEVEDO.



MÉXICO, D.F. 2005

m342713



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.

## **DEDICATORIA.**

A mi mamá Irma del Carmen López Torres quien con su apoyo, confianza, consejos, amor y gracias a su gran fortaleza pudo sacarme adelante y darme una carrera profesional, que me ayudará en un futuro. Gracias por darme la vida.

A mi novia por su amor y apoyo en todo momento, además de su ayuda incondicional para iniciar y terminar este trabajo de investigación.

A mis hermanas María Esther y Liliam así como a mis abuelitos maternos por su cariño y estar presentes en los momentos que he necesitado.

## AGRADECIMIENTOS.

Al M.V.Z. Jorge Estévez González con todo mi afecto, mi gratitud, respeto y admiración que por sus enseñanzas y consejos me motivo a terminar mi carrera profesional.

A la M.V.Z Marisela Juárez Acevedo por su apoyo, ayuda y conocimientos brindados durante y después de realizar mi servicio social en el área de cunicultura que me ayudaron a finalizar este trabajo.

A mi jurado de Tesis, los M.V.Z Felix Eduardo Tena Betancourt, Rubén Danilo Méndez Medina, Verónica Graullera Rivera, Alberto Ramírez Guadarrama que con sus consejos y sabiduría, ayudaron a la elaboración de este trabajo de investigación.

Al Dr. José Luis tapia Malagón que trabaja en el Instituto Nacional de Referencia Epidemiológica (INDRE) que gracias a sus enseñanzas y experiencia ayudó mucho a que esta tesis hubiera sido posible.

Al Ing. Agrónomo Reyes López Ordaz por su colaboración en la parte estadística de este trabajo.

A todos los propietarios que me abrieron las puertas de sus granjas para poder realizar el muestreo y culminar con mi trabajo de investigación.

A Dios que me ha protegido y ayudado durante toda mi vida.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
RESULTADOS.....	26
DISCUSIÓN.....	28
CUADROS.....	35
FIGURAS.....	40
LITERATURA CITADA.....	31

## RESUMEN

LASSARD LOPEZ JORGE ANTONIO. Identificación de microspora (*Encephalitozoon cuniculi*) en el conejo doméstico (*Oryctolagus cuniculus*) en tres diferentes tipos de sistema de producción. (Bajo la dirección de la M.V.Z Marisela Juárez Acevedo).

El presente estudio de investigación fue realizado con la finalidad de identificar la presencia de esporas de microspora (*Encephalitozoon cuniculi*) en conejos domésticos con la técnica de tinción de Blanco de Calcofluor y Weber. Dicho trabajo se llevo a cabo en cuatro diferentes granjas cunícolas, localizadas en los siguientes lugares; Granja 1 con sistema de producción extensivo en San Lucas el Alto en el estado de Puebla donde se recolectaron 15 muestras de hembras y 21 de animales engorda, Granja 2 con sistema de producción extensivo en el Distrito Federal (Iztapalapa) donde se recolectaron 20 muestras de hembras y 45 de animales engorda, Granja 3 con sistema de producción semintensivo en Chalco Estado de México donde se recolectaron 27 muestras de hembras y 54 de animales engorda, y Granja 4 con sistema de producción intensivo en la Universidad Autónoma de Chapingo (UACH), Estado de México donde se recolectaron 36 muestras de hembras y 71 de animales engorda. El total de muestras recolectadas en las cuatro granjas fue de 289, de las cuales 98 fueron tomadas de hembras en producción y 191 de animales destinados para el abasto (recolección de orina directamente de la vejiga). Con dichas muestras se realizaron frotis que se sometieron a la técnica de tinción de Blanco de Calcofluor M2R; utilizada como prueba tamiz y a las muestras que presentaban estructuras

compatibles con esporas, se les realizó la técnica de tinción de Weber, la cual sirve para confirmar el diagnóstico. El porcentaje global de positivos a espora de microspora fue de 1.73%. En cada una de las granjas se obtuvo la Frecuencia Relativa (FR) siguiente: G1= 0%, G2=1.5%, G3= 2.4 y G4=1.8%. Para el cálculo de la FR se utilizó la siguiente fórmula: número de positivos/ la población muestreada x 100.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente con el crecimiento de la población humana es necesario cubrir las necesidades básicas de alimentación, por lo que es cada vez más difícil proveer de alimentos nutritivos de origen animal <sup>1</sup>.

Los conquistadores españoles fueron los primeros que introdujeron conejos domésticos al Nuevo Mundo como fuente de alimento. Los primeros colonizadores y misioneros también contribuyeron a la expansión del conejo como una fuente de alimento, particularmente en los países en vías de desarrollo<sup>2</sup>.

La crianza de los animales domésticos es una actividad que el hombre ha desempeñado prácticamente desde el inicio de sus tiempos históricos con la finalidad de servirle como fuente de alimentación, en la actualidad estos son criados para otro tipo de actividades que se integran dentro de la zootecnia<sup>3</sup>.

En muchas partes del mundo, los conejos han sido cazados tradicionalmente para obtener alimento y pieles por miles de años, la cacería tuvo un sentido de aceptación cultural para el consumo de carne de conejo<sup>4</sup>.

Técnicamente hablando al conjunto de animales domésticos se le llama ganado; pero actualmente se ha empleado el término de micro ganado para hacer referencia a agrupaciones de animales de talla pequeña como por ejemplo el conejo, que en algunas sociedades ha sido integrado a su dieta y en los últimos años se le ha tomado más en cuenta para su consumo<sup>3</sup>.

Es importante mencionar que para tener éxito en la cría de conejos se deben aplicar de forma consistente los principios de sanidad, reproducción, nutrición, manejo y control de enfermedades. Dichos principios se aplican a los conejos destinados para la producción de carne, piel y doble propósito, al igual se destinan como mascotas <sup>5</sup>.

El conejo doméstico (*Oryctolagus cuniculus*), clasificado como herbívoro no rumiante, de talla pequeña que demanda poco espacio vital, bajo volumen de alimento, menor trabajo físico para su atención, puede ser sacrificado y procesado sin necesidad de equipo especializado ni de un local especial (rastró), por estas características de producción es que puede ser explotado tanto a nivel rural como urbano, de forma industrial o de traspatio<sup>3</sup>.

## **SISTEMAS DE PRODUCCIÓN EN CONEJOS.**

La cunicultura, cría y explotación del conejo doméstico, es una actividad agropecuaria de larga vida y amplia difusión. En México y en casi toda Latinoamérica aun no tiene el desarrollo y la importancia que merece como industria productiva y lucrativa a corto plazo, acepta inversiones de todas las esferas sociales y económicas: el pequeño, el mediano y el gran inversionista pueden crear empresas sólidas y rentables con el conejo<sup>6</sup>.

