

## PREVALENCIA DE *Cryptosporidium* Y *Eimeria* EN POTRILLOS DE CARRERA EN LA COSTA DEL DEPARTAMENTO DE LIMA

Miguel Ocampo V.,<sup>1</sup> Teresa López U.,<sup>2</sup> Armando González Z.<sup>3</sup> y Marcos Copaira M.<sup>4</sup>

### Abstract

The aim of the study was to determine the prevalence of *Cryptosporidium* and *Eimeria* in thoroughbred foals from Lima. During the months from August through December 1998, a total of 369 fecal samples were collected at several breeding centers from suckling foals aged 0 to 52 weeks. Direct fresh smears were fixed with methanol and processed using modified Ziehl Neelsen stain for cryptosporidia diagnosis. For *Eimeria*, the samples were concentrated using Formalin-ether sedimentation and examined microscopically. *Cryptosporidium* prevalence was  $48 \pm 5\%$  (176/369) with a corrected value of  $55 \pm 5\%$ , and statistically significant differences were found among animals belonging to different age groups ( $P < 0.001$ ). Six out of the 369 samples examined for *Eimeria* were positive ( $2 \pm 1\%$ ). None of the *Cryptosporidium* or *Eimeria* positive foals had diarrhea, and the two foals with diarrhea tested negative to both protozoa.

**Key words:** *Cryptosporidium*, cryptosporidiosis, *Eimeria*, eimeriosis, equines.

### Resumen

Se determinó la prevalencia de *Cryptosporidium* y *Eimeria* en muestras fecales ( $n=369$ ) recolectadas de potrillos de carrera de 0 hasta 52 semanas de edad, en diversos centros de crianza localizados en la costa del departamento de Lima, durante el período de agosto a diciembre de 1998. Un frotis de heces frescas fue fijado con metanol y teñidos con la técnica de Ziehl Neelsen Modificado para el diagnóstico de criptosporidia. Para el diagnóstico de *Eimeria* las muestras fueron concentradas usando la técnica de sedimentación en formol-éter, luego el sedimento fue examinado directamente para detectar a este parásito. La prevalencia de *Cryptosporidium* fue de  $48 \pm 5\%$  (176/369), con una prevalencia corregida de  $55 \pm 5\%$ , pudiéndose observar diferencias significativas entre los diferentes grupos etáreos ( $P < 0.001$ ). Seis de las 369 muestras examinadas para *Eimeria* fueron positivas ( $2 \pm 1\%$ ). Ninguno de los potrillos positivos a *Cryptosporidium* o *Eimeria* presentaban diarrea. Sin embargo, los dos potrillos en los que se observó diarrea fueron negativos a ambos protozoarios.

**Palabras claves:** *Cryptosporidium*, criptosporidiosis, *Eimeria*, eimeriosis, equinos.

<sup>1</sup> Práctica Privada

<sup>2</sup> Laboratorio de Parasitología-FMV-UNMSM

<sup>3</sup> Medicina Veterinaria Preventiva-FMV-UNMSM

<sup>4</sup> Salud Animal y Salud Pública-FMV-UNMSM

## Introducción

El *Cryptosporidium* y la *Eimeria* son parásitos protozoarios que han resultado ser de significativa importancia en los equinos por ser causantes de una tasa de morbilidad relativamente alta en potrillos en diversos países y además, han sido descritas como causantes de infección en diferentes especies animales, entre mamíferos domésticos y silvestres, aves, reptiles e incluso el hombre (Anderson, 1982; Tzipori, 1983; Chermette & Boufassa, 1988; Angus, 1990).

La criptosporidiosis en equinos ha sido reportado en muchas partes del mundo (Tzipori, 1983; Xiao & Herd, 1994a) y ha sido asociado con la ocurrencia de diarrea en potrillos inmunodeficientes e inmunocompetentes (Snyder et al., 1978; Gibson et al., 1983; Coleman et al., 1989; Mair et al., 1990) además, de constituirse en un problema zoonótico (Johnson et al., 1997). La prevalencia de infección por *Eimeria* ha sido reportado en diversos países siendo esta muy variable (Mc Queary et al., 1977; Lyons et al., 1988; Beelitz et al., 1994) y su rol en la producción de diarrea en equinos no es muy clara.

El presente estudio ha sido diseñado para investigar la prevalencia de *Cryptosporidium* y *Eimeria* en potrillos de carrera, de diferentes grupos etáreos, en la costa del departamento de Lima.

