

281

201



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



Determinar la Incidencia de Criptosporidiasis en el Perro Doméstico con y sin la Presencia de Semiología Entérica.

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
SILVIA MARTHA SANCHEZ NICOLAT

Asesores: MVZ. REYNA SANCHEZ SAN MARTIN
MVZ. LUIS RAMIREZ O.



ESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO. D. F.

1991



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 está 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.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	10
DISCUSION.....	11
LITERATURA CITADA.....	13
FIGURAS.....	16
GRAFICAS.....	18 y 19

RESUMEN

SANCHEZ NICOLAT, SILVIA MARTHA. Determinar la incidencia de Criptosporidiasis en el perro doméstico con y sin la presencia de semiología entérica (bajo la dirección de: MVZ Reyna Sánchez San Martín y MVZ Luis E. Ramírez O.

A través de los años, se han identificado numerosos agentes etiológicos capaces de ocasionar cuadros entéricos en perros, sin embargo, se presentan infecciones cuya causa permanece indeterminada, y por esto, los esfuerzos para identificar agentes productores de enteritis no descritos con anterioridad no deben menospreciarse y el Cryptosporidium spp es un ejemplo de esto (9). Para llevar a cabo esta investigación se determinó la incidencia de Criptosporidiasis en el perro doméstico con y sin la presencia de semiología entérica. Se examinaron 30 perros, de los cuales 15 no presentaban cuadro diarreico (grupo A) y 15 con cuadro diarreico (grupo B). De estos perros, se tomó historia clínica y seguimiento del caso hasta el diagnóstico final; el excremento se tomó directamente del recto, durante 3 días seguidos, se utilizó la técnica de flotación de Anderson para la obtención de oocistos y la técnica de Ziehl-Neelsen modificada para su tinción. Encontrando que el Cryptosporidium spp se presentó en 6 perros con moquillo, 5 con parvovirus y en uno con terapia inmunodepresora, sin embargo, también estuvo presente en 3 perros donde

el diagnóstico no fué establecido, por lo que en este caso se pensó que el Cryptosporidium spp era la causa de la semiología entérica. Se concluyó que el Cryptosporidium spp es un agente patógeno que puede encontrarse asociado a enfermedades inmunosupresoras (moquillo y parvovirus canina), y que debido a la relación social que existe entre el hombre y el perro, el riesgo de infección (zoonosis) es altísimo, ya que carece de especificidad de especie y son factibles las infecciones cruzadas (11, 19,22).

INTRODUCCION.

La diarrea en los perros, continúa siendo uno de los principales problemas en un consultorio veterinario. La diarrea, no es una enfermedad, es un signo importante de varias enfermedades que afectan el sistema digestivo. Entre las enfermedades infecciosas se encuentran los siguientes grupos: parasitarias, virales, bacterianas; y las no infecciosas: nutricionales y medicamentosas (7,9,11,16). Este signo, se manifiesta como un aumento en la frecuencia de las evacuaciones y también aumento en la fluidez de la materia fecal (8,10,21), esto provoca que no haya buena absorción de nutrientes de los alimentos ingeridos (23), por lo que el paciente presenta debilidad, deshidratación y desequilibrio electrolítico (acidosis) lo que conlleva a choque y muy probablemente a la muerte (15,17, 21).

A través de los años se han identificado numerosos agentes etiológicos capaces de ocasionar cuadros entéricos en perros, sin embargo, se presentan infecciones cuya causa permanece indeterminada, y por esto, los esfuerzos para identificar agentes productores de enteritis no descritos con anterioridad no deben menospreciarse, y el Cryptosporidium spp es un ejemplo de esto (9). Este parásito, se aloja en la superficie de las microvellosidades de las células epiteliales del intestino, causando atrofia de las mismas (1,7,16,22,23), por lo tanto ocurre desequilibrio en el lumen intestinal produciendo diarrea (3,4,6,8,11,13,14,20). En México, la Criptosporidiasis se ha descrito en bovinos lactantes criados en sistemas intensivos (16), pero aún no se ha informado en perros. Sin embargo, en E.U.A. se han descrito dos casos de Criptosporidiasis en perros, ambos cachorros, uno de ellos infectado con el virus del moquillo canino (7), el otro, únicamente con historia de diarrea aguda (23);

en otros países se ha descrito en mamíferos, aves y reptiles (2,5,9,10, 12,21).