Esta actividad puede desarrollarse en el campo o en los alrededores de las grandes ciudades, sin olvidar que una pequeña producción se puede mantener en los patios, jardines y azoteas de las casas de ciudad, intensificando la limpieza, pues el conejo es un animal que ocupa poco espacio, no es ruidoso y con pocos

cuidados es muy limpio y sano. La cría del conejo doméstico puede realizarse como actividad principal o secundaria y aun por diversión siempre será productiva<sup>6</sup>.

Dedicarse actualmente a la cría del conejo es iniciarse en la rama agropecuaria de mayor futuro en México, considerando que es rentable cuando se aprovechan todos los recursos de la ciencia y de la tecnología modernas, a fin de incrementar la producción y acelerar la ganancia económica con métodos prácticos, cómodos y expeditos<sup>6</sup>.

El ciclo productivo es el ritmo de partos que se planea y exige a las conejas de la granja para obtener una óptima producción y/o planificar métodos de trabajo (ciclización) que optimice el trabajo. La producción esperada, se obtiene cuando las hembras siguen con regularidad los parámetros productivos, entre los cuales están: número de partos por hembra al año, número de gazapos nacidos vivos, número de gazapos destetados, peso al nacimiento de la camada, peso al destete de la camada, etc. así como el tiempo transcurrido desde el parto hasta la cubrición de la hembra, por lo que se definen tres ciclos productivos<sup>7</sup>.

- **Producción Intensiva.**

Este sistema se basa en proporcionar a los animales de razas de alta productividad únicamente alimento de tipo pelletizado. Cuando el conejo alcanza el peso que se requiere para la venta es sacrificado, este peso oscila entre 1.8 – 2.0 kg peso vivo dependiendo el mercado. Su manejo reproductivo consiste en montar a los hembra 36 horas después del parto y como máximo hasta siete días,

con la finalidad de que la hembra este el menor número de días sin estar gestante y se encuentre produciendo la mayor parte de su vida<sup>7</sup>.

Esta exige el trabajo de tiempo completo de una persona y la ayuda de uno o más trabajadores. El personal esta capacitado para realizar las labores necesarias de la granja sin pérdida de tiempo, utilizando todo el material y equipo específico para sus labores y de esta manera facilitar el trabajo <sup>6</sup>.

Se cuenta con un número de 100 o más hembras reproductoras; el manejo reproductivo, productivo y sanitario es estricto. Es indispensable el uso de registros. La producción que se obtiene de este sistema se destina a restaurantes, centros comerciales o al público de manera directa<sup>8</sup>.

- **Producción Semintensiva.**

En este sistema se puede combinar la alimentación a base de forrajes con el alimento pelletizado. Es menos eficiente que la producción intensiva por el mayor tiempo que tarda el conejo en alcanzar el peso que se requiere para la venta, este peso oscila entre 1.8 – 2.0 kg peso vivo dependiendo el mercado, las montas se llevan a cabo entre los 7 a 15 días post-parto como máximo<sup>7</sup>.

Requiere de personal capacitado para realizar todas las labores de la granja<sup>6</sup>. Se cuenta con un mínimo de 50 hembras; se lleva un manejo reproductivo, productivo y sanitario controlado. En este sistema puede existir o no cierta tecnificación. Su producción se comercializa, generalmente, por medio de

intermediarios o de manera directa a clientes fijos (restaurantes, carnicerías), además se utiliza la venta al consumidor de manera directa<sup>8</sup>.

### **Producción Extensiva.**

Se basa en la producción de carne a partir de recursos naturales, tales como forrajes, restos de cosechas, follaje de árboles, plantas nativas etc, en ocasiones suelen dar alimento pelletizado<sup>7</sup>.

Por el tipo de alimentación que se proporciona, los animales destinados para autoconsumo y mercadeo local se tardan más tiempo en alcanzar el peso que oscila entre los 1.5 hasta 2.4 kg de peso vivo. Este tipo de sistema se maneja comúnmente en explotaciones conocidas como de traspatio o autoconsumo. La monta se realiza después de los 21 días del parto o inmediatamente después del destete (35 días)<sup>7</sup>.

Los cuidados los practican todos los miembros de la familia y muchas veces el material utilizado para este sistema es de material de la zona o incluso otro material con el que fabrican su propio equipo<sup>6</sup>. Las jaulas suelen estar instaladas al aire libre y en ocasiones los animales se encuentran libres dentro de algún terreno<sup>9</sup>.

El número de animales oscila entre los 10 y 20 reproductores. No existe control sanitario alguno y no hay control productivo ni reproductivo<sup>9</sup>.

## **MICROSPORIDIOS.**

Los microsporidios son parásitos que en la actualidad están cobrando gran auge debido a que además de afectar a los conejos tienen una gran importancia en salud pública ya que esta en riesgo el trabajador, el Médico Veterinario o cualquier persona que tenga contacto con estos animales de contraer la enfermedad, es por eso que se ha empezado a realizar estudios sobre este parásito<sup>23</sup>.

Los microsporidios cada vez se reconocen más como causa de infecciones oportunistas en personas con SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida) y se ha encontrado al parásito produciendo hepatitis, necrosis hepática, peritonitis, nefritis túbulo intersticial, cistitis, bronquitis, neumonía, conjuntivitis y sinusitis , por lo tanto es una enfermedad considerada como zoonosis<sup>12</sup>.

Las infecciones en humanos por microsporidios, siempre han sido raras, pero están cobrando últimamente gran auge y ocasionando así revisiones exhaustivas. Es importante mencionar que, el contagio de la especie humana es muy bajo, estando su capacidad infectiva muy condicionada por la capacidad de respuesta de su sistema inmunitario, es decir que si las personas cuentan con una buena salud, las probabilidades de infectarse por microsporidios es muy bajo, por el contrario si las personas no tienen una buena respuesta de su sistema inmunocompetente (pacientes con SIDA), será más probable que sean un blanco fácil para este tipo de infecciones<sup>12</sup>.

La clasificación del phylum microspora (*microsporidios*) se debe a Balbini en 1882, al proponer la creación de un nuevo orden entre los esporozoos: protozoos que al final de su ciclo forman esporas de resistencia<sup>10</sup>.

El phylum Microspora esta formado por un diverso grupo de eucariontes intracelulares oportunistas, conocidos como microsporidia y caracterizados por poseer un aparato de infección altamente especializado, llamado túbulo polar<sup>11</sup>.