## Materiales y Métodos

### Lugar de estudio y animales

Durante los meses de agosto a diciembre de 1998, se procedió al muestreo de 14 haras de caballos de carrera localizados: 6 en la zona sur (Cañete), 6 en la zona Norte (Sayán) y 2 en la zona centro (Chaclacayo) de la costa del departamento de Lima. Se recolectaron muestras fecales de 369 potrillos de carrera cuyas edades fluctuaban entre las

0 a 52 semanas, las muestras fueron tomadas directamente del recto o frescas recientemente excretadas; posteriormente, fueron transportadas al laboratorio en bolsas plásticas individualizadas e identificadas y se conservaron en refrigeración (4°C) para luego realizar el examen parasitológico.

### Identificación del parásito

Para el diagnóstico de ooquistes de *Cryptosporidium* se utilizó la tinción de Ziehl Neelsen Modificado (Henricksen y Pottlenz, 1981); para el cual se realizó un frotis de heces en un portaobjeto y se fijó luego en metanol por 5 minutos, el frotis luego se coloreó con fucsina fenicada por 20 minutos, se lavó y se decoloró con ácido sulfúrico al 2% por 20 segundos, luego de lavar se contrastó con verde malaquita 5% por 5 minutos, se lavó, secó y se observó al microscopio con objetivo 40X y 100X.

Para el diagnóstico de *Eimeria* se utilizó un método cualitativo de sedimentación en formol-éter (Ritchie) y un método cuantitativo de Mc Master Modificado, para realizar el recuento de ooquistes que hubieran resultado positivos al primer examen.

Para la sedimentación en formol-éter, se colocó en primer lugar una pequeña muestra de heces en un recipiente con 10 ml de formol al 10% y se dejó por 30 minutos, posteriormente, se tamizó en un tubo y se centrifugó a 1500 rpm por 5 minutos, se decantó luego el sobrenadante y el sedimento se resuspendió con formol y éter (7 y 3 ml, respectivamente), se tapó y agitó el tubo hasta mezclar completamente, y se centrifugó a 1500 rpm por 5 minutos, después del cual se formaron 4 capas decantando las 3 capas superiores, dejando el sedimento, el cual en un portaobjeto fue observado al microscopio a 10X y 40X para buscar ooquistes de *Eimeria*.

Para el método de Mc Master Modificado se homogeneizó 3 g de heces en 42 ml de agua, se tamizó y el filtrado se llenó en un tubo de 15 ml, luego de sedimentar se eliminó

el sobrenadante y se reemplazó con una solución salina (CINa), se homogeneizó, se tomó una muestra con un gotero y se llenó la cámara de Mc Master, y se procedió al conteo de los ooquistes en el microscopio.

## Resultados

### *Cryptosporidium*:

De las 369 muestra analizadas, 176 resultaron positivos a ooquistes de *Cryptosporidium parvum*, lo que representa una prevalencia de  $48 \pm 5\%$ , y una prevalencia corregida de  $55 \pm 5\%$ . (Cuadro 1).

En el Cuadro 2, se observa la distribución de animales positivos a *Cryptosporidium* de acuerdo a edad. Se distingue una mayor frecuencia en potrillos de 0 a 8 semanas de edad, existiendo una tendencia al descenso de animales positivos conforme avanza la edad, siendo estadísticamente significativo ( $P < 0.001$ ) en agrupaciones por rangos de edad de 8 semanas.

La prevalencia de potrillo positivos según zona de muestreo, fue de  $58 \pm 7\%$  en la zona sur;  $51 \pm 8\%$  en el norte y  $55 \pm 14\%$  en la zona centro; no observándose diferencias significativas ( $P > 0.05$ ).

Cuadro 1. Prevalencia corregida ( $\pm$  I.C.) en potrillos de carrera infectados por *Cryptosporidium* en la costa del Departamento de Lima (agosto a diciembre, 1998)

Condición	Muestras n	Positivos n	Porcentaje (%)	Prevalencia Corregida
Diarreicos	2	0	0	0
Sanos	367	176	48	$55 \pm 5\%$
Total	369	176	48	$55 \pm 5\%$

Cuadro 2. Prevalencia corregida ( $\pm$  I.C.) de *Cryptosporidium* según estrato etéreo en potrillos de carrera en la costa del Departamento de Lima (agosto a diciembre, 1998).