Las infecciones por Cryptosporidium spp, generalmente se encuentran asociadas a una deficiente protección inmune, como es el caso de los pacientes con quimioterapia, enfermedades inmunosupresoras y animales jóvenes (2,8,9,17,23), por esto se considera al Cryptosporidium spp como patógeno oportunista. Sin embargo, se le ha encontrado solo y con capacidad de producir lesiones en el intestino (1,4), las que se manifiestan de una manera clínica como diarrea, anorexia y pérdida de peso (16), por otro lado, también se le ha encontrado en animales clínicamente sanos (1,9,11). La Criptosporidiasis ha adquirido gran importancia en los últimos años, ya que se ha descrito asociada al síndrome de diarrea neonatal en especies productivas, y los animales que padecen esta enfermedad se consideran como fuente potencial de infección para el hombre (zoonosis) (13,16). Se ha demostrado que el parásito carece de especificidad de especie y que son posibles las infecciones cruzadas (11,19,22). Debido a la relación social que existe entre el perro y el hombre, el riesgo de infección (zoonosis) es altísimo, pudiendo ser mas afectados los niños, ancianos y personas con alto contacto con los perros (médicos veterinarios, criadores, entrenadores), en donde el síntoma principal es la diarrea aguda que no responde al tratamiento (no responsiva) (4,6,8,17). En el caso particular de México, cabe pensar que esta enfermedad ha existido desde hace años, por lo menos se ha informado en becerros (3,18,20,21), pero no se diagnosticó debido a las dificultades para la identificación del agente, ya que por un lado la literatura no mencionaba el papel exacto como agente patógeno, por el otro lado la dificultad para su obtención por técnicas tradicionales y la posibilidad de confundirse al ser obser-

vado por personal con poca experiencia (16). La Criptosporidiasis, es una enfermedad parasitaria que afecta el sistema digestivo de los animales (3,4,9,11). Es causada por un protozoario del género *Cryptosporidium*, de la familia Criptosporidiíea, suborden Eimerina, este suborden consta aproximadamente de 8 familias con alrededor de 1500 especies (12,14,15,17). Levine estudió al parásito y concluyó que solo existían cuatro especies: *C. muris* Tyzzer, 1907 (mamíferos); *C. crotali* Triffitt, 1925 (reptiles); *C. meleagridis* Slavin, 1955 (aves); *C. nasorum* Hover, Hoerr et al., 1981 (peces) (11). Mas adelante, se descubrió que estos no son específicos de especie (2,3,8,18,20), encontrándose en una gran variedad de especies como reptiles, pollos, gansos, monos, humanos, conejos, cabras, potros, gatos, perros, becerros, cerdos y ratones entre otros (3,4,5,7,9,11,13, 22). El *Cryptosporidium* spp es oval o redondo, mide de 3 a 5 um de diámetro; y en la mayoría de las especies, el parásito se encuentra en el aparato digestivo, donde en apariencia solo invade el borde de las microvellosidades de las células epiteliales (9), aunque en pollos, se le ha encontrado en la bolsa de Fabricio, y ha sido observado en el epitelio respiratorio de pavos y en el hombre (9,16).