A partir de la descripción de estos parásitos como agentes de infección humana, el número de casos relatados se ha incrementado notablemente hasta el punto que la infección por microsporidios se le considera de distribución cosmopolita. A la fecha han sido documentados casos en individuos de los cinco continentes y la gran mayoría de éstos son enfermos con SIDA<sup>25</sup>.

En México casi no hay reportes sobre este parásito debido a que hay muy pocos trabajos de investigación en granjas cunícolas, sin embargo en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México en el año 2004 se realizó un trabajo de Tesis donde se reportaron 2 casos de Encefalitozoonosis de 177 muestras de orina analizadas en una granja cunicola perteneciente a la FMVZ ubicada en la delegación Tláhuac presentando una prevalencia de 1.1%<sup>31</sup>.

## **MORFOLOGÍA DEL PARÁSITO**

*Encephalitozoon cuniculi*, es un parásito que produce esporas de forma oval, gram positivas, que miden 1.5 por 2.5 $\mu$ , y que se encuentran bien protegidas por dos gruesas capas externas, la exospora de naturaleza proteica y la

endospora, quitinosa, lo que nos llega a dar una idea de la resistencia que tiene en el ambiente. Posee un núcleo típicamente eucariota, inmerso en un citoplasma en el que existe retículo endoplásmico rugoso y un primitivo aparato de Golgi, carece de mitocondrias y su filamento polar tiene de 6 a 8 vueltas o espirales<sup>12</sup>.

### **ENCEFALITOOZONOSIS.**

Enfermedad parasitaria producida por *Encephalitozoon cuniculi* descubierto en 1922 en el cerebro de conejos por Wright y Craighead<sup>13</sup> y bautizado con ese nombre en 1923 por Levaditi, Nicolau y Schoen<sup>14</sup>, confirmado y redescrito por Weiser en 1964<sup>15</sup>.

Desde entonces su capacidad infectiva ha sido descrita en más de 30 especies de aves y mamíferos, incluido el hombre, siendo la gravedad de la infección muy variable entre los diferentes hospedadores, entre los que podemos nombrar a los conejos silvestres y domésticos, ratones de laboratorio, ratas silvestres y de laboratorio, cobayos, hámsters, musarañas, cabras, borregos, cerdos, perros domésticos, zorros salvajes y de cautiverios, gatos domésticos, primates como el mono Rhesus y el mono ardilla<sup>12</sup>.

En los animales domésticos, el *Encephalitozoon cuniculi* es una de las especies de Microspora que llega a ocasionar enfermedad manifiesta y subclínica, en sus hospederos, pudiendo presentar transmisión cruzada entre algunas especies<sup>14</sup>, en los conejos, es el protozooario que con mayor frecuencia se asocia a parálisis y enfermedad vestibular<sup>16</sup>.

Los genotipos o cepas de *Encephalitozoon cuniculi*, han sido nombradas de acuerdo al huésped de donde se aislaron inicialmente, por lo tanto existen tres de ellos, Tipo I de conejo, Tipo II de ratón y Tipo III de perro<sup>17,18,19</sup>.

## CICLO BIOLÓGICO

En el ciclo biológico de los microsporidios (figura 1) el tipo de infección hasta el momento más conocido es el debido a la eliminación de esporas por parte de la madre y que son consumidas a muy temprana edad por parte de los gazapos, aunque también existe evidencia de transmisión sexual<sup>20</sup> y congénita<sup>21</sup>.

Otro mecanismo de infección mencionado en la literatura es el ocasionado por la ingestión de material contaminado con esporas, procedentes de la orina de las animales infectados y que posteriormente son consumidos por otros conejos de jaulas vecinas o por los que se encuentran alojados en las mismas, esta eliminación se realiza de forma esporádica<sup>12</sup>.

Una vez en el tubo digestivo se desconoce cuál es el mecanismo *in vivo* por el que lo atraviesan hacia el interior del hospedero. *In vitro* se observa que de la espora se desprende su casquete polar y que el túbulo o filamento polar sale de aquella<sup>12</sup>.

En el sistema renal la espora infecta la célula huésped introduciendo el filamento polar hacia una vacuola parasitófora donde transfiere su esporoplasma<sup>22</sup>.

Una vez infectada la célula, comienza una fase proliferativa o merogonia, en la que por fisión binaria se producen los merontes dentro de una vacuola parasitófora. La maduración de los mismos conduce a la fase de esporogonia, con

formación de esporontes binucleados, que al dividirse se transforman en esporoblastos uninucleados. En éstos últimos se va depositando una sustancia densa en las paredes hasta la formación de esporas<sup>23</sup>.

Cuando esto sucede dentro de las células del túbulo renal, las esporas salen en la orina, y de ahí al ambiente. Si las células no tienen salida al exterior se va repitiendo el ciclo hasta que el desarrollo de anticuerpos va controlando la invasividad del parásito, ya que en presencia de estas inmunoglobulinas son mucho más sensibles a la acción de los macrófagos, dicho parásito tiene tropismo por el tejido nervioso, renal, cardíaco, hepático y pulmonar<sup>12</sup>.

El parásito puede permanecer latente durante años y reactivarse cuando hay inmunosupresión. Los animales infectados experimentalmente eliminan esporas entre los 30 y los 60 días postinfección. Luego cesa la eliminación hasta los 90 días, en que comienza nuevamente, pero en menor cuantía y de forma intermitente<sup>22</sup>.

## **SIGNOLOGÍA.**

Los conejos son animales muy bien adaptados a esta enfermedad, de manera que la gravedad de las lesiones encontradas no tiene necesariamente correlación con las manifestaciones clínicas de la misma, pudiendo encontrarse con frecuencia animales aparentemente sanos, en los que de forma macro y microscópica se aprecia una infección muy extendida. Esto es especialmente válido para las lesiones nerviosas, que pueden ser muy abundantes y sin embargo el animal vivo no manifiesta signo nervioso alguno. De hecho, en las granjas prácticamente no se encuentran animales muertos de forma natural únicamente

por encefalitozoonosis, siempre presentan lesiones de otra enfermedad, normalmente infecciosa, que suele ser la causa directa de la muerte<sup>12</sup>.

Algunos de los signos que se han observado en los conejos son: letargia, tremor, parálisis general, polidipsia, poliuria, tortícolis, pérdida de peso y en ocasiones signos neurológicos<sup>24</sup>. Los animales afectados de forma crónica presentan un peso en general bajo para su edad, hasta un 30% menos<sup>25</sup>.

El único cuadro nervioso frecuentemente observado en algunos conejos es la neuritis de los nervios motores de las extremidades posteriores, observando a los conejos abiertos de patas o en *splay-leg*; de estos animales, se cree que el 90% pueden llegar a presentar lesiones compatibles con encefalitozoonosis<sup>14</sup>.

