

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS  
(C.U.C.B.A.)

DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS



**DISEÑO DE UN PROGRAMA PARA EL CONTROL Y/O  
ERRADICACIÓN DE *CRYPTOSPORIDIUM SP.* EN LA  
COLECCIÓN HERPETOLÓGICA DEL ZOOLOGICO GUADALAJARA**

**TESIS PROFESIONAL**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

PRESENTA  
**P.M.V.Z. JOSÉ GERARDO ESPINOZA SANDOVAL**

*DIRECTOR DE TESIS:*  
**M.V.Z. LEÓN DAVID ESPINOSA AVILÉS**

*ASESOR DE TESIS:*  
**M.V.Z. MARIA EUGENIA LOEZA CORICHI**

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO, NOVIEMBRE DEL 2000.

## AGRADECIMIENTOS

*LINO - CRUZ*

*Gracias por el sacrificio y forjarme por lo que soy ahora, para ustedes.*

*SARA*

*Tu apoyo, comprensión y ayuda ven uno de nuestros frutos en la vida, sigamos así.*

*JACQUES - DANTE*

*Ustedes son la inspiración para el término de este trabajo y la continuación de nuevas metas.*

*JULIO - FELIPE*

*A ustedes les agradezco el que de una u otra forma con su forma de ser me ayudaran en el término de esta obra.*

*CARLOS, HUGO, RICARDO, VICTOR, CESAR, SUSANA,  
ADRIANA*

*Compañeros y amigos que a través de su ayuda, llega a término este trabajo gracias.*

# CONTENIDO

	PAGINA
RESUMEN .....	X
INTRODUCCIÓN .....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	14
JUSTIFICACIÓN .....	15
OBJETIVOS .....	16
MATERIAL Y METODOS .....	17
RESULTADOS .....	19
DISCUSIÓN .....	24
CONCLUSIONES .....	27
ANEXO .....	28
BIBLIOGRAFIA .....	32

## RESUMEN

La criptosporidiosis es una enfermedad parasitaria, detectada por primera vez en el Herpetario del Zoológico Guadalajara en Noviembre de 1996, al hacer el seguimiento clínico de un Alicante Norteño *Pituophis deppei jani* sospechoso, a la serpiente le fue realizado un lavado gástrico en el cual se observaron oocistos de *Cryptosporidium sp.* identificados mediante la técnica citológica de tinción específica de Kinyoun. Desde el primer caso en Noviembre de 1996 hasta Octubre de 1998, se han registrado 20 muertes divididas en 3 apartados: I.- 15 muertes por causa directa de *Cryptosporidium sp.* II.- 3 muertes indirectas en que la causa fue otra fuente III.- 2 muertes asociadas a otras enfermedades, las serpientes afectadas fueron: 7 Cascabeles, 7 Boas, 3 Alicantes, 2 Nauyacas de Tailandia y 1 Chirrionera. Además se encuentran bajo observación 7 serpientes que posiblemente sean portadoras a *Cryptosporidium sp.* hasta hoy en día. Por lo cual se determinara elaborar un programa de control y/o erradicación de *Cryptosporidium sp.* en la colección herpetologica del Zoológico Guadalajara, el cual será valorado por Dirección General, Subdirección Técnica, además del Jefe del Herpetario. A partir de las diferentes propuestas mencionadas, se determinara que ejemplares son sacrificados o mantenidos dentro de la colección, bajo un control estricto de manejo y en una área exclusiva para esta enfermedad o de uso exclusivo para exhibición.

## INTRODUCCIÓN

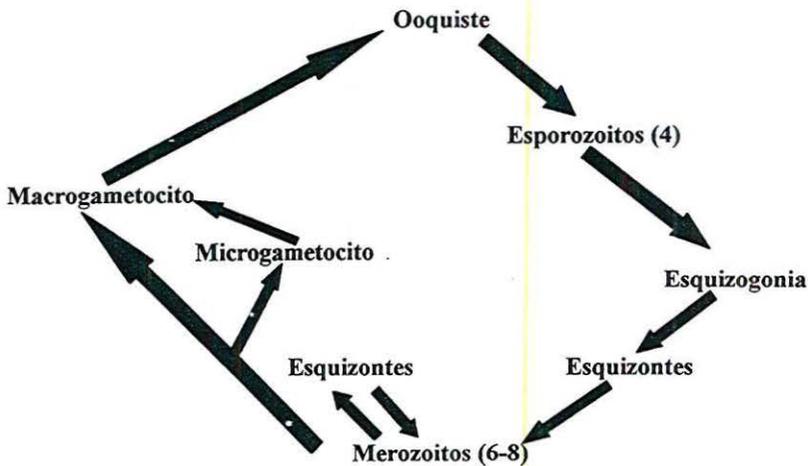
*Cryptosporidium sp.* es un protista que infecta a un amplio número de vertebrados. *C. parvum* y *C. muris* definido para mamíferos, *C. meleagridis* y *C. baileyi* para aves, *C. nesorum* para peces, y *C. serpentis* para reptiles (1,3,5,6,7,9,14,19,21).

Su clasificación es la siguiente (9):

Phylum	Apicomplexa
Clase	Sporozoasida
Suoclase	Coccidiasina
Orden	Eucoccidiorida
Suborden	Eimeriorina
Familia	Cryptosporidiidae
Género	Cryptosporidium

La coccidia del genero *Cryptosporidium* es considerada actualmente como un patógeno potencial en reptiles (6,9,14). *Cryptosporidium* es un pequeño protista del cual se ha reportado solo una especie para reptiles (21) *Cryptosporidium serpentis* nombre asignado por Levine (5,14,21), pero algunas evidencias indican que pueden ser varias especies o subespecies (14,21). El primer reporte válido de *Cryptosporidium* en serpientes fue realizado por Brownstein et al. del Zoológico de Baltimore E.U.A. en 1977 (5,6,11,21), desde entonces y año con año los reportes de estos casos se han incrementando, tanto en colecciones de Zoológicos, como en colecciones privadas (9,14,21). El parásito a sido aislado en reptiles silvestres en un porcentaje bajo comparado con los de cautiverio (21). Se ha registrado la infección por criptosporidiosis en todos los ordenes de reptiles, con excepción de los cocodrilos (1,6,7,12,19,20,21,22), y en algunos anfibios (1,14,22).

El ciclo de vida de *Cryptosporidium serpentis* no es bien conocido (1,3,6,9,11), se piensa que éste puede ser similar a *Cryptosporidium parvum* y *C. muris*. puesto que los ooquistes esporulados, que son el elemento infectante, entran a la serpiente al ser ingeridos, los esporozoitos penetran las células epiteliales gástricas, (iniciándose una reproducción asexual) dividiéndose en esquizogonia para dar esquizontes, los cuales maduran de 6-8 merozoitos por esquizonte, los merozoitos invaden a otras células los cuales forman otros esquizontes o los macrogametocitos y microgametocitos (con los cuales existen una reproducción sexual) el macrogametocito es fertilizado, el cual da origen a los ooquistes que al esporular contienen 4 esporozoitos con lo cual se reinicia el ciclo de autoinfección o son eliminados junto con las heces o el material regurgitado (1,14,18).