El ciclo del parásito es monoxénico y similar al de otros organismos de la clase Sporozoa, como los miembros del género *Isospora*. Pero a diferencia de las otras coccidias, la esporulación de este parásito tiene lugar en el lumen intestinal y es debido a eso que las heces recién evacuadas de animales enfermos son ya infectantes (9,16,20). El *Cryptosporidium* spp tiene como fase infectante al oocisto maduro, que tiene cuatro esporozoitos, tal como se ha observado en el contenido intestinal de ratones infectados experimentalmente, así como en animales infectados en forma natural. Al ser excretado con las heces, los oocistos son infectantes para

otros animales sin que sufran transformación externa alguna (9). Al ser ingeridos los oocistos liberan esporozoitos, posiblemente cuando la pared del oocisto es digerida por el aparato gastrointestinal. El trofozoito, es el estadio mas temprano del desarrollo del parásito, tanto este como los demás estadios de desarrollo se encuentran solo en la superficie de las membranas epiteliales, tal es el caso del tracto gastrointestinal, y en caso particular de las aves sobre el epitelio de la traquea (9).

Se ha observado en el microscopio electrónico que el trofozoito forma una zona electrodensa en su interfase con la célula hospedadora y que el citoplasma está rodeado por cuatro membranas distintas. Algunos autores creen que esta membrana es del parásito, pero evidencias recientes sugieren que las dos membranas externas son originadas del huésped, por lo que puede considerarse parásito intracelular pero extracitoplasmático (9).

En la fase siguiente, los trofozoitos sufren tres divisiones nucleares, para formar ocho merozoitos, a la estructura resultante se le llama primera generación de esquizontes. Los ocho merozoitos de la primera generación son liberados del esquizonte infectando otras células epiteliales.

Después del ataque de los merozoitos alargados cambian a redondos y llevan a cabo dos divisiones nucleares convirtiéndose en esquizontes de segunda generación, que contienen cuatro merozoitos de segunda generación (9). Por lo tanto el esquizonte que contiene ocho merozoitos es de primera generación y el que contiene cuatro merozoitos, corresponde a la segunda generación. Esto, está basado en un estudio realizado en hamsters, en los que después de la inoculación se detectaron trofozoitos en tres a cuatro días post infección, en tanto que en esquizontes con ocho merozoitos de siete a nueve días, y por último de cuatro merozoitos de once a catorce días posterior a la inoculación (9).

Como en otros esporozoarios, se presentan células sexuales diferenciadas que se identifican como macrogametocitos y microgametocitos. El macrogametocito sufre un pequeño cambio y se convierte en macrogameto. En tanto el microgametocito sufre división nuclear y forma algunos microgametos. El número exacto de microgametos no se conoce, pero se cree que son entre doce y dieciséis. Un microgameto se une con un macrogameto para formar un cigoto, del cual se desarrolla un oocisto, completando así el ciclo de vida (9) (Figural).

Se afirma que la infección se adquiere, en los casos de parasitosis intestinal por vía buco-fecal y se sugiere que en aquellos en donde la infección sea respiratoria pueda ser por vía nasal a través de aerosoles producidos por animales enfermos (16).

Un estudio experimental mostró que los perros son susceptibles a la infección por Cryptosporidium spp y podía actuar como fuente reservoria capaz de infectar al hombre (22), pero también hay que considerar otros estudios que sugieren la transmisión persona a persona, de forma especial hacia los niños vía buco-fecal y esto, en un momento dado puede sugerir que la infección primaria, no es unicamente de los animales, sino que hay que considerar otras fuentes de infección (13). El signo principal de esta enfermedad es la diarrea aguda, que algunas veces presenta estrías de sangre,, además de toda la semiología característica de una afección entérica (2,4,5,7,12,23).