## **LESIONES.**

Existe un tropismo preferente por tejido nervioso que causa encefalitis granulomatosa, en tejido renal causa nefritis intersticial, degeneración hialina y focos necróticos, en tejido hepático se observan focos necróticos y necrosis hepática focal no supurativa, en el tejido cardíaco puede haber focos necróticos y por último en tejido pulmonar encontrando neumonía intersticial, como lesiones características en conejos<sup>12</sup>.

Sin embargo, después de tres meses ya no es posible poner en evidencia la presencia del parásito en hígado y pulmones ya que no son sus órganos blanco y así la infección tiende a centrarse con el tiempo en riñones y cerebro. En otros órganos, como el corazón es posible encontrar ocasionalmente algún granuloma<sup>12</sup>.

En el cerebro la imagen histológica es la de una encefalitis granulomatosa, con respecto a los riñones se observan áreas focales de nefritis intersticial, con

infiltrados de linfocitos y células plasmáticas, fibrosis, dilatación y degeneración tubular<sup>12</sup>.

Conforme el proceso se hace crónico, los glomérulos y túbulos afectados se van sustituyendo por fibras de colágeno, que al retraerse, tiran de la cápsula renal, produciendo depresiones típicas de la corteza y cápsula, lo cual se observa al momento de realizar la necropsia<sup>12</sup>.

## **DIAGNOSTICO.**

El diagnóstico general de Encefalitozoonosis se realiza por medio del microscopio de fluorescencia, así como la utilización de técnicas serológicas e histopatológicas, pero el examen microscópico de orina es el método de diagnóstico más recomendable ya que tiene como ventajas que se realiza *in vivo* y demuestra la presencia de esporas, que son en ese momento las formas infectantes<sup>11</sup>. Cabe mencionar que debido a que la encefalitozoonosis presenta signos variados, estados subclínicos, y es una enfermedad crónica ha sido difícil de diagnosticar<sup>26</sup>.

## **TRATAMIENTO**

Hasta el momento se ha demostrado experimentalmente que el uso de albendazol, durante 3 a 10 días a una dosis de 20mg/kg ha resultado benéfico en conejos y el hombre<sup>27</sup>. La Encefalitozoonosis además puede tratarse con Oxitetraciclinas, por lo que este antibiótico se ha indicado en animales con signología nerviosa<sup>27</sup>.

El uso de corticosteroides en el tratamiento de signos neurológicos ha sido recomendado, por lo que se ha demostrado que el uso de bajas dosis de dexametasona puede ayudar, pero a la vez es bien sabido que los corticosteroides en conejos con encefalitozoonosis producen efectos de inmunosupresión<sup>27</sup>.

## **PROFILAXIS.**

Se ha comprobado que los desinfectantes eficaces experimentalmente son la formalina al 1% y los yodóforos al 0.5%, aunque cabe mencionar que la formalina es muy agresiva para las jaulas y otros materiales que se desinfectan, deteriorándolos con el tiempo. La radiación ultravioleta es muy efectiva en la destrucción de esporas<sup>12</sup>.

Tomando en cuenta algunos datos que se conocen acerca de la sensibilidad de las esporas al calor y a la congelación, se puede sugerir la aplicación de estos medios físicos para evitar infecciones<sup>24</sup>. Ahora bien como se menciono en el ciclo biológico el alojamiento, los bebederos, comederos y nidos juegan un papel fundamental para la presentación de la enfermedad si no son lavados y desinfectados correctamente y de forma periódica, para eliminar los rastros de orina que pudieran tener<sup>12</sup>.

Por la variedad de sistemas de producción utilizados dentro de la cunicultura<sup>8</sup>, existe la probabilidad de que las enfermedades presentadas en los conejos, en este caso en particular la Encefalitozoonosis, puedan variar en cuanto a su presentación, mecanismo de transmisión y cantidad de conejos infectados, por lo cual se creyó pertinente la realización de este trabajo de investigación, en el

## **HIPÓTESIS**

La eliminación de esporas de microspora se presentará en mayor número en el sistema de producción intensivo.

## **OBJETIVO**

Determinar la presencia de esporas de microspora de (*Encephalitozoon cuniculi*) en la orina de los conejos en cuatro granjas con diferente sistema de producción.

## **ESTRATEGIA GENERAL**

El estudio se realizó en cuatro granjas cunícolas con diferente sistema de producción, grado de tecnificación en un período de tres semanas para muestrear a las hembras (Cuadro 1), la recolección de la muestra se realizó directamente de las vejigas en los animales de engorda el día de sacrificio en cada una de las granjas y para determinar el número de vejigas a recolectar se consideró la producción de cada una de las granjas, tomando el 30% del número total de animales finalizados. (Cuadro 2). Con dichas muestras se realizaron frotis que se sometieron a la técnica de tinción de Blanco de Calcofluor M2R como prueba tamiz y Weber como prueba confirmatoria.

## **MATERIAL Y METODOS**

Granja 1, se encuentra localizada en San Lucas el Alto, Puebla con un sistema de producción extensivo, el clima del lugar es templado húmedo. Tienen un total de 15 hembras en producción dando un promedio de 4 partos por hembra al año, y cada hembra por parto da en promedio 5 gazapos nacidos vivos. Los animales destinados para abasto son para autoconsumo y un pequeño mercado local, sacrificando a los animales entre los 2.0 y 2.2 kg de peso vivo.

En esta granja las jaulas se encuentran al aire libre, fabricadas con malla gallinera acomodadas de forma horizontal, se encuentran entre 15 y 20 cm de distancia con relación al suelo y están en contacto con otros animales. Los comederos y bebederos son recipientes abiertos, se les proporciona alimento pelletizado, alfalfa y en ocasiones hojas de maíz; colocan costales vacíos abiertos

como ventanas y láminas de cartón de techo para los conejos. Se retira la excreta cada 8 a 10 días.

Granja 2, se localiza en el Distrito Federal en la delegación Iztapalapa con un clima templado subhúmedo y su sistema de producción es extensivo. Tienen un total de 20 hembras en producción dando un promedio de 5 partos por hembra al año, y cada hembra por parto da en promedio 8 gazapos nacidos vivos. Los animales destinados para abasto son para autoconsumo y un reducido número de clientes, sacrificando a los animales entre los 1.8 y 2.0 kg de peso vivo.