*C. serpentis*, causante de una mortalidad considerable, puede permanecer en estado latente o subclínico (7,9), siendo el estrés del cautiverio o un factor de inmunosupresión determinantes para el desarrollo de la enfermedad (3). Los signos más importantes son: vómitos después del tercer o cuarto día de haber sido alimentada la serpiente, regurgitación, pérdida progresiva de peso, anorexia, abultamiento en la parte media del cuerpo y

finalmente la muerte (1,3,6,7,9,12,14,17,21). Las lesiones más comunes encontradas al realizar la necropsia son: I.- lesiones macroscópicas: hipertrofia gástrica, incremento en el diámetro del estomago con reducción del diámetro luminal, presencia de moco abundante y espeso así como petequias y necrosis focal. II.- lesiones microscópicas: hiperplasia gástrica, edema e inflamación de la lamina propia y submucosa del estómago con una subsecuente invasión secundaria de bacterias Gram negativas (1,3,5,6,7,9,12,20,21).

Los métodos de diagnóstico utilizados para la detección del parásito son: exámenes coproparasitoscópicos de flotación directa en Nitrato de Sodio o Sulfato de Zinc (1,7,9,20) y la prueba modificada de Sheather's en solución sobresaturada de sucrosa (1,2,7,18), siendo esta última la más específica, desafortunadamente estas pruebas tienen el inconveniente de un margen de confiabilidad bajo aunado a lo tardado de las mismas. Las técnicas citológicas con tinciones que son utilizados para la observación del microorganismo son: Giemsa, tinción Ácida Peryódica de Schiff (1,3,5), las cuales no son muy específicas y pueden complicar el diagnóstico (1); la tinción de ácido-alcohol resistente de Zielh-Nielsen con sus dos variantes carbol-fucsina/verde de malaquita (1,9,11,20), y la modificada ácido-alcohol resistente de Kinyoun (2,3,5,6,7,12) siendo estas 2 las tinciones más específicas para *Cryptosporidium*.

Como estudios auxiliares se tienen: Biopsia gástrica (1,5,6,7,9,11,12), de sencillo procedimiento, pero con resultados variables esto debido a que el microorganismo no se distribuye uniformemente dificultando su interpretación (1,6,7), radiografía con medio de contraste (1,5,6,7,9,12) con el inconveniente de que podría haber un error de interpretación debido a una oclusión o a una masa fuera del estomago (1,6,7), lavado gástrico (6,7,9,12) y

endoscopia (1,6,7) las cuales presentan la dificultad, como se menciono con anterioridad, de la distribución no uniforme del parásito dentro de la cavidad (1,6,7).

En estudios recientes se ha observado que la prueba de anticuerpos monoclonal de *Giardia* y *Cryptosporidium* humana, aplicada en heces y material regurgitado de serpientes produce reacción cruzada con *C. serpentis* (5,7,8,12,22) siendo esta una prueba, con alto margen de confiabilidad.

En tratamiento farmacológico se han utilizado desde anticoccidiales, antibacterianos, hasta protectores gástricos, pero aún no se ha reportado la eliminación total de la criptosporidiosis tal y como se menciona en la literatura (1,5,6,7,11,14,17). Entre los medicamentos que se han utilizado para su eliminación son: Sulfa-trimetropin a dosis de 30-60 mg/kg. de peso/vía oral/24 hrs. durante 14 días (1,6,11,17). Trimethoprin-sulfadiazine/60 mg/kg. de peso/vía oral/2 meses (6). Paromomycin en dosis de 35-55 mg/kg. de peso (1) o 100 mg/kg. de peso/7 días/repetir a la semana/3 meses (6), 300-360 mg de dosis única/vía oral/48 hrs/2 semanas/repetir el tratamiento a los 6 meses (12). Spiromycin/80mg/kg de peso/3 días - 160mg/kgde peso/10 días (1,5,6). Los 2 medicamentos anteriores producen resultados negativos en heces, pero en el examen post-mortem la presencia del parásito es detectada (5,6). Halofuginone/1mg/kg/1 vez o 0.5mg/kg/3 días/v.o. (1,5,6) el cual causa cambios histológicos tóxicos subletales en hígado y riñones y no hay la eliminación total de la criptosporidiosis (11), recientemente sé esta utilizando Toltrazuril pero aun sin buenos resultados. \*

\*.- Comunicación personal Espinosa D.

El mecanismo de transmisión no está bien definido se ha determinado que la vía de infección es fecal-oral, o por medio de objetos contaminados como: cajas de mantenimiento o terrarios, guantes, bebederos, pinzas de alimentación, incluso las manos del mismo personal que está a cargo de ellas, se pueden mencionar otros vectores como las cucarachas y los ratones tanto por consumo o plaga los cuales podrían ser otro medio más prevalente de transmisión (1,5,6,8,11,14,19).

Los estudios de reportes de zoonosis no están unificados en un criterio común, no obstante, aunque existen diferencias entre mamíferos y reptiles los problemas de infección cruzada son improbables y no han sido ratificados o negados, por lo que se recomendara tener un riguroso control sanitario así como evitar que personas inmunosuprimidas tengan contacto con animales sospechosos o portadores (1,5,6,7,11,14,21). Existe el reporte de zoonosis por contaminación de *C. baileyi* específico de aves en una persona infectada de VIH la cual poseía como mascotas a unas aves portadoras del parásito (10), por lo tanto se deben tomar las consideraciones como una potencial y probable zoonosis.

El programa con el que mejor resultado se ha obtenido para evitar la propagación de la parasitosis a consistido en mantener un tiempo de cuarentena de 90 días para las serpientes y de 60 días para el resto de los reptiles, en estos se realizan exámenes coproparasitológicos rutinarios. Manejados por una sola persona y el equipo y material de trabajo es de uso exclusivo para esta área todo el material de trabajo es desinfectado por medio de soluciones de amoníaco al 5% o de formol al 10% en un lapso que comprende de 15 a 30 minutos (1,5,6,12,22).

Los métodos de control y erradicación de la criptosporidiosis deben de ser bastante radicales por la misma dificultad de eliminación del parásito, para mantener una colección libre o controlada se recomienda el aislamiento total del reptil portador, ofrecer las mejores condiciones de cautiverio (alimentación, humedad, temperatura), realizar exámenes rutinarios durante la cuarentena además de un control estricto de higiene, con todo esto se determina llevar una cuarentena, para serpientes de reciente ingreso, otra cuarentena para serpientes sospechosas, o la eutanasia a serpientes positivas con criptosporidiosis (1,5,6,11,12,14,19).

Las sustancias que son utilizadas para la desinfección del material y equipo más recomendables son amonía al 5% o formol al 10% como los más efectivos contra los oocystos aunque se debe tener un cuidado especial al aplicarlo en cajas que contengan anfibios por su piel delicada (1,5,6,12,22). Además se puede utilizar vapor de agua caliente (22), así como glutaraldehído al 2.5% durante 10 minutos (17).