A la necropsia, estos animales presentan pequeñas cantidades de materia fecal semi-fluida en el lumen intestinal con estrías sanguinolentas. En el estudio microscópico se puede observar atrofia de las vellosidades, descamación y hemorragias, en la lámina propia infiltración de células mononucleares (3,7,8). En estudios ultraestructurales hechos en bovinos,

se pudo comprobar que las células de las criptas presentan abundante retículo endoplásmico con núcleo prominente, también se pudieron observar estructuras polinucleares, cada una con su propia envoltura nuclear, donde estas correspondían a estados de maduración de trofozoitos y merozoitos (23). Todos estos cambios conducen a una pérdida de la homeostasis en la dinámica intestinal y por lo tanto a la diarrea. Hasta ahora, no se ha informado sobre algún tratamiento efectivo contra esta enfermedad (9), por lo que resulta mortal en humanos y animales inmunodeprimidos (6,7,17,19, 23), porque se ha demostrado que las inmunoglobulinas y sobre todo la IgA juegan un papel muy importante en las enfermedades del sistema gastrointestinal (22).

Recientemente se realizaron estudios para el diagnóstico de la Criptosporidiasis y se concluyó que las pruebas óptimas para la obtención y tinción de oocistos son la técnica de Anderson y la técnica de Ziehl-Neelsen modificada (16).

HIPOTESIS.

Algunos perros con y sin cuadros enteros diarreicos están infectados con Cryptosporidium spp .

OBJETIVO.

Determinar la incidencia de Cryptosporidium spp en perros clínicamente sanos y en aquellos que presentan cuadro entero diarreico.

MATERIAL Y METODOS.

Se tomaron 30 muestras de heces de perros en total porque es un número representativo del total de la población que asiste al Hospital Veterinario

de la FMVZ de la UNAM a la sección de Medicina con problemas gastrointestinales), de los cuales 15 fueron muestreados aleatoriamente en perros presentados al Hospital Veterinario por cualquier otra afección diferente a cuadro diarreico (grupo A) y 15, con cuadro diarreico (grupo B). Las muestras se tomaron directamente del recto. De cada perro se obtuvieron 3 muestras con un intervalo de 72 horas aproximadamente. Posteriormente se realizó la técnica de Anderson para obtener los oocistos y se tiñeron con la técnica de Ziehl-Neelsen modificada, para ser observados al microscopio óptico.

Técnica de Anderson (16)

- 1.- Suspender 5g de heces en 20ml de agua destilada.
- 2.- Filtrar a través de 4 capas de gasa.
- 3.- Colocar, de la suspensión obtenida 10ml en un tubo de centrifuga y 10ml en otro.
- 4.- Centrifugar el sobrenadante por 10 minutos a 500x g.
- 5.- Decantar el sobrenadante. Resuspender el sedimento en una solución de flotación con gravedad específica de 1.27 (azúcar granulada: 454g; agua destilada:355ml; y fenol licuado:6.7ml).
- 6.- Repetir la centrifugación a 500 x g durante 10 minutos.

Técnica modificada de Ziehl-Neelsen (16)

- 1.- Secar el frotis a temperatura ambiente.
- 2.- Fijar en metanol absoluto durante 5 minutos.
- 3.- Secar a temperatura ambiente.
- 4.- Fijar brevemente al calor de la flama.
- 5.- Cubrir la laminilla con Carbol fucsina (sin calentar y dejar actuar por 20 o 30 minutos).
- 6.- Enjuagar con agua corriente.
- 7.- Aclarar con ácido sulfúrico (.25-10% durante 20 a 60 segundos).

- 8.- Enjuagar con agua corriente.
- 9.- Contrateñir con verde malaquita al 5% durante 5 minutos.
- 10.- Enjuagar con agua corriente.
- 11.- Secar a temperatura ambiente.
- 12.- Montar el cubre objetos con resina.

RESULTADOS.

Se analizaron 30 casos de perros con el fin de detectar la presencia de Cryptosporidium spp, de estos, 15 con semiología gastroentérica (grupoB) por diferentes agentes etiológicos: 6 con enfermedad de Carré, 5 con parvovirus canina, 1 paciente con tratamiento inmunodepresor y solo 3 sin diagnóstico preciso determinado; de este grupo, el 100% presentaron Cryptosporidium spp en heces. (gráfica 1). Figuras 2 y 3.