En este lugar las jaulas son de tipo americano que miden 90 x 60 x 40 (largo, ancho, alto) y tipo europeo que miden 76 x 56 x 30 (largo, ancho, alto) están ubicadas dentro de un cuarto de 6 m de ancho por 7 m de largo, construido de cemento. Se utilizan jaulas industriales para conejos acomodadas en batería de 3 y 4 niveles, los comederos son tipo tolva y los bebederos son recipientes abiertos. El alimento que utilizan es pelletizado y en ocasiones dan tortilla como alimento secundario. Tienen una puerta y 2 ventanas como sistema de ventilación. La limpieza se realiza cada tercer día, la cual implica el retirar las excretas, limpieza de las charolas, y el lavado del piso del cuarto.

Granja 3, ubicada en Chalco, Estado de México y cuenta con un clima templado subhúmedo, en ella se maneja el sistema de producción semintensivo. Tienen un total de 90 hembras en producción dando un promedio de 5 partos por hembra al año, y cada hembra por parto da en promedio 7 gazapos nacidos vivos. Los animales para abasto son destinados para un restaurante, sacrifican a los animales entre los 2.4 y 2.6 kg de peso vivo.

Se utilizan jaulas industriales para conejos tipo americano, acomodadas en sistema lineal (Flat-Deck)<sup>3</sup>, los comederos son tipo tolva y los bebederos automáticos, aquí se les proporciona alimento pelletizado únicamente. Están dentro de una nave con paredes de ladrillo y techo de lamina, la ventilación se da por ventanas en ambas paredes a lo largo de la nave y no tiene construidas paredes en las cabeceras de la nave. La excreta se retira diariamente.

Granja 4, perteneciente a la Universidad Autónoma de Chapingo (UACH), ubicada en Texcoco Estado de México con un clima templado subhúmedo, el sistema de producción que se lleva a cabo es del tipo intensivo. Tienen un total de 120 hembras en producción dando un promedio de 6 partos por hembra al año, y cada hembra por parto da en promedio 7 gazapos nacidos vivos. Los animales para abasto son destinados para el comedor central de la Universidad Autónoma de Chapingo, sacrificando a los animales entre los 1.7 y 2.0 kg de peso vivo.

Como en el caso de la granja 3 las jaulas utilizadas son de tipo industrial para conejos tipo europeo, acomodadas en sistema lineal (Flat-Deck)<sup>3</sup>, los comederos son tipo tolva y los bebederos automáticos, el alimento que se les da es únicamente pelletizado. Están ubicadas dentro de una nave con paredes de cemento y techo de lamina, la ventilación se da por ventanas en ambas paredes a lo largo de la nave. La limpieza se realiza cuando se acaba el ciclo productivo que oscila entre las 10 y 11 semanas, tiempo en el que se van a al venta los conejos.

## RECOLECCIÓN DE ORINA

Granja 1.- Se recolectaron 15 muestras de orina de hembras en producción, colocando bolsas de plástico debajo de cada una de las jaulas y al obtener la orina

se retiró la bolsa anotando su identificación correspondiente y 21 muestras de orina recolectadas directamente de la vejiga al momento del sacrificio. Se muestreo al número total de reproductoras que había en la granja.

Granja 2.- Se recolectaron 20 muestras de orina de hembras en producción, las cuales están alojadas en un sistema en batería (alineadas en forma vertical), debajo de cada jaula hay una charola de lámina, se realizó una perforación en una esquina, con un taladro para formar un orificio en la misma por donde cayera la orina y debajo de éste se colocó un frasco sujetado de la misma charola dándole cierta inclinación a ésta para obtener la muestra de orina. Se trató de recolectar la muestra lo menos contaminada posible, realizando una limpieza previa a la charola. Se retiró la charola para eliminar el material contaminante ya fueran heces, pelo, viruta, alimento, papel, etc, y posterior a ello se enjuagó con agua. Una vez realizado este procedimiento se coloca de nuevo la charola en su lugar para obtener la muestra como ya se había explicado con anterioridad. Se muestreo al número total de reproductoras que había en la granja.

Las otras 45 muestras de orina fueron recolectadas directamente de la vejiga al momento del sacrificio en los animales de engorda.

Granja 3.- Se recolectaron 27 muestras de orina de hembras en producción y 54 muestras de orina recolectadas directamente de la vejiga al momento del sacrificio.

Granja 4.- Se recolectaron 36 muestras de orina de hembras en producción y 71 muestras de orina recolectadas directamente de la vejiga al momento del sacrificio.

En estas dos últimas granjas se utiliza el sistema Flat-Deck<sup>3</sup> en todas las jaulas donde se alojan los conejos. Aquí se colocaron las bolsas sujetadas con los ganchos debajo de cada jaula y se retiró la bolsa al momento de obtener la orina. De igual forma se identificó la muestra como en las otras granjas.

De estas cuatro granjas se obtuvo un total de 289 muestras de orina de conejos.

El número de muestras promedio a coleccionar en hembras reproductoras fueron tomadas al azar en las granjas 3 y 4, dando como espacio 2 a 3 jaulas de cada hembra. Se muestreo el 30% del total de hembras reproductoras en las granjas.

Al momento de la recolección se identificó la muestra con los siguientes datos: Identificación del animal (número de jaula o tatuaje), etapa productiva y reproductiva en la que se encuentra, fecha de toma de muestra y sistema de producción manejado en la granja, ubicación de la granja y nombre del propietario. Otras de las muestras se tomaron por medio de la recolección de las vejigas de los conejos destinados para abasto, al momento de su sacrificio de animales en producción.

A través de observaciones etológicas previas, se pudo determinar que los conejos eligen un área dentro de la jaula para orinar, la cual se identifica fácilmente por el rastro de orina que dejan; justo en ese lugar por debajo de las jaulas se colocaron bolsas de plástico de 20 cm de ancho x 30 cm de largo, sujetadas a las jaulas por medio de ganchos de metal siempre y cuando estuvieran en el sistema lineal (Flat-Deck)<sup>3</sup>.

Las bolsas se instalaron cuando se llegó a la granja y se estuvieron observando durante algunas horas, inmediatamente después de que los conejos orinaron, se les retiró la bolsa y así se minimizó la contaminación de la orina con heces.

En el caso de los animales para abasto que fueron sacrificados al término de la engorda, la orina se colectó directamente de la vejiga, después de llevar a cabo el sacrificio por personal de la granja.

Todas las muestras se trasladaron con refrigerantes en hieleras, posterior a ello se mantuvieron en refrigeración hasta el momento de su procesamiento, el cual fue realizado en el Instituto Nacional De Referencia Epidemiológica (INDRE), en el laboratorio de Protozoosis.

## **PROCESAMIENTO DE LA ORINA.**

Las técnicas de tinción que se utilizaron son la de Blanco de Calcoflúor M2R y la Tinción de Weber<sup>24</sup>.