La determinación de si un reptil esta libre de *Cryptosporidium sp.* Consiste en mantener durante 1 año bajo exámenes coproparasitológicos a animales sospechosos por signos clínicos cuyos resultados se esperen sean negativos, para lo cual se procede en administrarle una dosis de fosfato sódico de dexametasona a una dosis de 2-4 mg/kg./i.m. como un inmunosupresor y se realizaran 3 exámenes coproparasitológicos dentro de los primeros 5 días para determinar la presencia o ausencia de *Cryptosporidium* si fuese negativo se consideraría al reptil libre del parásito y fuera de la cuarentena (22).

El Zoológico Guadalajara se encuentra ubicado al norte de la ciudad de Guadalajara, teniendo como límite a la barranca de Huentitán, cuenta dentro de sus instalaciones con un Herpetario <sup>(13)</sup> el cual aloja un total de 45 especies de serpientes con 155 ejemplares <sup>(24)</sup>, albergados en 3 diferentes áreas dentro del mismo herpetario como son: Área de No Exhibición, con 86 serpientes. En este se mantienen ejemplares para su posterior traslado al área de exhibición, en reposición si alguna serpiente se enferma o es retirada de esta área, el Área de Cuarentena, cuenta con una población flotante de aproximadamente 29 ejemplares, es receptora de animales enfermos, de recién ingreso y recién nacidos, por ultimo, el Área de Exhibición con un promedio de 40 serpientes repartidas en 25 terrarios <sup>(24)</sup>.

Las serpientes son mantenidas y resguardadas individualmente en terrarios de madera de forma triangular, con malla a los lados para mantener una ventilación y un vidrio al frente. Además se utilizan peceras y cajas de acrílico para especies pequeñas o recién nacidas en las cuales se coloca como sustrato o cama cartón corrugado, se adiciona además un bebedero de plástico con agua potable. Estos terrarios son utilizados en las áreas internas del Herpetario (Cuarentena y No Exhibición) así que el control es bastante aceptable <sup>(15)</sup>.

En lo referente al área de Exhibición las condiciones de mantenimiento de los terrarios son diferentes, debido a que en estas los animales se encuentran en terrarios que poseen un sustrato a partir de tierra o arena dependiendo el tipo de hábitat; troncos, rocas, plantas naturales o artificiales por lo que el control, es un poco difícil debido a la misma diversidad de materiales, así como por albergar más de una serpiente por terrario e incluso, diferentes especies conviviendo dentro del mismo <sup>(16)</sup>.

La alimentación se encuentra sujeta a varios factores como: apetito, próximos a mudar o enfermedades. Se les suministra ratón blanco *Mus musculus* aproximadamente cada 15 días por medio pinzas de disección de 18 pulgadas de largo o pinzas Philinstron de 24 pulgadas (15).

El aseo del terrario varia si es de área interna o de exhibición por el tipo de sustrato, en el primero nos auxiliamos de un bote de plástico con tapa para confinar a la serpiente, por medio del uso de ganchos y guantes de seguridad, la limpieza se realiza con recogedor de plástico, cepillo y espátula para la recolección de heces, mudas u orina que halla quedado fuera del cartón corrugado el cual sirve como cama, 2 atomizadores los cuales contienen uno de ellos una solución desinfectante a base de Hipoclorito de sodio al 10% y el otro una solución de limpiavidrios, cada uno con su respectiva franela. (15). En el área de exhibición la mecánica es la misma con la diferencia en el tipo de sustrato la cual puede ser tierra o arena además de los accesorios de ornato (16), los cuales podrían ser factores de transmisión de parásitos, bacterias, o de virus.

En el proceso de trabajo, las serpientes sospechosas, diagnosticadas por su sintomatología, son separadas del resto de la colección, para después corroborar con el estudio de laboratorio, para lo cual se recolectan las heces frescas, material regurgitado o vómitos en bolsas de plástico limpias y etiquetadas con los datos del animal, se llevan a la clínica del Zoológico Guadalajara para la realización del estudio correspondiente a través de los resultados de la técnica de tinción modificada de Kinyoun, la interpretación se expresa como:

Positiva.- algunas porciones de la cápsula retienen el carbol-fucsina tiñéndose de rojo sobre un fondo azul.

Negativo.- toda la lamina es teñida en azul por el azul de metileno el cual es contrastante (2).

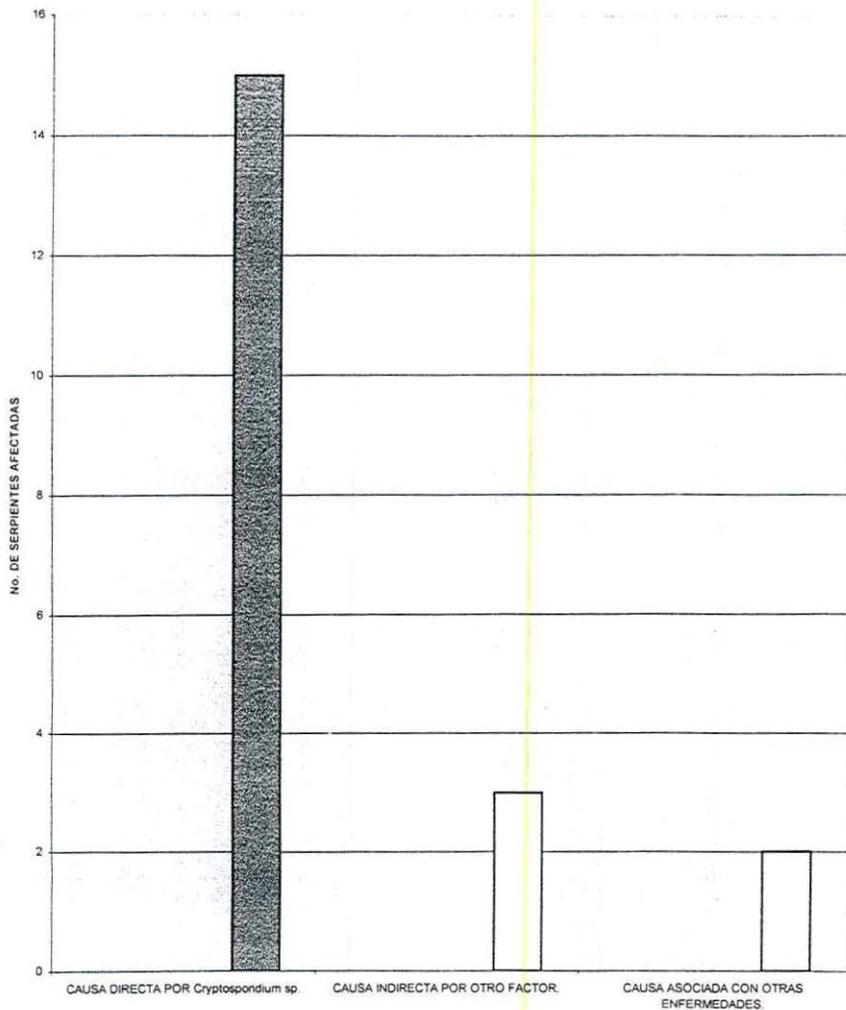
Las muestras pueden ser obtenidas de 2 formas: I.- ante-mortem; a partir de lavado gástrico, lavado cloacal, recolección de vómitos, material regurgitado o heces frescas. II.- post-mortem; por frotis directo de la mucosa gástrica (1,3,5,6,7,8,9,11,12,14,17,18,20,21,22).

