

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA  
UNAN-LEÓN  
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**



**TESIS MONOGRAFICA**

**TITULO:**

***Prevalencia de Infección por Rotavirus Grupo A y Coccidios en Lechones con Diarrea en el Periodo de Febrero-Mayo del 2008 en Granjas Porcinas del Municipio de León.***

**AUTORES:**

**ROBERTO LENÍN MARTÍNEZ HUETE  
HARLEN MARÍA PADILLA FLORES**

**TUTOR:**

**MSc. JOSE LUIS BONILLA ESPINOZA, DMV.**

**CO-TUTOR:**

**PhD. FÉLIX ESPINOZA CÁCERES.**

**ASESOR:**

**Lic. BRENDA MORA SÁNCHEZ.**

**LEÓN, SEPTIEMBRE 2008**

### III. INDICE

<b>CONTENIDO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>I. DEDICATORIA</b>	
<b>II. AGRADECIMIENTO</b>	
<b>III. INDICE</b>	
<b>IV. RESUMEN</b>	
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b>	<b>2</b>
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>4</b>
<b>4. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>5</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>6</b>
<b>6. MARCO TEÓRICO</b>	<b>7</b>
<b>6.1 ROTAVIRUS</b>	<b>7</b>
<b>6.2 COCCIDIOS</b>	<b>11</b>
<b>7. METODOLOGÍA</b>	<b>22</b>
<b>8. RESULTADOS</b>	<b>28</b>
<b>9. DISCUSIÓN</b>	<b>34</b>
<b>10. CONCLUSION</b>	<b>36</b>
<b>11. RECOMENDACIÓN</b>	<b>37</b>
<b>12. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>38</b>
<b>13. ANEXOS</b>	<b>42</b>
<b>13.1 CUADROS</b>	<b>42</b>
<b>13.2 IMAGENES</b>	<b>45</b>

## I. DEDICATORIA

A **Dios**, por que nos prestó vida y nos ha permitido alcanzar nuestras metas.

A **Nuestras Familias**, quienes nos brindaron su apoyo incondicional, deseándonos siempre éxitos para lograr nuestros objetivos sin mirar atrás.

A **mi Abuela, Carmen Huete Cerrato (q. e. p. d.)** quien hizo de mí una persona perseverante y tenaz, inculcándome el valor de las cosas y de cómo luchar para poder alcanzarlas. (Roberto Lenín Martínez Huete).

A **mis Abuelos, Juliana Flores y Antenor Meléndez** quienes me enseñaron los valores necesarios para alcanzar mis sueños, a mi hijo Alvaro Rafael Rivera Padilla por ser el motor de mi vida. (Harlen Maria Padilla Flores).

## II. AGRADECIMIENTOS

Gracias a **Dios Padre TODOPODEROSO**, por habernos concedido sabiduría, paciencia y fortaleza necesaria todo este tiempo para poder culminar nuestros estudios universitarios.

A **mi Madre Elisa Ancelma Huete Otero y Hermanos**: Cesar Benito, Damaris Estela y Tania del Socorro, por apoyarme en todo el transcurso de mi vida y ayudarme a alcanzar mis metas y a forjarme hoy como un profesional de la Medicina Veterinaria. (Roberto Lenín Martínez Huete).

A **mi Madre Maria Luisa Flores Meléndez y a mi hermana Roxana Nazarena** y en especial a mis tías Dominga, Alba, Anita por brindarme su apoyo incondicional en todo el transcurso de mis estudios y en mi vida. (Harlen Maria padilla Flores).

Al Dr. José Bonilla por haber confiado en nosotros y haber asumido el reto de realizar este trabajo investigativo que fue una experiencia muy enriquecedora para nuestra carrera.

Al Dr. Félix Espinoza Cáceres por concedernos parte de su tiempo para ayudarnos a la realización del trabajo en todos los sentidos.

A la Lic. Brenda Mora Sánchez por colaborarnos con la realización de las tinciones, sus consejos y apoyo incondicional.

A todo el claustro de docentes que con ahínco y paciencia nos forjaron durante todos estos años y nos dieron las herramientas para asumir los retos que nos depara el futuro.