Edad (Semanas)	Muestras n	Positivos n	Porcentaje (%)	Prevalencia Corregida
0 - 8	54	39	72	$83 \pm 10\%$
9 - 16	27	17	63	$72 \pm 17\%$
17 - 24	111	54	49	$56 \pm 9\%$
25 - 32	69	29	42	$48 \pm 12\%$
33 - 40	50	20	40	$46 \pm 14\%$
41 - 52	58	17	29	$34 \pm 12\%$
Total	369	176	48	$55 \pm 5\%$

$X^2 0.001$ , 5 g. l. = 25.51 \*\*

Cuadro 3. Prevalencia de potrillos de carrera infectados por *Eimeria* en la costa del Departamento de Lima (agosto a diciembre, 1998)

Condición	Muestras n	Positivos n	Prevalencia
Diarreicos	2	0	0
Sanos	367	6	2 ± 1%
Total	369	6	2 ± 1%

***Eimeria:***

Mediante el método de sedimentación en formol éter y reevaluado por el método de flotación en solución salina, se obtuvo 6 muestras positivas a *Eimeria sp.* (Cuadro 3) lo que representa el 2% del total de animales muestreados, con una frecuencia de presentación de 2 ± 1% (I.C. 95%).

El Cuadro 4, muestra la distribución de animales positivos a *Eimeria* de acuerdo a la edad. Se observa que los 6 potrillos positivos oscilan entre las 9 a 32 semanas de edad; siendo mayor la frecuencia entre los de 25 a 32 semanas en donde se halló 4 animales infectados (6 ± 6%), y entre las 9 a 16 semanas y, entre las 17 a 24 semanas un animal

positivo en cada caso, hallándose una frecuencia de 4 ± 7% y 1 ± 2%, respectivamente.

Además por el método de Mc Master se logró obtener un rango de 50-150 ooquistes de *Eimeria sp.* por gramo de heces en los potrillos examinados.

### Discusión

Los resultados de este estudio han confirmado que la infección por *C. parvum* es común en los potrillos (Tzipori, 1985), con una prevalencia mayor que los reportados en otras partes del mundo (Chermette *et al.*, 1987; Xiao & Herd, 1994b), aunque algunos autores han reportado la presencia de la

Cuadro 4. Prevalencia de *Eimeria* según estrato etéreo en potrillos de carrera en la costa del Departamento de Lima (agosto a diciembre, 1998)

Edad ( Semanas )	Muestras n	Positivos n	Prevalencia
0 - 8	54	0	0
9 - 16	27	1	4 ± 7%
17 - 24	111	1	1 ± 2%
25 - 32	69	4	6 ± 6%
33 - 40	50	0	0
41 - 52	58	0	0
Total	369	6	2 ± 1%

infección en más del 90% de los potrillos y caballos adultos estudiados, sugiriendo un alto rango de exposición de los equinos a este parásito (Tzipori & Campbell, 1981) (Coleman *et al.*, 1989).

Esta alta prevalencia de la infección pudo haber sido influenciada por varios factores como: incremento de animales destetados (mayores de 5 meses) positivos a *C. parvum*, aumentando el riesgo de contaminación de los pastos y la infección a potrillos más jóvenes, temperaturas adecuadas durante el año que puede haber contribuido a una mejor esporulación de los ooquistes diseminados en el medio, diferencias en el manejo de los haras comparada con otros países, y el uso constante de los mismos potreros lo que permite una mayor acumulación del parásito en los pastizales.

No se encontró asociación entre animales positivos a criptosporidiosis en animales aparentemente sanos (48%) *versus* potrillos con diarrea (0%). Estos resultados confirman estudios anteriores donde se hallaron rangos de 2.4 a 60% de potrillos aparentemente normales infectados con el parásito sin signos de diarrea (Xiao & Herd, 1994a).

Los efectos patogénicos del *Cryptosporidium* aún no están claros, algunos autores aseguran que la presencia de signos clínicos tiene que ver con la intensidad de la infección (Xiao & Herd, 1994 a), mientras que otros señalan que una inmunodepresión es necesaria para la presencia de cuadros de diarrea en equinos (Gibson *et al.*, 1983; Mair *et al.*, 1990).

Los animales positivos fueron encontrados en todos los grupos etáreos estudiados. La mayor prevalencia fue registrada entre las 0 a 8 semana de edad y la infección ya estaba presente en potrillos menores de 4 semanas como fue reportado anteriormente en equinos (Xiao & Herd, 1994 a) y en ruminantes (Olson *et al.*, 1997), lo que podría deberse al período pre-patente del parásito

(4-5 días) (Anderson, 1982); susceptibilidad debido al poco desarrollo inmunológico (Tzipori, 1983) y/o al contacto que tienen los neonatos con potrillos infectados y, posiblemente con madres infectadas subclínicamente. (Coleman *et al.*, 1989; Xiao & Herd, 1994b).