Hasta la fecha solamente han sido reportadas como portadoras y positivas a *Cryptosporidium sp.* las serpientes, y no se han encontrado indicios de signos o lesiones a la necropsia de criptosporidiosis en los demás ordenes de reptiles de la colección herpetologica (23,24).

En el lapso de 2 años se detectaron 20 serpientes positivas a *Cryptosporidium sp.* El primer caso se presento el 21 de Noviembre de 1996, en un Alicante norteño *Pituophis deppei jani* y el ultimo caso en una Boa, *Boa constrictor imperator* el 23 de Octubre de 1998, las muertes presentadas se dividieron en 3 apartados debido a las características: I.- 15 muertes por causa directa de *Cryptosporidium sp.* II.- 3 muertes indirectas en la que la causa del deceso fue debido a otra fuente III.- 2 muertes asociadas con otras enfermedades (23) (gráfica No. 1)

TESIS/CUCBA

GRAFICA No.1  
CAUSA DE MUERTE CON PRESENCIA DEL PARASITO *Cryptosporidium*  
sp.



La susceptibilidad por especie fue la siguiente (23):

7 Cascabeles (*Crotalus atrox*, *C. aquillus*, *C. basiliscus*, *C. molossus*, *Sistrurus ravus*)

7 Boas (*Boa constrictor imperator*)

3 Alicantes (*Pituophis deppei jani*)

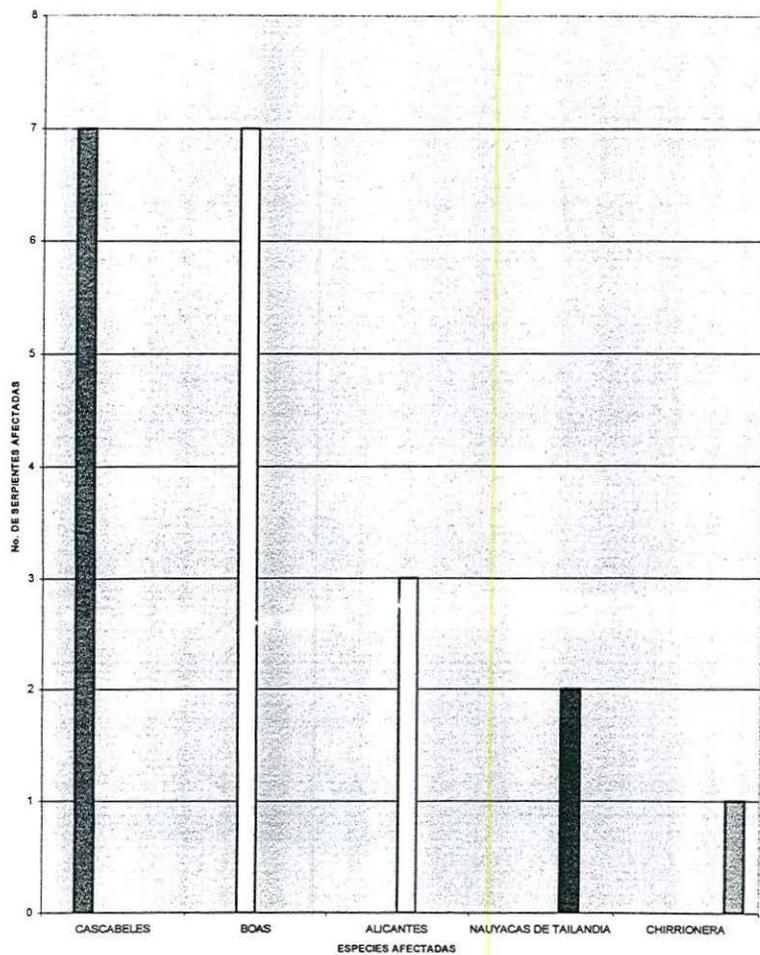
2 Nauyacac de Tailandia (*Trimeresurus gramineus*, *T. sumatranus*)

1 Chirriónera (*Masticophis flagellum*) (gráfica No. 2)

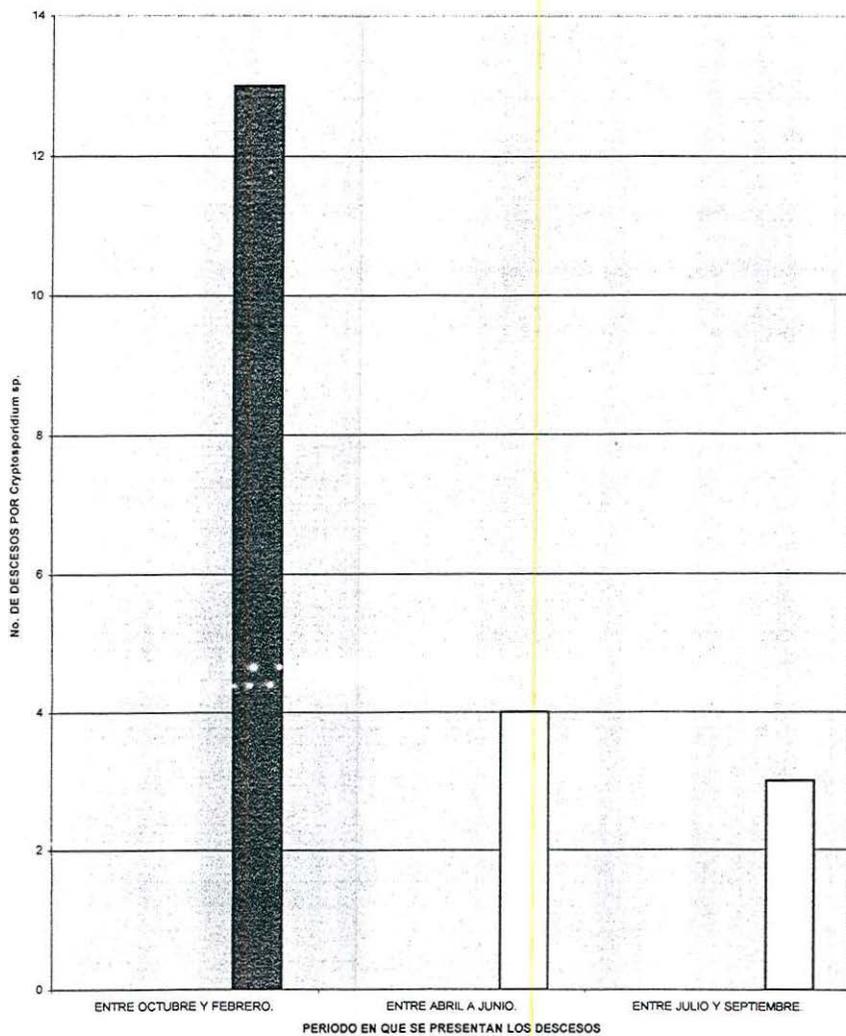
Se ha observado mayor susceptibilidad en cascabeles y boas (23), la cual a diferencia de la reportada por el Laboratorio de herpetología de la UNAM campus Iztacala, los cuales han encontrado una mayor susceptibilidad en Alicantes (35 serpientes), seguido de Boas (12 ejemplares) y Cascabeles (5 serpientes), de un total de 59 organismos infectados (9), en otro reporte del Zoológico de Detroit se muestra que la familia viperidae, específicamente la Cascabel Massasauga *Sistrurus catenatus sp.* es particularmente sensible a la enfermedad (1).