A Michel Camacho, Cidar Hernández, Karen Hodsón, Marlon Galeano y todos los demás productores que nos abrieron las puertas de sus granjas y confiaron en nosotros para la realización de esta investigación.

A nuestros compañeros y amigos de clases por haber compartidos momentos que nunca olvidaremos a lo largo de nuestras vidas.

Al Proyecto Vacuna del Campus Médico por habernos dado la oportunidad de realizar este trabajo científico y a todo su equipo de trabajo que de una u otra manera colaboraron con esta investigación.

#### IV. RESUMEN

Se realizó un estudio descriptivo sobre la prevalencia de Rotavirus y Coccidiosis en lechones de 1 día de nacidos hasta 5 semanas de edad en granjas porcinas de crianza intensiva y de traspatio en el Municipio de León. El análisis se realizó a partir de muestras fecales utilizando la prueba de ELISA directo para la detección de rotavirus y Ziehl Neelsen (modificado) para la detección de Coccidios. Un total de 120 muestras fecales de lechones con diarrea fueron colectadas de tres granjas porcinas de crianza intensiva ubicadas en Sutiava (Granja San Pedro), carretera a Poneloya (Granja Gallo Solo), y la Granja El Nicalit (km 75 carretera León-Managua), además se tomaron algunos criaderos urbanos.

De acuerdo a los resultados obtenidos se encontró una prevalencia del 32% de infección por rotavirus y 8.3% de coccidios. Los resultados muestran una alta presencia de infecciones por rotavirus en la zona geográfica estudiada. Con relación a rotavirus la prevalencia encontrada es mucho mayor que la reportada en un estudio realizado en Costa Rica, los lechones de menor edad fueron los más afectados por el virus. Respecto a la prevalencia de coccidios las cifras también difieren de estudios reportados en otros países, se identificaron 2 tipos de Coccidios (*Cryptosporidium ssp.* Y *Ciclospora ssp.*). Este es el primer estudio realizado en el país sobre Rotavirus y Coccidios en cerdos.

**Palabras Claves:** Diarrea, Lechones, Rotavirus, Coccidios

## 1. INTRODUCCIÓN

La diarrea en lechones es uno de los principales problemas que afecta a las explotaciones porcinas, síntoma que puede ser causado por muchos agentes a los que se asocian factores predisponentes que contribuyen a aumentar la severidad de los brotes. ([Webster, 1981](#)).

La gastroenteritis porcina es una enfermedad enzoótica (de distribución mundial) que afecta a los lechones, caracterizada por una infección aguda del intestino delgado.

El Rotavirus (RV) grupo A, es la causa mas frecuente de gastroenteritis en diversas especies de mamíferos y aves, entre los que se reportan: cerdo, caballo, oveja, perro, gato, bovino, conejo. ([Kapikian et al, 2001](#)).

La Coccidiosis es considerada una enfermedad clásica, que afecta seriamente los parámetros de producción de cerdos y por tanto, la economía de los productores.

Tomando en cuenta la importancia que representan estas dos enfermedades, tanto en animales como en humanos se realizó este estudio, para determinar dos de los principales agentes infecciosos asociados a los procesos diarreicos en lechones, el cual se llevó a cabo en granjas y criaderos del municipio de león. El presente estudio dará las pautas para contribuir a que los productores mejoren las medidas de bioseguridad en las granjas del municipio.

Las diarreas son unas de las principales causas de pérdidas económicas en lechones en los primeros días de vida; por lo que el aporte de esta investigación ayudará a mejorar las condiciones higiénico-sanitarias de las granjas y así disminuir la presencia de éstos agentes.

## 2. ANTECEDENTES

Las infecciones entéricas son una de las principales causas de enfermedad y mortalidad, durante las primeras semanas de vida.

En un estudio realizado en Río Cuarto de Grecia, Costa Rica sobre caracterización de rotavirus porcino se identificaron 5 muestras positivas de 19 colectadas mediante un test inmunocromatográfico. (Bonilla J., 2007).