- **Tinción con Blanco Calcofluor M2R.**

Las muestras de orina se lavaron con solución amortiguada de fosfatos con un pH de 7.2 (SAF) mediante 2 ciclos de centrifugación (3,000 rpm/ 10) y decantación. El sedimento se resuspendió y se realizaron frotis en un portaobjetos, estos frotis se fijaron con metanol durante 5 minutos, después se tñieron con blanco calcofluor M2R, de acuerdo con la técnica propuesta por Didier *et al.*<sup>28</sup>, y se examinaron en un microscopio de fluorescencia con el objetivo de

100x y las muestras que se pensaba que eran positivas se confirmó el diagnóstico con la tinción de Weber<sup>29</sup>.

Se ha citado en la bibliografía que las paredes celulares de los hongos y esporas fijan el colorante Blanco de Calcoflúor aumentando considerablemente su visibilidad en los tejidos y otras muestras<sup>28</sup>.

- **Tinción de Weber.**

La técnica de Weber se utiliza en el Laboratorio de Protozoología para el diagnóstico de estos parásitos. Esta técnica tiñe las esporas de un color rojo intenso que sobresale del color verde de contraste<sup>29</sup>.

Esta tinción se lleva a cabo de la siguiente manera:

Se lava la muestra con solución amortiguada de fosfatos pH 7.2 mediante 2 ciclos de centrifugación (3,000 rpm/ 12 minutos) y se realiza la decantación del sobrenadante. Se resuspende el sedimento y se coloca la muestra en un portaobjeto dejándola secar, para posteriormente fijarla con metanol durante 5 minutos, una vez transcurrido este tiempo se agrega cristal violeta por 2 minutos y se lava con agua bidestilada. Después se cubrirá con lugol durante 2 minutos, se decolora con alcohol acetona y se enjuaga con agua. Posteriormente se cubre con el colorante de Weber y se deja reposar 1 hora a 55°C., para después lavar con alcohol ácido cromotrope y alcohol de 96°. El siguiente paso es introducir en alcohol absoluto durante 10 minutos y por último se somete a Xilol por 5 minutos, se saca y se deja secar. Una vez terminada la técnica se observa al microscopio con en el objetivo de inmersión<sup>29</sup>.

## RESULTADOS

El total de muestras recolectadas en las cuatro granjas fue de 289, de las cuales 98 tomadas de hembras en producción y 191 de animales destinados para el abasto (recolección directa de la vejiga). Con estas muestras se realizaron frotis que se sometieron a la técnica de tinción de Blanco de Calcofluor M2R, prueba considerada como tamiz, de estas 289 muestras 5 presentaban estructuras compatibles con esporas, por lo cual se decidió someterlas a la técnica de tinción de Weber que fue utilizada para confirmar o rechazar el diagnóstico de encefalitozoonosis. Con dicha prueba las cinco muestras de orina resultaron positivas lo que confirmó el diagnóstico. (Cuadro 3 y 4).

El total de muestras analizadas entre estas dos tinciones fue de 294. (Cuadro 5).

El porcentaje global de conejos con diagnóstico positivo a esporas de microspora fue de 1.73%. El porcentaje mayor se observó en la granja 3 (2.4), seguido por la granja 4 (1.8), granja 2 (1.5) y la granja 1 (0).

Se calculó la Frecuencia Relativa (FR) en las hembras reproductoras y la engorda de cada granja, obteniendo los siguientes resultados expresados en porcentaje siguiendo la siguiente fórmula:

$$FR = \frac{\text{Número de positivos}}{\text{Población muestreada}} \times 100$$

<b>Etapa</b>	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>
<b>Reproductoras</b>	15 ♀ = 0	20 ♀ = 1	27 ♀ = 1	36 ♀ = 0
<b>FR</b>	0%	5%	3.7%	0%
<b>Engorda</b>	21 eng = 0	45 eng = 0	54 eng = 1	71 eng = 2
<b>FR</b>	0%	0%	1.8%	2.8%
<b>Total</b>	36	65	81	107
<b>FR</b>	0%	1.5%	2.4%	1.8%

## DISCUSIÓN.

Como ya se mencionó esta enfermedad ha sido de difícil diagnóstico, ya que puede manifestar signología o no y tomando en cuenta algunas características de la espora como su pequeño tamaño y forma se puede llegar a confundir al momento de realizar las técnicas de tinción, con levaduras, hongos, bacterias, etc<sup>12</sup>, por lo cual antes de emitir un diagnóstico definitivo se deben de realizar varias pruebas.

En este estudio se apoyó como ya se describió con las técnicas tintoriales de Blanco de Calcofluor<sup>25</sup> M2R y Weber<sup>29</sup>, pero también puede sugerirse la realización de otras pruebas diagnósticas, como las serológicas, así como la técnica de necropsia para el hallazgo de lesiones compatibles con encefalitozoonosis<sup>12</sup>.

Los resultados obtenidos en este estudio indican que los animales infectados por *Encephalitozoon cuniculi* son muy pocos comparados con la población total muestreada, es decir de 289 muestras solo 5 resultaron positivas, lo cual representa el 1.73% del total.

Analizando los resultados obtenidos en cada una de las granjas, tenemos los siguiente:

El número de animales positivos a encefalitozoonosis en el muestreo de G1 es de cero, lo cual nos podría parecer raro ya que el tipo de manejo de la sanidad en esta granja no es muy bueno y existe la posibilidad de que los animales se enfermen con mayor facilidad por el tipo de instalaciones con las que cuenta esta granja, debido a que se encuentran las jaulas al aire libre<sup>9</sup>. Por tal motivo no se podría emitir un diagnóstico definitivo con el muestreo que se realizó,

ya que existe la posibilidad de que los animales no estuvieran eliminando esporas en el momento de recolectar la orina , por lo que se sugeriría la realización de muestreos periódicos en esta granja.

En G2 el número de animales positivos a encefalitozoonosis en el muestreo es de 1, siendo éste una hembra en producción que no presentaba ningún tipo de signología. Aquí cabe la posibilidad de que la infección de la enfermedad sea alta, ya que están distribuidos en batería y es posible que si la orina escurre por alguna parte de la jaula el conejo que se encuentra en la parte de abajo tienda a lamer la jaula, pero también es importante mencionar que existe una separación de las jaulas por medio de charolas, y que los conejos aquí no están en contacto entre si como en la distribución de las jaulas en Flat-Deck<sup>3</sup> y en esta granja la limpieza se realiza cada dos días. Como ya se mencionó con anterioridad esta enfermedad se puede transmitir de forma transpalcentaria<sup>15</sup> por lo que se tendría que realizar muestreos a las crías y tomar en consideración la posibilidad de eliminar a la hembra que salió positiva para que no permaneciera como portadora en la granja.