A medida que la edad avanza se va desarrollando el sistema inmunológico (Rose, 1986), por lo que el número de animales positivos a *Cryptosporidium* va disminuyendo; además otros mecanismos no específicos como las barreras fisiológicas del intestino (Tzipori, 1985) y la presencia de una adecuada flora intestinal (Harp *et al.*, 1992) pueden estar involucrados en la resistencia a la infección aparte del sistema inmune.

En el presente trabajo se pudo observar que potrillos de hasta 52 semanas de edad presentaban la infección, tal como indican Chermette *et al.* (1987), Xiao & Herd (1994) y Lengronne *et al.* (1985) quienes reportaron potrillos de hasta 10 meses positivos a *C. parvum*, presentando algunos de ellos diarrea. La presentación de animales positivos en estas edades puede estar influenciada por infecciones tardías (Soulsby, 1987) o por el factor autoinfección (Fayer & Ungar, 1986), que sería la causa de largos períodos de excreción de ooquistes tal como fue reportado en gatos experimentalmente infectados (Asahi *et al.*, 1991).

Mediante el método de sedimentación en formol-éter y por el método de Mc Master Modificado, se encontró 6 ( $2 \pm 1\%$ ) potrillos positivos a *Eimeria sp.* El parásito observado resultó ser una *Eimeria sp.*, coccidia del cual se desconoce su ciclo de desarrollo, patogenicidad y prevalencia (Soulsby, 1987). Sólo un estudio realizado tiempo atrás, reporta la presencia de *Eimeria sp.* en equinos de Lima (Chávez & Guerrero, 1960). La *E. leuckarti*, coccidia ampliamente distribuida en el mundo con prevalencias de 40 a 80% (Lyons *et al.*, 1988; Beelitz *et al.*, 1994), no pudo ser observada lo que sugiere la no existencia de

este parásito dentro de la zona de muestreo o estaría muy por debajo de los límites registrados en otros estudios (Lyons *et al.*, 1988).

De los seis potrillos positivos a *Eimeria sp.* ninguno presentaba cuadro de diarrea, lo que sugiere la no patogenicidad de este parásito o que la dosis infectante no sea la adecuada para causar enfermedad; algo similar que en la *E. leuckarti*, donde diversos estudios demuestran una falla de asociación entre la infección por *Eimeria* y la presencia de diarrea (Bauer, 1988; Lyons *et al.*, 1988; Beelitz *et al.*, 1994).

Los potrillos infectados con *Eimeria sp.* se encontraban dentro de las 9 a 32 semanas de edad, observándose la mayor frecuencia entre las 25 a 32 semanas, lo que coincide con estudios en *E. leuckarti* donde se hallaron animales positivos en edades avanzadas (Sutoh *et al.*, 1976; Mc Queary *et al.*, 1977; Lyons *et al.*, 1988). Estos mismos trabajos sugieren que la eimeriosis a esta edad puede deberse a una infección tardía muy común en infecciones naturales o a una excreción intermitente con intervalos negativos a ooquistes.

### Conclusiones

1. El parásito *Cryptosporidium parvum* es común en potrillos en la Costa del Departamento de Lima.
2. La *Eimeria sp.* tuvo baja prevalencia en los potrillos muestreadas. El parásito observado fue diferente a la *E. leuckarti*.