El grupo A, que era el de perros sin cuadro entero diarreico, resultaron negativos a Cryptosporidium spp, por lo que a este grupo se le consideró como grupo control. (Gráfica 2).

Los diagnósticos para cada agente etiológico se determinaron con pruebas específicas para cada uno, (para el diagnóstico de enfermedad de Carré, se realizó raspado conjuntival para la observación de cuerpos de inclusión, y para el diagnóstico de parvovirus canino, se obtuvieron muestras de excremento para llevar a cabo la prueba de hemoaglutinación).

DISCUSION.

En base al estudio que se practicó para determinar la incidencia de Cryptosporidium spp en 30 perros, 15 sin cuadro entero diarreico (grupo A) y 15 con cuadro entero diarreico (grupo B), se puede decir que los resultados obtenidos fueron los esperados, de acuerdo a las investigaciones anteriores (Anderson, B.C.), yá que del grupo B el 100% de los perros resultaron positivos a este protozoario, y el grupo A resultaron negativos, aunque, por otro lado también se ha encontrado este parásito en animales clínicamente sanos, tal como lo citan: Anderson, B.C., González, C., - Jayma, A.M. y Lindsay, D.S.

El grupo B, a su vez se dividió de acuerdo al agente primario causante de la diarrea:

En seis perros de los 15 que representan al grupo B presentaron enfermedad de Carré asociada a Cryptosporidium spp, lo que representa el 40% del total de este grupo, dato que concuerda con Fukushima, K. y Helman, R.G. que informan solo 1 caso con esta asociación.

Sin embargo también se obtuvieron muestras positivas a este parásito en pacientes con parvovirus, que fueron 5 y representan el 33% de este grupo. Esto no ha sido informado en la literatura, pero considerando que la parvovirus es una enfermedad inmunosupresora, era de esperarse la asociación con Cryptosporidium spp.

Otra entidad en la que también se encontró al parásito, fué en el caso de un paciente tratado con quimioterapia, que representa el 6.6% de este grupo, porque, como se sabe este tipo de tratamiento es inmunodepresor. Por otro lado, 3 del resto del grupo, no se determinó el agente primario del cuadro diarreico, por lo que se propone que la presencia de Cryptosporidium spp pudo ser el único agente culpable del desorden gastroentérico

como lo cita Anderson, B.C., y esto representa el 20% del grupo.

En este trabajo se demostró la presencia de Cryptosporidium spp tanto asociado a enfermedades inmunodepresoras y como agente causal de cuadro entero diarreico en perros, como lo cita Meisel, J.L., Perera, D.R. y Dubin, C.E.

LITERATURA CITADA.

- (1). Anderson, B.C.:Is criptosporidial infection responsible for diarrhea?
Cal. vet., 9:9-10 (1982).
- (2). Anderson, B.C., Dondelinger, T., Wilkins, R.M. and Smith, J.:
Criptosporidiosis in a veterinary student. J.Am. vet. med. ass., 180:
408-409 (1982).
- (3). Angus, K.W., Tzipori and Gray, E.W.:Intestinal lesions in specific
pathogen free lambs. Associated with a criptosporidium from calves
with diarrhea. Vet. Pathol., 19:67-78 (1982).
- (4). Babb, R.R., Differding, J.T. and Trollope, M.L.:Cryptosporidia
enteritis in a healthy professional athlete. Am.J.Gastroen., 77:833-
834(1982).
- (5). Berg, I.E., Peeterson, A.C. and Freeman, T.P.:Ovine criptosporidiosis
J. Am. vet. Ass., 173:1586-1587 (1978).
- (6). Preda, A.N., Burek, J.D., and Page, D.L.:Acute enterocolitis in a
human being infected with the protozoan criptosporidium.
Gastroenterology, 70:592-598 (1976).
- (7). Fukushima, K. and Helman, R.G.:Cryptosporidiosis in a pup with -
distemper. Vet. Path., 21:247-248 (1984).
- (8). Grant, N.S., Hayashi, T.M., Glober, A.G. and Oishi, N.:Cryptospori-
diosis. Report of a fatal case complicated by disseminated -
toxoplasmosis. Am.J.Med., 69:637-642 (1980).
- (9). González, C., Reyes, E., Conde, C. y Calderón, E.:Criptosporidiosis.
Infectología, 6:240-245 (1985).
- (10). Inman, L. and Takeuchi, A.:Spontaneous criptosporidiosis in an adult
female rabbit. Vet. Pathol., 16:89-95 (1979).