De las 20 serpientes afectadas 4 de ellas murieron entre los meses de Abril a Junio, 3 bajas entre Julio y Septiembre y los 13 restantes fueron entre los meses de Octubre y Febrero considerados como los meses críticos esto debido al frío que impera en el medio ambiente y a las deficiencias en las instalaciones para la correcta manutención de los mismos dentro del Herpetario (3,23,24),(gráfica No. 3)

GRAFICA No.2  
SUSCEPTIBILIDAD DE *Cryptosporidium* sp. EN SERPIENTES POR  
ESPECIE



GRAFICA No.3  
DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE MUERTES EN SERPIENTES POR  
*Cryptosporidium* sp.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la dificultad que refiere la criptosporidiosis y la falta de un programa de control y/o erradicación de la misma, además de las características propias del parásito como son: alta morbilidad y mortalidad, su alta persistencia dentro de las colecciones herpetológicas una vez infectada, difícil erradicación al no existir un tratamiento quimioterapéutico efectivo, diagnóstico complicado por las mismas características del parásito, y además de poder ser considerada como una enfermedad zoonótica, se considero necesario elaborar un plan de control y/o erradicación de criptosporidiosis en la colección herpetológica en el Herpetario del Zoológico Guadalajara.

## JUSTIFICACIÓN

La herpetocultura o la afición de mantener reptiles como mascotas en colecciones privadas o con fines de investigación, educación, reproducción y exhibición en Zoológicos o Institutos de Investigación y Enseñanza han empezado a tomar un mayor auge a nivel nacional. Desafortunadamente todavía no se cuenta con los conocimientos óptimos, o personal apropiadamente capacitado en el manejo de estas especies en particular. Además, las características fisiológicas, requerimientos y necesidades de los reptiles hacen más difícil la tarea de mantenerlas libres de enfermedades.

Factores como el cautiverio y manejo causan a los animales estrés lo cual afecta sus respuestas fisiológicas, predisponiéndolos a enfermedades oportunistas, entre estas las parasitosis.

De entre las parasitosis la criptosporidiosis es de las más importantes ya que el parásito se caracteriza por causar una elevada morbilidad y mortalidad, muestra una alta persistencia, es difícil de erradicar las terapias farmacológicas no son efectivas para su eliminación, esta enfermedad es de difícil diagnóstico y ser una posible enfermedad zoonótica. Por lo anteriormente expuesto, se determinó que era necesario implementar un programa de control y/o erradicación de *Cryptosporidium sp.* dentro de la colección herpetológica del Zoológico Guadalajara.

## OBJETIVOS

### GENERAL

Elaborar el diseño de un programa para el control y/o la erradicación de *Cryptosporidium sp.* en la colección herpetológica del Zoológico Guadalajara.

### PARTICULARES

- 1) Planear diferentes propuestas de control y/o erradicación de la criptosporidiosis en la población herpetológica del Zoológico Guadalajara.
- 2) Valorar y proponer el programa que mejor se acerque a las necesidades y requerimientos de la colección herpetológica.

## MATERIAL Y METODOS

El trabajo fue elaborado en las áreas de Clínica y Herpetario, del Zoológico Guadalajara el cual posee una población de 155 ejemplares, entre los que se encuentran 45 especies diferentes de reptiles comprendida desde Noviembre de 1996 a Octubre de 1998 (24). Se obtuvieron los resultados de las recopilaciones de datos llevados en las hojas clínicas de las áreas de clínica y herpetario, pruebas coproparasitoscópicas las cuales son realizadas 2 veces por año en el departamento de clínica del Zoológico Guadalajara, así como un mayor seguimiento clínico en animales sospechosos, se realiza una consulta bibliográfica en bancos especializados medline, libros, revistas etc. sobre criptosporidiosis. La evaluación se realiza en base a la experiencia y práctica profesional desarrollada dentro del Herpetario.

Una vez obtenida la información sobre el número de casos de animales afectados de criptosporidiosis, y en base a la información obtenida a partir de la consulta bibliográfica, se elaboraron diferentes propuestas de diseños de programas para el control y/o erradicación de *Cryptosporidium sp.* en la colección herpetológica del Zoológico Guadalajara. Las diferentes propuestas fueron puestas a disposición de la Dirección General, Subdirección Técnica y por el Jefe del Herpetario para su evaluación y establecer su factibilidad de implementación, dichas propuestas contemplan entre otros aspectos los siguientes puntos a sugerir:

- a) Eliminación total de la colección positiva a la criptosporidiosis, y la creación de un área exclusiva para serpientes sospechosas.
- b) Determinar que ejemplares son factibles o no de ser eliminadas de la colección herpetologica. Debido al valor educativo o de exhibición que posea la serpiente.
- c) Mantenimiento de portadores para uso exclusivo de exhibición y/o la eliminación de serpientes positivas que no sean consideradas importantes para la colección herpetológica además se deberá establecer una área de aislamiento para serpientes sospechosas.

## RESULTADOS

De un total de 45 especies de serpientes, con 155 ejemplares (24), fueron afectados 20 ejemplares (23). El primer caso documentado en el Herpetario del Zoológico Guadalajara fue en un Alicante norteño *Pituophis deppei jani* de 2 años de edad, nacido en el Herpetario. El cual fue remitido en la clínica del Zoológico, su historia clínica revelaba problemas de regurgitación hacia 6 semanas atrás, pérdida de peso y emaciación, al examen físico mostraba deshidratación y un abultamiento en la parte media del cuerpo. Durante las siguientes 2 semanas se le realizaron exámenes coproparasitoscópicos mediante la técnica de flotación los cuales resultaron negativos, posteriormente se le realizó un lavado gástrico y al material recolectado se le aplicó la técnica de ácido-alcohol resistente de Kinyoun en el cual se observaron bajo microscopio abundantes formas ovales las cuales se interpretaron como *Cryptosporidium sp.* El alojamiento en el Área de Cuarentena se efectuó en un terrario individual de madera triangular con vidrio corredizo al frente. La serpiente fue sacrificada 2 días después del diagnóstico definitivo. El último caso que se presenta fue en una boa *Boa constrictor imperator* la cual falleció y tras la necropsia se obtuvo una muestra a la cual se le aplicó la técnica citológica específica de Kinyoun resultando positiva. Se considera que el foco de contaminación pudo provenir de ejemplares aparentemente sanos a los cuales no fue posible detectar mediante las técnicas rutinarias de diagnóstico coproparasitoscópico.