### Literatura Citada

1. **Anderson, B.C. 1982.** Cryptosporidiosis: A review. J. Am. Vet. Med. Assoc., 180: 1455-1456.
2. **Angus, K.W. 1990.** Cryptosporidiosis in ruminants. In: Cryptosporidiosis in man and animals (Eds. Dubey, J.P.; Fayer, R. & Speer, C.A.) C.R.C. Press, Boca Ratón, p.p. 83-105.
3. **Asahi, H.; T. Koyama; H. Arai; Y. Funakoshi; H. Yamaura; R. Shirasaka y K. Okutomi. 1991.** Biological nature of *Cryptosporidium sp.* isolated from a cat. Parasitol. Res., 77: 237-240.
4. **Bauer, C. 1988.** Prevalence de *Eimeria leuckarti* (Flesh, 1883) and intensity of faecal oocyst output in a herd of horses during a summer grazing season. Vet. Parasitol., 30: 11-15.
5. **Beelitz, P.; N. Rieder y R. Gothe. 1994.** *Eimeria leuckarti* infections in foals and their mothers in upper Bavaria. Tierarztl. Prax., 22: 377-381.
6. **Chavez, C. y C. Guerrero. 1960.** Ecto y endoparásitos identificados en el Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria (1947-1960). Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria, 15: 48-68.
7. **Chermette, R.; S. Boufassa; C. Soule; C. Tarnau; O. Couderc y D. Lengronne. 1987.** La cryptosporidiosis equine: une parasitose meconnue. Bulletin CEREOPA, 13e Journee d'Etudes. Paris, p.p. 81-94.
8. **Chermette, R. y S. Boufassa. 1988.** Cryptosporidiosis: a cosmopolitan disease in animals and in man. O.I.E., Tech. Series N° 5, Paris.
9. **Coleman, S.V.; T.R. Klei; D.D. French; M.R. Chapman y R.E. Corstuet. 1989.** Prevalence of *Cryptosporidium sp.* in equids in Louisiana. Am. J. Vet. Res., 50: 575-577.
10. **Fayer, R. y L.P. Ungar. 1986.** *Cryptosporidium spp.* and Cryptosporidiosis. Microbiol. Rev., 50: 458-483.
11. **Gibson, J.A.; M.W. Hill y M.J. Huber. 1983.** Cryptosporidiosis in Arabian foals with severe combined immunodeficiency. Aust. Vet. J., 60: 378-379.
12. **Harp, J.A.; W. Chen y A.G. Harmsen. 1992.** Resistance of severe combined immunodeficient mice to infection with

- Cryptosporidium parvum*: The importance of intestinal microflora. Infect. Immun., 60: 3509-3512.
13. **Henricksen, S. y J. Pottlenz. 1981.** Staining of cryptosporidia by a modified Zielh Neelsen technique. Acta Vet. Scand., 22: 594-596.
  14. **Johnson, E.; E.R. Atwill; M.E. Filkins y J. Kahosh. 1997.** The prevalence of shedding of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. Based on a single fecal sample collection from each of 91 horses used for backcountry recreation. J. Vet. Diagn. Invest., 9: 56-60.
  15. **Lengronne, D.; G Reigner; P. Veau; R. Chermette; S. Boufassa y C. Soule. 1985.** Cryptosporidiose chez des poulains diarrhéiques. Poini. Vet., 17: 528-529.
  16. **Lyons, E.T.; J.H. Drudge y S.C. Tolliver. 1988.** Natural infection with *Eimeria leuckarti*: Prevalence of oocysts in feces of horses foals on several farms in Kentucky during 1986. Am. J. Vet. Res., 49: 96-98.
  17. **Mair, T.S.; F.G Taylor; D.A. Harbour y G.R. Pearson. 1990.** Concurrent *Cryptosporidium* and *Coronavirus* infections in an Arabian foal with combined immunodeficiency syndrome. Vet. Rec., 126: 127-130.
  18. **Mc Queary, C.A.; D.E. Worley y J.E. Catlin. 1977.** Observations on the life cycle and prevalence of *Eimeria leuckarti* in horses in Montana. Am. J. Vet. Res., 38: 1673-1674.
  19. **Olson, M.E.; N.J. Guselle; R.M. O'Handley; M.L. Swift; T.A. Mc Allister; M.D. Jelinski y D.W. Morck. 1997.** *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in British Columbia. Can. Vet. J., 38: 703-706.
  20. **Snyder, S.P.; J.J. England y A.E. Mc Chesney. 1978.** Cryptosporidiosis in immunodeficient Arabian foals. Vet. Pathol., 15: 12-17.
  21. **Soulsby, E.J. 1987.** Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. 7ma. Ed., p. 610-615. México: Interamericana S.A..
  22. **Sutoh, M.; Y. Saheki; R. Ishitani; S. Inui; M. Narita; H. Hamazaki y T. Yokota. 1976.** *Eimeria leuckarti* infection in foals. Natl. Inst. Anim. Health, 16: 59-64.
  23. **Tzipori, S. y I. Campbell. 1981.** Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animals species. J. Clin. Microbiol., 14: 455-456.
  24. **Tzipori, S. 1983.** Cryptosporidiosis in animals and in humans. Microbiol. Rev., 47: 84-96.
  25. **Tzipori, S. 1985.** *Cryptosporidium*: Notes on epidemiology and pathogenesis. Parasitol. Today, 1: 159-165.
  26. **Xiao, L. y R.P. Herd. 1994a.** Review of equine *Cryptosporidium* infection. Equine Vet. J., 26: 9-13.
  27. **Xiao, L. y R.P. Herd. 1994b.** Epidemiology of equine *Cryptosporidium* and *Giardia* infections. Equine Vet. J., 26: 14-17.