- (11). Jayma, A.M., Byron, L.B. and Lindsay, D.S.: Cryptosporidiasis in animals including humans. Contin. Educ., 10:275-282 (1988).
- (12). Kennedy, G.A., Kreitner, G.L. and Straffus, D.V.: Cryptosporidiosis in three pigs. J. Am. vet. med. Ass., 170:348-350 (1975).
- (13). Kirkpatrick, C.E. and Dubey, J.P.: enteric coccidial infections. Isospora, sarcocystis, cryptosporidium, besnotia and hamonondia. Vet. Clin. of North. Am.: Small Anim. Pract., 17:1405-1407 (1987).
- (14). Links, I.J.: Cryptosporidial infection of piglets. Australian Vet. J., 58:60-62 (1982).
- (15). Martínez, R.R.: Criptosporidiosis en lechones. Síntesis Porcina, 20:20-30 (1989).
- (16). Martínez, V.A.: Evaluación de dos métodos de tinción de frotis fecales para el diagnóstico de criptosporidiasis en heces de becerros. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México (1985).
- (17). Meisel, J.L., Perera, D.R. and Rubin, C.E.: Overwhelming watery diarrhea associated with a Cryptosporidium in an immunosupressed patient. Gastroenterology, 70:1156-1160 (1976).
- (18). Moon, H.W. and Bemrick, W.J.: Fecal transmission of calf cryptosporidia between calves and pigs. Vet. Pathol., 18:248-255 (1981).
- (19). Moon, H.W., Schwartz, A., Welch, M.L., Mc Cann, P.P. and Runnels, P.L.: Experimental fecal transmission of human cryptosporidia to pigs, and treatment with ornithine decarboxylase inhibitor. Vet. Pathol., 19:700-707 (1982).
- (20). Pohlenz, J., Bemrick, W.J., Moon, H.W. and Cheville, M.F.: Bovine cryptosporidiosis: A transmission an scanning electron microscopic study of some stages in the life cycle of the host relationship.

Vet. Pathol. 15:417-427 (1978).

- (21). Pohlenz, J., Moon, H.W. and Benrick, W.J.:Cryptosporidiasis as a probable factor neonatal diarrhea of calves. J. Am. vet. med. Ass. 172:452-457 (1978).
- (22). Tzipori, S., Angus, K.W.Campbell, I. and Gray, E.W.:Cryptosporidium evidence for a single-species genus. Infect. Immun., 30:884-886(1980)
- (23). Wilson, R.B.:Cryptosporidiosis in a pup. J. Am. vet. med. Ass.,183: 1005-1006 (1983).

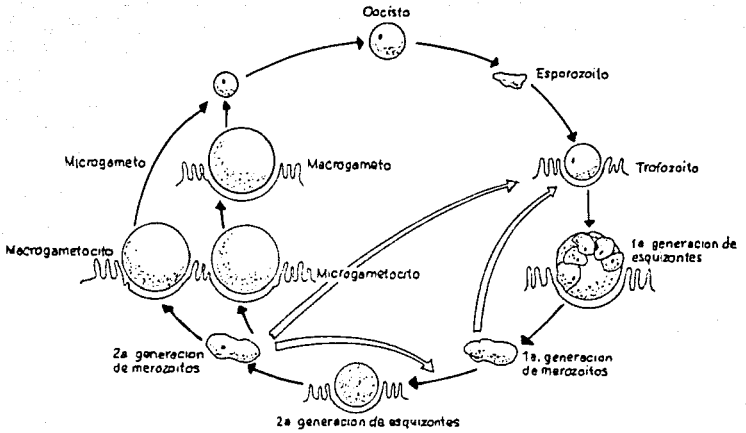


Figura 1. Ciclo de vida de *Cryptosporidium* (Tomado de González,

C., Reyes, E., Conde, C. y Calderón, E.).