En la zona sur de Chile se tomaron 85 muestras fecales de lechones obtenidas entre Diciembre de 1984 y Septiembre de 1985, se utilizó microscopia electrónica y ELISA encontrándose 10 lechones positivos a rotavirus (11.7 %) los cuales tenían entre 10-30 días de edad. (Reinhardt et al, 1986).

Otra investigación de Chile en 1983 analizó rotavirus mediante electroforesis en gel de poliacrilamida, 349 muestras de heces de lechones lactantes de criaderos de la Región Metropolitana, encontrando 14,3% de positividad a rotavirus (50/349), correspondiendo 47 de ellas (13,5%) a casos de diarrea. (Díaz et al, 1984).

En el caso de los Coccidios, en Francia se obtuvieron resultados donde un 95% de las camadas con diarrea eran positivas con excreción de ooquistes (Dellac et al., 1996).

Un estudio realizado durante un período de un año en Alemania observó que durante el período de lactación la tasa de infección de *Isospora suis* aumentó del 18.6 al 37.7%. Se observó diarrea en el 78.2% de las camadas positivas a *Isospora suis*. Estos resultados coinciden con estudios realizados en Australia, donde se encontró *Isospora suis* en un 70.9% de los lechones con diarrea. (Meyer et al, 1999).

Un estudio realizado identificó organismos comunes implicados en el Síndrome de diarrea neonatal en lechones. Driesen encontró que en un 36% de los casos, *I. suis* fue el único patógeno implicado y en 6% de los casos, *I. suis* aparecía en combinación con rotavirus. (Driesen et al, 1993).

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo entre Abril de 1994 y Mayo de 1997, para determinar la prevalencia, lesiones microscópicas y otros microorganismos asociados con la Coccidiosis el 17.3% (105/605) de los lechones analizados procedentes de 304 granjas de cerdos se diagnosticaron como positivos de Coccidiosis. (Chae et al, 1998).

En un estudio en Aragón, España llevado a cabo en franjas de crianza intensiva se tomaron 620 muestras en cerdos, se utilizó la técnica de concentración formol-acetato de etilo y la tinción Ziehl Neelsen modificada para el diagnóstico de Coccidios y se determinó una prevalencia de *Cyptosporidium parvum* de 21.9% en cerdos de uno a seis meses de edad. (Quilez et al, 1996). Con relación al *Ciclospora cayetanensis* no existe evidencia de infección en animales domésticos o salvajes. (Eberhard et al, 1999). Sin embargo en un estudio realizado en el Perú, se identificó el microorganismo en 3 pacientes con diarrea y en las heces de un animal doméstico que convivía con ellos. (Zerpa et al, 1995).

En Nicaragua no se han reportado estudios sobre la prevalencia de agentes infecciosos asociados a diarrea neonatal en lechones.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

En Nicaragua las enfermedades diarreicas en lechones son una de las principales causas de pérdidas económicas en diferentes granjas porcinas. Las diarreas están asociadas a un sin número de factores entre ellos ambientales, nutricionales, parasitarios e infecciosos; siendo éstas últimas de mayor riesgo para la explotación porcina; este estudio es el primero que pretende conocer la prevalencia de dos agentes infecciosos asociados a diarrea (Rotavirus Grupo A y Coccidios) en cerdos de algunas granjas porcinas y criaderos de traspatio del Municipio de León en el periodo comprendido de Febrero- Mayo del año 2008.

#### **4. JUSTIFICACIÓN.**

Las enfermedades diarreicas agudas son uno de los problemas más frecuentes que afectan a animales jóvenes en granjas porcinas, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, constituyendo pérdidas económicas para los productores, debido a gastos de prevención, tratamiento, pérdida de peso de los animales afectados y mortalidad asociada.

Aunque la mayoría de estos microorganismos pueden afectar a cerdos de todas las edades, las infecciones de mayor repercusión ocurren en las dos primeras semanas de vida y suelen estar asociadas en mayor frecuencia a virus y parasitarios (protozoarios). En la mayoría de las ocasiones es difícil establecer la causa sin un apoyo laboratorial y solo hay algunos parámetros clínicos que nos sugieren la causa. Por lo que, por medio de este estudio esperamos identificar los diferentes agentes que producen diarrea en lechones durante el periodo Febrero-Mayo del año 2008 y proporcionar datos que sirvan para investigaciones futuras.