Las propuestas aportadas para mantener un control y/o erradicación dentro de la colección herpetológica son las siguientes:

**a) Eliminación total de la colección positiva a la criptosporidiosis y la creación de un área exclusiva para serpientes sospechosas.**

Con el fin de tener un control epidemiológico más adecuado, y mantener una población de serpientes aparentemente libre del parásito, bajo un control estricto y esquematizado de manejo, se realizaría un calendario de exámenes coproparasitoscópicos específicos a *Cryptosporidium sp.* cada 6 meses en la colección herpetológica existente. Se deberá colocar a las serpientes de primer ingreso durante 90 días y el resto de los reptiles durante 60 días para su observación. En lo referente a serpientes sospechosas se procederá de acuerdo al trabajo realizado en la Clínica Veterinaria del Zoológico de Baltimore en el cual a la serpiente se le suministrara fosfato sódico de dexametasona a una dosis de 2-4 mg/kg./i.m. como inmunosupresor, posteriormente se le realizarán 3 exámenes coproparasitoscópicos mediante la técnica citológica de Kinyuon en el lapso de los primeros 5 días tras haber aplicado el medicamento (22), en caso de resultar positivo el animal deberá ser sacrificado, en caso de ser negativo se le realizaran otros exámenes clínicos para determinar su patología y proseguir con el tratamiento correspondiente.

Las áreas destinadas a albergar animales sospechosos debe tener las siguientes características un cuarto aislado del resto de la colección, con todo el equipo de manejo como son botes de contención, ganchos, terrarios y pinzas de uso exclusivo de dicha área. Así como la o las personas encargadas para el control del área, la desinfección del equipo se efectuara asperjando formol al 10 % o amonía al 5% en un rango de 15 a 30 minutos (22).

b) **Determinar que ejemplares son factibles o no de ser eliminados de la colección herpetologica. Debido al valor educativo o de exhibición que posea la serpiente.**

Los parámetros a tomar en cuenta son los siguientes:

1. - El Plan de la Colección de un Zoológico o Herpetario. El siguiente plan permitirá calificar a cada especie como tal, con un mínimo de prejuicios (4).

#### CRITERIOS PARA LA PUNTUACIÓN DEL PLAN DE COLECCIÓN

A	CITES (Apéndice I)	Sumar	5 pts.
B	CITES (Apéndice II)	Sumar	4 pts.
C	CITES (Apéndice III)	Sumar	3 pts.
D	Especie mexicana	Sumar	3 pts.
E	De utilidad especial para educación	Sumar	3 pts.
F	Con posibilidades reales de reproducción	Sumar	3 pts.
G	De interés especial para el visitante	Sumar	3 pts.
H	Reditúa económicamente	Sumar	2 pts.
I	Con potencial de investigación	Sumar	2 pts.
J	Hay espacio disponible o recursos para su albergue	Sumar	1 pts.
K	Especie de difícil adaptación	Restar	2 pts.
L	Implica un riesgo moderado	Restar	2 pts.
M	Implica un riesgo alto	Restar	3 pts.

Si suma 17 o más puntos	=	Tipo I
Si suma de 11 a 16 puntos	=	Tipo II
Si suma de 5 a 10 puntos	=	Tipo III
Si suma 4 puntos o menos	=	Tipo IV

Tipo I.- son las especies que se les debe dar prioridad inmediata. Asignarles el 50% de los recursos y esfuerzo disponible para la mejora de albergues, dietas, etc.

Tipo II.- asignarles el 34% de los recursos y esfuerzo.

Tipo III.- asignarles el 16% de los recursos y esfuerzo.

Tipo IV.- no se deberán reproducir, sino ser sacados de la colección animal.

2. - Gustos preferenciales por determinado tipo de serpiente o serpientes por parte del encargado del área o Jefe, por lo cual para determinar su valor no se tiene parámetro de importancia dentro de la colección herpetologica.

Por lo tanto el valor de cada ejemplar deberá de ser homogeneizado con el Plan de la Colección y Gustos preferenciales y que cumpla con los lineamientos establecidos dentro de la Colección Herpetológica del Zoológico Guadalajara.

c) **Mantenimiento de portadores para uso exclusivo de exhibición y/o la eliminación de serpientes positivas que no sean consideradas importantes para la colección herpetologica además se deberá establecer una área de aislamiento para serpientes sospechosas.**

Se mantendrán exclusivamente serpientes positivas previamente valoradas de acuerdo a los 2 puntos señalados anteriormente y serán minimizados aquellos ejemplares que no reúnan las condiciones propias de la colección.

Esta ultima propuesta ha sido aceptada por Dirección General, Subdirección Técnica y por el Jefe del Herpetario ya que se acopla a los requerimientos del Herpetario, del Zoológico Guadalajara debido a que contempla no eliminar ejemplares de un alto valor económico o educativo, mantenidas en condiciones y aislamiento apropiados de manejo al ser serpientes positivas a *Cryptosporidium sp.* así como desechar aquellos ejemplares que no acumulen el porcentaje mínimo requerido para su conservación acorde a los parámetros propuestos anteriormente. además de que esta propuesta contempla albergar animales portadores de esta enfermedad la implementación de un área de cuarentena exclusiva para la realización de exámenes coproparasitoscópicos específicos a criptosporidiosis cada 6 meses a la población en general y un seguimiento a todo aquel animal que presente la sintomatología, con la subsecuente evaluación en caso de ser positiva. El periodo de tiempo estimado para la culminación del trabajo será de 2 años con la finalidad de llegar a controlar la enfermedad. No se propone un tratamiento farmacológico específico debido a que en la actualidad no se cuenta con un medicamento capaz de eliminar al parásito, por lo cual no entra en la propuesta

## DISCUSIÓN

La elaboración de un programa que conlleve a la reducción en ejemplares de cualquier colección implica costos tanto en el control y/o erradicación de una enfermedad como la eliminación de portadores, para lo cual la alternativa más viable de cualquier empresa es la de sobrellevar el problema mientras esté no implique un riesgo, y actuar con cautela para identificar el problema, observando y solucionando los pro y contras que vayan surgiendo durante el proceso de manejo de reptiles del zoológico.

La obtención de información referente a reptiles y enfermedades propias de estos, es bastante reducida esto debido a que como se menciono con anterioridad la herpetología en México se encuentra en un nivel de medio a bajo en cuanto a la predilección por estas especies, ya sea en colecciones de Zoológicos, como colecciones privadas por estar rodeadas de tabúes y mitos, actualmente Internet es un medio donde se consigue una gran diversidad de información pero por experiencia esta suele presentar una baja calidad, referencias de dudosa procedencia e incluso incorrecta, por lo que no resulta ser una base de datos confiables para consulta.