Figura 2. Frotis de materia fecal de perro ilustrando al Cryptosporidium spp. Z.N.modificada 40 x.

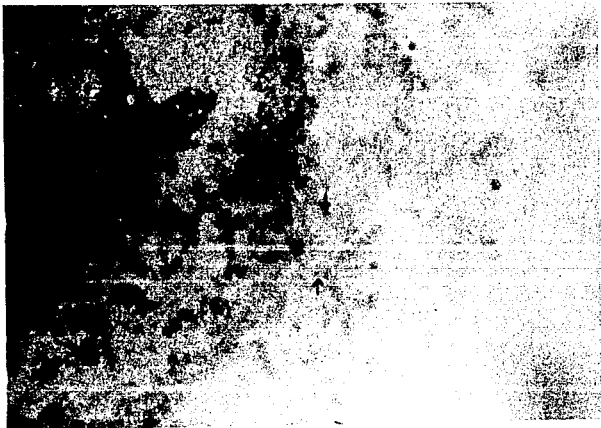
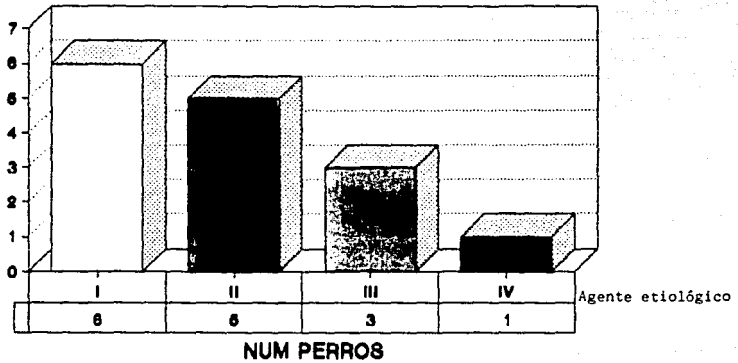


Figura 3. Frotis de materia fecal de perro, en el que se observa al Cryptosporidium spp. Z.N.modificada. 100 x.

GRAFICA 1

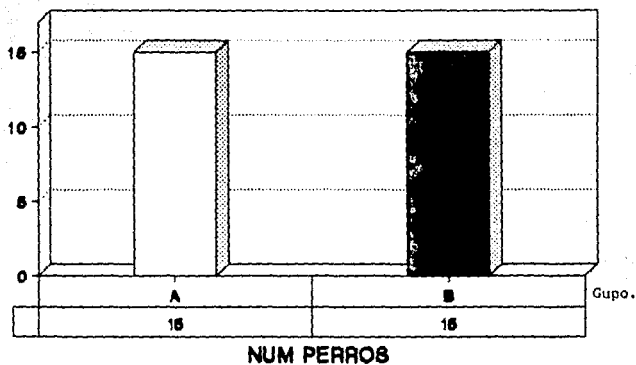
GRUPO B



- I. Enf. de Carré
- II. Parvovirus canina.
- III. Sin diagnóstico determinado.
- IV. Tratamiento inmunodepresor

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

GRAFICA 2 GRUPO A Y B



A. Grupo A sin cuadro diarreico.

B. Grupo B con cuadro diarreico.

GRAFICAS 1 Y 2. ANALISIS DE LA DISTRIBUCION DE CRYPTOSPORIDIUM SPP
EN 30 PERROS.