En el siguiente resultado perteneciente a G3 el número de animales que resultaron positivos fue de 2, entre los cuales se encontraban una hembra en producción y un animal de engorda; aquí las jaulas están distribuidas en Flat-Deck<sup>3</sup>, por lo que la transmisión de la enfermedad es alta ya que los conejos pueden lamer las jaulas que pudieran tener orina con esporas de los animales que se encuentran a sus costados o bien por dominancia los conejos tienden a orinar a los otros animales que se encuentren junto a ellos, por lo que también de esta forma se podría contaminar el bebedero y el comedero. Aquí se sugiere que se

realicen muestreos de forma periódica en toda la nave y a las crías, considerando eliminar a las hembras que resultaran positivas.

Por último para G4 el número de animales positivos fue de 2, en este caso los dos positivos fueron animales de engorda. Por el manejo que se da en esta granja los animales están sometidos a mayor estrés, por lo que los conejos pueden estar mas susceptibles a enfermarse y aunado a ello la limpieza en esta granja se realiza al finalizar el ciclo productivo, es decir que se limpia en el momento en que la coneja esta gestante hasta el que los animales son sacrificados. En este caso se recomienda lo mismo que en las demás granjas, realizar muestreos periódicos ya que en el tiempo en que se tomaron las muestras, las conejas no estaban eliminando esporas.

Hablando acerca de las técnicas de tinción utilizadas para este trabajo, podemos decir que fueron de gran utilidad, ya que demostraron la presencia de esporas, que en ese momento eran las formas infectantes<sup>23</sup>. En el caso de la técnica de Blanco de Calcofluor M2R<sup>28</sup> posee una alta sensibilidad y requiere de poco tiempo de realización, sin embargo existe la posibilidad de generar algunos falsos positivos debido a la gran similitud de esporas de microspora con levaduras ya que se tiñen igual. Por tal situación fue necesario realizar la técnica de tinción de Weber<sup>29</sup> que aunque requiere de más tiempo de elaboración puede discernir entre esporas y levaduras.

Se puede concluir que aunque esta investigación demostró pocos animales positivos, se recomienda realizar muestreos periódicos no solo en estas granjas sino en todas las granjas cunícolas que haya en el país.

## LITERATURA CITADA.

- 1.-Lebas F, Producción y consumo de carne de conejo en el mundo. Cunicultura 2003; 149:11-24
- 2.-IFS. Workshop on Rabbit Husbandry in Africa. International Foundation for Science, Grev Turegatan.1978;38-114
- 3.-Martínez CM. Cunicultura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México D.F 1993;1
- 4.-Lukefahr SD. Manual de proyectos de cunicultura. Primer Congreso de Cunicultura de las Américas de la sección americana de la asociación científica mundial de cunicultura. Colegio de Postgraduados. Editorial Heifer Project International.1998.
- 5.-El Manual Merk de Veterinaria. Océano Grupo Editorial. Quinta edición 2000;1563-1565.
- 6.-Duarte R, Victor Manuel. Seroprevalencia *Toxoplasma gondii* y factores de riesgo en tres diferentes Sistemas de Producción en conejos. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México D,F 2004.
- 7.-<http://www.engormix.com/Nuevo/prueba/areaiecunicultura1.asp2003>
- 8.-Asociación Nacional de Cunicultores de México A.C. Conejos. Año1, número 0, Octubre-Noviembre-Diciembre de 2003; 14
- 9.-Lleonart RF, Campo JL, Valls PR, Castello LJ. Tratado de Cunicultura 1. Real Escuela Oficial y Superior de Avicultura. Primera Edición 1980; 13-16
- 10.-Canning, Kreier, J.P. and Baker, R.J. Microsporidia. Parasitic protozoa 2nd ed., Vol. 6. Academic. Press in New York. E. U. 1993; 299-385.

- 11.-Wasson K, Peper RL. Mammalian microsporidiosis. *Veterinary Pathology* 2000;37:113-128
- 12.-Rosell Pujol JM. Enfermedades del conejo. 2 tomos. Ediciones Mundi Prensas. 2000
- 13.-Wright J H, Craighead E M. Infectious motor paralysis in young rabbit. *J Exp Med* 1992; 36:135-140.
- 14.-Levaditi C, Nicolau S, Schoen R. L'agent etiologique de l'encéphalite epizootique du lapin (*Encephalitozoon cuniculi*). *C.R. Soc Biol Paris* 1923; 89:984-986.
- 15.-Weiser J. On the taxonomic position of the genus *Encephalitozoon* Levaditi, Nicolau & Schoen, 1923 (Protozoa, Microsporidia). *Parasitology* 1964; 54:749-751.
- 16.- El Nass A, Levkut M, revajova V, Levkutova M, Hipikova V, Letkova V. Immune response to *Encephalitozoon cuniculi* infection in laboratory mice. *Vet Parasitol* 1999; 82 (2): 137-43
- 17.-Biderre C, Mathis A, Deplazes P, Weber R, Metenier G, Vivares CP. Molecular karyotype diversity in the microsporidian *Encephalitozoon cuniculi*. *Parasitology*. 1999;118:439-445.
- 18.-Sobottka I, Albrecht H, Visvesvara GS, Pieniazek NJ, Deplazes P, Schwartz DA, Laufs R, Elsner H-A. Inter and intra species karyotype variations among *Encephalitozoon* species as determined by pulsed-field gel electrophoresis. *Scand J Infec Dis* 1999;31:555-558.

- 19.-Xiao L, Li L. Visvesvara GS, Mours H, Didier ES, Lal AA. Genotyping *Encephalitozoon cuniculi* by multilocus analyses of genes with repetitive sequences. J Clin Microbiol 2001;39:2248-2253.
- 20.- Fuentealba IC, Mahoney NT, Shaddock JA, Harvill J, Wicher V, Wicher K. Hepatic lesions in rabbits infected with *Encephalitozoon cuniculi* administered per rectum. Vet Pathol 1992; 26:536-540.
- 21.-Hunt RD, King NW, Foster HL. Encephalitozoonosis: evidencia for vertical transmission. J Infec Dis 1972;126:212-214.
- 22.-Cox JC, Hamilton RC, Attwood HD: An investigation of the route and progression of *Encephalitozoon cuniculi* infection in adult rabbits. J Protozool 1979;26:260-265.
- 23.- Vavra J. Bedrnik P. And Cinatl J. Isolation and in vitro cultivation of the mammalian microsporidian *Encephalitozoon cuniculi*. Folia Parasitologica (Praha) 19- 349-354 1972.
- 24.- Wilson JM. The biology of *Encephalitozoon cuniculi*. Med Biol 1979;57:84-101.
- 25.- Abaza SM, Makhoul LM, el-Shewy KA, el-Moamly AA. Intestinal opportunistic parasites among different groups of immunocompromised hosts. J Egypt Soc Parasitol 1995; 25(3): 713-27.
- 26.- Pakes, S.P. Gerrity, L.W. (1994) Protozoal diseases. In the Biology of the Laboratory Rabbit, 2<sup>nd</sup> edn (P.J. Manning, D.H. Ringler, C.E. Newcomer, eds). Pp 205-224. Academic Press.
- 27.-<http://www.rabbit.org/journal3-2/e-cuniculi.html>