Debido a la problemática que atraviesan la mayoría de los Zoológicos por la falta de recursos para la adquisición de equipo y mejoras en albergues las condiciones no siempre son las adecuadas y desafortunadamente esto puede ser observado en el Herpetario del Zoológico Guadalajara al tener un solo juego de ganchos, un par de botes de contención un juego de pinzas para alimentación por cada área interna, o un bote para 3 o 4 terrarios de exhibición al igual que un juego de ganchos y pinzas de alimentación para toda el área

determinándose que este puede llegar a ser un importante factor en la transmisión de esta enfermedad si no se toman las medidas adecuadas de higiene y control seguido de condiciones inadecuadas de mantenimiento y manejo, el cual conlleva un factor de estrés.

Todos los trabajos que se tienen, referentes a criptosporidiosis en colecciones así como en Internet, tienen algo en común, no se identificó la ruta de entrada del parásito dentro de la colección y solo se especifica de los medios de control e identificación del *Cryptosporidium sp.* determinando reducir el factor estrés, mejorar las condiciones de mantenimiento, realizar un estricto control de higiene, aislar serpientes positivas de la colección aparentemente sana en un área específica, elaboración de exámenes coproparasitoscópicos específicos rutinarios, desinfección del equipo y material por medio de soluciones de amonía o formol o la eliminación de toda serpiente positiva debido a que la erradicación de la parasitosis es nula por medio de tratamientos farmacológicos, además de su alta morbilidad (1,5,6,7,11,22).

La susceptibilidad por especie no puede tomarse como regla general. debido a que en diferentes reportes de Zoológicos y Laboratorio determinan a la serpiente de Cascabel *Crotalus sp.* y a la boa *Boa constrictor imperator* en el caso del Zoológico Guadalajara, Cascabel Massasauga *Sistrurus catenatus sp.* en el Zoológico de Detroit y Alicante *Pituophis sp.* en el laboratorio de la UNAM. (1,9,23) Por lo tanto cualquier serpiente es 100% susceptible a contraer la enfermedad si no se toman medidas que puedan contaminar a la colección herpetológica.

El tratamiento quimioterapéutico para la erradicación del parásito no a podido ser encontrado actualmente, solamente lo ocultan al resultar negativo en el examen coproparasitoscopico pero positivo dentro del estomago al realizarse el estudio de necropsia mediante la técnica de tinción específica como es el caso de los medicamentos Paromomycin y Spiromycin o la ineffectividad de otros medicamentos que no lo eliminan, por lo que se determinara mantener un programa de control y/o erradicación dentro de la colección quedando descartado el uso de fármacos por su ineffectividad contra el parásito.

La factibilidad de cada propuesta es valida pero incosteable para los intereses del Zoológico Guadalajara, esto debido a la eliminación de ejemplares, por lo cual se determinara que lo más conveniente es mantener serpientes positivas a *Cryptosporidium sp.* previamente valoradas y que reúnen los parámetros previamente establecidos como son: valor educativo, valor comercial, dificultad para la obtención del ejemplar dentro de la colección, siendo su función la de exhibición únicamente y mantenidos en una área exclusiva y separada de la colección aparentemente sana con el equipo y personal encargado solo de esta área. las serpientes que no reúnan un mínimo de condiciones previamente establecidas serán eliminadas de la colección.

Por lo tanto este trabajo se constituye en la base de propuestas para otros Herpetarios Mexicanos e incluso para colecciones privadas que presenten esta enfermedad dentro de su colección, ya que solo existen 2 reportes sobre esta parasitosis en México siendo el otro en el Laboratorio de Herpetología de la UNAM (7,9), o puede tomarse como base para otras enfermedades similares que necesiten de un control y cuarentena propia para serpientes.

## CONCLUSIONES

1. El programa sanitario de control y/o erradicación de *Cryptosporidium sp.* en el Zoológico Guadalajara estará implementado de los siguientes puntos:
  - a) Control de higiene.
  - b) Control de ingresos.
  - c) Cuarentena específica para serpientes de 90 días y de 60 días para los demás reptiles.
  - d) Diagnóstico clínico de animales de primer ingreso y sospechosos.
  - e) Creación de una área exclusiva de aislamiento.
  
2. La propuesta más acorde a las necesidades del Zoológico Guadalajara es la de mantener ejemplares positivos a *Cryptosporidium sp.* previamente valorados y para uso de exhibición exclusivamente.
  
3. La propuesta de eliminación de toda la colección positiva a *Cryptosporidium sp.* es la más acertada epidemiológicamente pero no económicamente por la pérdida de ejemplares con un alto valor educativo, de difícil adquisición, o no poseer los recursos necesarios para una rápida recuperación del ejemplar por parte del Zoológico Guadalajara.

## ANEXO I

### GLOSARIO

#### **CITES Apéndice I**

Son las especies que aparecen listadas en la última publicación de la Convención Internacional sobre el Tráfico de Especies en Peligro (CITES por sus siglas en inglés), como Apéndice I (uno). Esto quiere decir que las poblaciones de las especies del App. I están en grave peligro de extinción y sus traslados, venta, compra, donación y enajenación están estrictamente reguladas (4).

#### **CITES Apéndice II**

Son las especies que CITES lista como amenazada, ya sea porque sus poblaciones silvestres sufren presiones, o son descendencia de animales App. I nacidas en cautiverio de padres con legal procedencia. Su traslado y comercialización está también estrictamente regulado (4).

#### **CITES Apéndice III**

Son subespecies, poblaciones, o grupos de especies que están o pueden estar en riesgo si las presiones en su contra no se detienen en corto plazo (4).

**Especie mexicana.**

Son las especies, ya sean migratorias o residentes que naturalmente se encuentren o se hayan encontrado en el territorio mexicano, incluyendo islas y cuerpos de agua nacionales. No se contemplan especies introducidas ni de existencia dudosa.

**De utilidad especial para educación.**

Es la especie que por su naturaleza, hábitos, o conducta, sea de especial interés para lograr los objetivos del Departamento de Educación. Es una especie que sea utilizada como herramienta para un fin concreto.

**Con posibilidades reales de reproducción.**

Es la especie con la que se cuenta con parejas/grupos de edad y estado físico reproductor, que no haya sido esterilizada permanentemente.

**De interés especial para el visitante.**

Especie llamativa o rara, popular y conocida por la mayoría de la población que visita el zoológico.

**Reditúa económicamente.**

Especie que actualmente se comercializa favorablemente, o que tiene un alto valor de intercambio.

**Con potencial de investigación.**

Es la especie que permite realizar estudios científicos, que incluyen fisiología, hematología, etología, historia natural, reproducción, genética, bacteriología, bioquímica, ecología, conservación, inmunología, micología, farmacología, toxicología, virología, etc.

**Hay espacio disponible o recursos para su albergue.**

Existe en recinto adecuado disponible o recursos para la construcción del mismo.

**Especie de difícil adaptación.**

Se refiere a especies que según la bibliografía o experiencias de otras instituciones, que han mostrado una difícil adaptación al cautiverio o que en la institución no se ha tenido el éxito esperado en el mantenimiento de la misma.

**Implica un riesgo moderado.**

Es la especie o individuo que presenta un riesgo no grave para el personal del parque o público visitante. Puede ser por el comportamiento natural de la especie, hábitos o costumbres adquiridas.