## **5. OBJETIVOS.**

### **OBJETIVO GENERAL:**

- Identificar la Prevalencia de Rotavirus grupo A y Coccidios Asociados a Diarrea Neonatal en Lechones Menores de un Mes de Edad en el Periodo de Febrero – Mayo del Año 2008 en el Municipio de León.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Determinar la prevalencia de rotavirus grupo A en lechones con diarrea mediante ELISA directo en el Municipio de León en el periodo Febrero – Mayo 2008.
- Establecer el electroferotipo de ARN viral de rotavirus porcino mediante Electroforesis en gel de poliacrilamida presente en el Municipio de León.
- Determinar la prevalencia de coccidios mediante la tinción de Ziehl Neelsen en el Municipio de León en el periodo Febrero – Mayo 2008.
- Asociar las características de las deposiciones de los animales estudiados en relación a raza, edad, sintomatología, color, consistencia y ubicación.

## **6. MARCO TEORICO**

### **6.1 ROTAVIRUS**

#### **Etiología**

Rotavirus pertenecen a la familia Reoviridae y poseen un genoma de 11 segmentos de ARN doble hebra, la observación al microscopio electrónico indica que los rotavirus tienen forma esférica y aspecto de rueda con un diámetro entre 70 – 75 nm. (Hidalgo M., 1995).

Posee una cápside de tres capas. La capa externa esta compuesta de dos proteínas VP7 y VP4 que inducen anticuerpos neutralizantes y que forman la base del actual sistema de clasificación en los tipos G (VP7) y P (VP4). En la cápside interna del virus se localiza la proteína estructural VP6. Los rotavirus pueden ser clasificados dentro de siete grupos distintos; A, B, C, D, E, F, G, de los cuales los grupos A, B, C y E se encuentran en cerdos. (Martella et al 2001: Martella et al 2005).

En cerdos los principales tipos G identificados son: G1, G3, G4, G5, G9, G10 y G11. Dentro de los tipos P más comunes son P2 [6] y P9 [7]. Sin embargo se han descrito otros genotipos porcino P [14] y P [19]. (Gouvea et al, 1994: Falcone et al, 1999).

#### **Transmisión y Síntomas**

Los rotavirus se diseminan rápidamente entre los lechones susceptibles cuando ingieren las heces contaminadas de animales infectados.

La mayoría de los animales adultos tienen anticuerpos y son resistentes al virus, lo que indica que han sufrido la infección por rotavirus en algún momento de su vida. Presentan anorexia, apatía, deshidratación severa y pueden presentar 30% de pérdida en el peso corporal, aparecen las heces acuosas de color amarillentas o blancas, deshidratación a los 2 y 5 días después de la aparición de la diarrea (Hidalgo M., 1995).

Los lechones afectados muestran diarrea gris sobre los 5-14 días de edad. La deshidratación y el retraso en el crecimiento resultan en un bajo peso al destete. (Thomson J., 1998).

#### **Epidemiología**

El virus tiene un período de incubación de uno a dos días. La mortalidad es usualmente de 10%. (Hidalgo M., 1995).

Los rotavirus porcinos pueden sobrevivir en las galeras vacías hasta 6 meses, también sobrevive en objetos inanimados como: tenazas para descolmillar y utensilios de uso cotidiano en las pjaras, inclusive en las manos del personal que tienen contacto con los animales. Debido a que soporta bien la desecación, por lo que suelen producir brotes epidémicos.

El virus afecta a los animales entre la tercera y sexta semana de edad, la enfermedad tiene su máxima gravedad en cerdos de uno a cinco días de edad y la mortalidad oscila entre el 5% y 8%, esta disminuye a medida que aumenta la edad del lechón, es inusual encontrar muertes en cerdos mayores de dos semanas. (Hidalgo M., 1995).