- 28.-Didier ES, Orenstein JM, Aldras A, Bertucci D, Rogers LB, Janney A.  
Comparisión of tree staining methods for detecting microsporidia in fluids. J  
Clin Microbiol 1995;33:3138-3145.
- 29.-Weber R, Bryan R T, Owen R L, *et al.* Improved light-microscopical detection  
of microsporidia spores in stool and duodenal aspirates. N Engl J Med 1992;  
326:161-166.
- 30.-Lynne SG. Laboratory Identification of the Microsporidia. Journal of Clinical  
Microbiology; June 2002; 1892-1901
- 31.- Flores G, Aydeé. Prevalencia de microspora durante un ciclo de producción  
en conejos Nueva Zelanda. Universidad Nacional Autónoma de México,  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México D,F 2004.

**Cuadro 1.- Realización del muestreo de orina en hembras en producción**

<b>Granja</b>	<b>Día de toma de muestras</b>	<b>Semana 1</b>	<b>Semana 2</b>	<b>Semana 3</b>	<b>Total</b>
Granja 1	Lunes	5	5	5	15
Granja 2	Martes	7	7	6	20
Granja 3	Miércoles	9	9	9	27
Granja 4	Jueves	12	12	12	36
Total		33	33	32	<b>98</b>

**Cuadro 2.- Realización del muestreo de orina en vejigas en animales de engorda**

Granja	Número de vejigas Semana 1	Número de vejigas Semana 2	Total
Granja 1	21	0	21
Granja 2	23	22	45
Granja 3	27	27	54
Granja 4	36	35	71
<b>Total</b>	<b>107</b>	<b>84</b>	<b>191</b>

G 1     5(a) x 15(b) = 75

75  
-4 (menos el 5% de mortalidad en lactancia)  
71  
-1 (menos el 1% de mortalidad en engorda)  
70 gazapos finalizados  
70 x 0.30(c) = 21  
21 muestras de vejigas

G 2     8(a) x 20(b) = 160

160  
-8 (menos el 5% de mortalidad en lactancia)  
152  
-2 (menos el 1% de mortalidad en engorda)  
150 gazapos finalizados  
150 x 0.30(c) = 45  
45 muestras de vejigas

G 3     7(a) x 27(b) = 189

189  
-10 (menos el 5% de mortalidad en lactancia)  
179  
-2 (menos el 1% de mortalidad en engorda)  
177 gazapos finalizados  
177 x 0.30(c) = 54  
54 muestras de vejigas

G 4     7(a) x 36(b) = 252

252  
-13 (menos el 5% de mortalidad en lactancia)  
239  
-3 (menos el 1% de mortalidad en engorda)  
236 gazapos finalizados  
236 x 0.30(c) = 71  
71 muestras de vejigas

**a = Número de gazapos nacidos vivos por hembra por parto**  
**b = Número de hembras muestreadas**  
**c = Se tomó el 30% de vejigas del total de gazapos finalizados**

**Cuadro 3.-Resultado del muestreo en orina de hembras en producción**

Granja	Muestras tomadas	Realizadas con BCF M2R *	Positivas mediante BCF M2R *	Realizadas con W **	Positivas mediante W **	Total de positivas	%
G1	15	15	-	-	-	-	0%
G2	20	20	1	1	1	1	5%
G3	27	27	1	1	1	1	3.7%
G4	36	36	-	-	-	-	0%
<b>TOTAL</b>	<b>98</b>	<b>98</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2%</b>

\* BCF M2R. Tinción de Blanco de Calcofluor M2R

\*\* W. Tinción de Weber

**Cuadro 4.- Resultado del muestreo en orina de los animales de engorda**

Granja	Muestras tomadas	Realizadas con BCF M2R *	Positivas mediante BCF M2R *	Realizadas con W **	Positivas mediante W **	Total de positivas	%
G1	21	21	-	-	-	-	0%
G2	45	45	-	-	-	-	0%
G3	54	54	1	1	1	1	1.8%
G4	71	71	2	2	2	2	2.8%
<b>TOTAL</b>	<b>191</b>	<b>191</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>1.5%</b>

\* BCF M2R. Tinción de Blanco de Calcofluor M2R

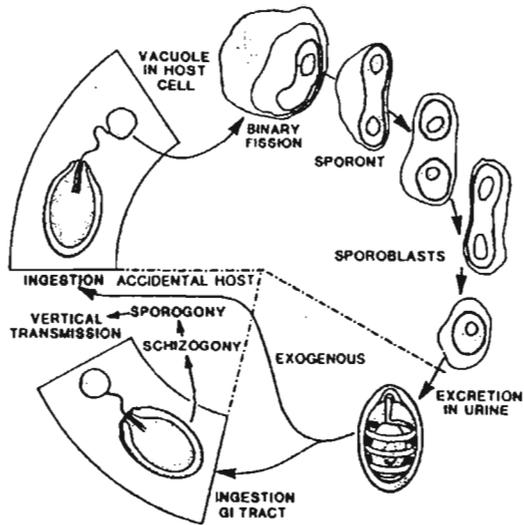
\*\* W. Tinción de Weber

**Cuadro 5.- Resultados del muestreo total de orina**

Granja	Total de muestras	Realizadas con BCF M2R *	Positivas mediante BCF M2R *	Realizadas con W **	Positivas mediante W **	Total de positivas	%
G1	36	36	-	-	-	-	0%
G2	65	65	1	1	1	1	1.5%
G3	81	81	2	2	2	2	2.4%
G4	107	107	2	2	2	2	1.8%
<b>TOTAL</b>	<b>289</b>	<b>289</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>1.7%</b>

\* BCF M2R. Tinción de Blanco de Calcofluor M2R

\*\* W. Tinción de Weber



**Figura 1.- Ciclo de los microsporidios**

Tomado de la referencia 30; Lynne SG. Laboratory Identification of the Microsporidia. Journal of Clinical Microbiology; June 2002; 1892-1901