**Implica un riesgo alto.**

Especie que al trabajar con ella, pone en peligro la vida del personal, visitantes o animales, aun contando con las respectivas medidas de seguridad.

## ANEXO II

### PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN MEDIANTE LA TECNICA DE KINYOUN

- 1.- Improntar en el portaobjetos heces frescas, material regurgitado o vomito del animal sospechoso.
- 2.- Teñir con la solución de carbol-fucsina kinyoun por 5 minutos.
- 3.- Lavar con agua destilada.
- 4.- Remover el exceso de carbol-fucsina con etanol al 0.5%.
- 5.- Lavar con agua destilada.
- 6.- Decolorar con ácido sulfúrico al 0.5% por 3 minutos.
- 7.- Lavar con agua destilada.
- 8.- Contrastar con azul de metileno al 1% por 1 minuto.
- 9.- Lavar con agua destilada.
- 10.- Observar bajo microscopio con objetivo de aceite de inmersión.

#### Solución carbol-fucsina

4 grs. de cristales de fucsina basica

8 ml. de fenol

20 ml. de etanol al 95%

100 ml. de agua destilada

#### Agente decolorante

Acido sulfúrico concentrado 0.5 ml.

Agua destilada 99.5 ml.

#### Solución de contraste azul de metileno

4 grs. de azul de metileno

400 ml. de agua destilada

## BIBLIOGRAFIA

1. Agnew, D.W. Cryptosporidiosis in reptiles- A review. *Infections Disease Reviews*. American Association of Zoo Veterinarians. pp. 3-9. 1992.
2. Balows, A., W.J. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, H.J. Shadomy. *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology. 15<sup>th</sup> Edition, Washington USA. pp. 706-707,1308,1310-1311. (1991).
3. Brownstein, D.G., J.D. Strandberg, R.J. Montali, et al. *Cryptosporidium* in snakes with hypertrophic gastritis. *Vet. Pathol.* 14:606-617. 1977.
4. Camacho, F.C. Plan de la Colección Faunístico - "Planear hoy para tener mañana". XV Congreso Nacional AZCARM. Quintana Roo. 1998.
5. Cranfield, M.R., and T.K. Graczyk. An update on ophidian cryptosporidiosis. *Proc. Joint. Conf. Am. Assoc. Zoo Vet / Wildl. Dis. Assoc. Wildl. Vet.* pp. 225-230. 1995.
6. Cranfield, M.R., and T.K. Graczyk. Cryptosporidiosis. In: Mader, D.R. *Reptile Medicine and Surgery*. W.B. Saunders Company. pp. 359-363. (1996).
7. Espinosa, L.D., M. del S. Morales, J.G. Espinosa. An outbreak of cryptosporidiosis in a colony of captive snakes: epidemiologic considerations. *Proceedings American Association of Zoo Veterinarians*. pp. 318-321. 1997.
8. Graczyk, T.K., M.R. Cranfield and R. Fayer. A comparative assessment of direct fluorescence antibody, modified acid-fast stain, and sucrose flotation techniques for detection of *Cryptosporidium serpentis* oocysts in snake fecal specimens. *J. Zoo Wildl. Med.* 26 (3): 396-402. 1998.
9. Grajales, T.L.J., R.G. Pérez, T.S.L. Verdín. Diagnostico de cryptosporidiosis en la colección de serpientes del laboratorio de herpetología de la UNAM Campus Iztacala. Laboratorio de Herpetología, Laboratorio de Histopatología U.M.F. Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Iztacala. pp. 1-10. 1999.

10. Juranek, D.D., Cryptosporidiosis : Sources of Infection and Guidelines for Prevention. Division of Diseases, Center for Disease Control and Prevention, Atlanta Georgia USA. pp. 1-10. 1995.
11. Klingenberg, R.J., Understanding reptile parasites. A basic manual for herpetoculturists & veterinarians. Advanced vivarium systems, CA, USA. pp. 43, 62-65. 1993.
12. Klingenberg, R.J., Enteric cryptosporidiosis in a colony of indigo snakes, *Drymarchon corais spp.*, a panther chameleon, *Chamaeleon pardalis*, and a savannah monitor, *Varanus exanthematicus*. Bull. Assoc. Reptilian and Amphibian Vet. 6(1): 5-9. 1996.
13. Martínez, R.F., El Zoológico Guadalajara. Ayuntamiento de Guadalajara. pp. 14,40-41. (1988).
14. McAllister, C. T., R. Lenington, S. Tucker. Notes on the general ecology of *Cryptosporidium spp.* The Vivarium 7(3): 10-11. 1995.
15. Montaña, D.C., Evaluación clínica del isoflurano y zoletil para inducir anestesia en serpientes tilcuete *Drymarchon corais erebenus* en cautiverio en el Zoológico Guadalajara. Tesis de Licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Guadalajara. pp. 34. 1992.
16. Ortega, V.C.S., Análisis retrospectivo de la frecuencia de protozoarios gastrointestinales en serpientes en cautiverio en el periodo de Enero a Diciembre de 1997 en el Herpetario del Zoológico Guadalajara. Tesis de Licenciatura, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias División de Ciencias Veterinarias. Universidad de Guadalajara. pp. 3. 1999.
17. Paré, J.A., G.J. Crawshaw, and J.R. Barta. Treatment of cryptosporidiosis in gila monsters ( *Heloderma suspectum* ) with paramomycin. Proceedings Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians. pp. 23. 1997.
18. Pumarola, A., A. Rodriguez-Torres, J.A. Garcia-Rodriguez, G. Piedrola-Angulo. Microbiología y Parasitología Medica. Salvat Editores, S.A. 2da. Edición, Barcelona, España. pp. 855. (1987).

19. Raphael, B.L., P.P. Calle, N. Gottdenker, S. James, W.R. Karesh, M.J. Lynn, T. McNamara, and R.A. Cook. Clinical significance of *Cryptosporidia* in captive and free-ranging chelonians. Proceedings American Association of Zoo Veterinarians. pp. 19-20. 1997.
20. Tilley, M., S. J. Upton, and P. S. Freed. A comparative study on the biology of *Cryptosporidium serpentis* and *Cryptosporidium parvum* ( Apicomplexa: Cryptosporidiidae). J. Zoo Wildl. Med. 21(4): 463-467. 1990.
21. Upton, S.J., C.T. McAllister, P.S. Freed, and S.M. Barnard, *Cryptosporidium spp.* in wild and captive reptiles. J. Wildl. Dis. 25(1): 20-30. 1989.
22. Wriqth,K., *Cryptosporidium* controversy: when do you consider a reptile crypto-free?. Proceedings Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians. pp.169-173. 1997.
23. Zoológico Guadalajara, Bitácora de necropsias del Área de Clínica del Zoológico Guadalajara. Noviembre 1996 a Octubre 1998.
24. Zoológico Guadalajara, Inventario Interno del Herpetario, Publicación de difusión interna. Noviembre 1996 a Octubre 1998.

TESIS/CUCBA