### **Patogénesis**

El rotavirus se disemina entre los lechones a través de las heces por vía oral. Llega al intestino delgado, principalmente al duodeno, el virus se replica sobre todo en el citoplasma de las células epiteliales diferenciadas (enterocitos) y en menor medida en el citoplasma de las células M que cubren las placas de peyer, en las células de ciego y colon produce disfunción y muerte celular. (Hidalgo M., 1995).

Una vez que el virus entra en contacto con el enterocito, ingresa al citoplasma. Se han descrito dos maneras por el cual el rotavirus puede ingresar al enterocito: por endocitosis o por penetración directa. (Arias et al, 2001).

Las células que no mueren tienen un funcionamiento anormal, con poca actividad enzimática, pérdida de líquidos celulares y la consecuente aparición de la diarrea, la cual comienza un poco antes o junto con la atrofia de las vellosidades, esta atrofia alcanza su máxima gravedad a las 24 - 72 horas post inoculación. (Hidalgo M., 1995).

Los mecanismos por los cuales el rotavirus produce diarrea no han sido completamente delucidados. Sin embargo se han propuesto los siguientes:

- Mala absorción secundaria a la destrucción de los enterocitos
- Alteraciones en el balance del fluido transepitelial
- Isquemia vellosa local
- Producción de enterotoxina viral (NSP4)
- Activación del sistema neural intestinal y producción de líquidos. (Arias et al, 2001).

La disminución de la actividad de las disacaridasas, sobre todo de la lactasa, da como consecuencia una retención de disacáridos en la luz del intestino delgado acompañado de disminución de ATPasa dependiente de sodio y potasio y de la absorción de glucosa unida al sodio.

### **Diagnóstico**

Las muestras a tomar para el diagnóstico de la rotavirus porcina son las heces de los lechones con diarrea, que se recolectan en envases o bolsas plásticas y se mantienen refrigeradas hasta llegar al laboratorio. Los procedimientos de elección para establecer un diagnóstico preciso son:

- Inmunoensayos enzimáticos tipo ELISA e inmunocromatografía que detecta antígenos (VP6).
- Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) para demostrar la presencia de ARN viral.
- Observación de los rotavirus en el microscopio electrónico. (Hidalgo M, 1995).

El uso de técnicas moleculares como reacción en cadena de la polimerasa PCR ha sido la herramienta esencial para caracterizar los genotipos. (Bonilla J., 2007).

## **Inmunidad y Control**

La relativa inmunidad a la enfermedad por rotavirus es adquirida siguiendo a la infección temprana en la infancia. La inmunidad no es completa y adultos con niveles bajos de anticuerpos pueden ser sintomáticamente infectados. La inmunidad humoral local parece ser la determinante clínica en la protección contra la enfermedad por rotavirus.

La prevención y el control de las infecciones por rotavirus dependen de la excelente higiene y desinfección de las salas de parto. (Thomson J., 1998).

Después de una infección sintomática primaria por rotavirus en la madre, existe transferencia transplacentaria de anticuerpos específicos para rotavirus. (Arias et al, 2001).

El uso de vacunas para prevenir la infección por rotavirus, hasta ahora, no ha dado resultados satisfactorios en ninguna especie animal.

Esto se debe a que el número de serotipos (rotavirus diferentes que pueden infectar un mismo animal), es muy elevado y continuamente aparece un serotipo nuevo, con lo que se complica aún más el problema de la prevención de esta enfermedad. (Hidalgo M., 1995).

La eficacia de la inmunidad materna se ha comprobado ampliamente, debido a que en los lechones, las diarreas por rotavirus se presentan generalmente después de los 15 días de edad, cuando comienza a reducirse el nivel de anticuerpos contra rotavirus en la leche de las cerdas. Otra estrategia que se ha usado con frecuencia en algunas granjas es el mover las cerdas y lechones a otra zona de parideras limpia y desinfectada a los 4-5 días posparto, esto reduce el nivel de excreción vírica al ambiente y esto parece suficiente para prevenir la aparición de diarreas. (Hidalgo M., 1995).

En consecuencia, la protección contra la rotaviriosis de los lechones debe estar dirigida a prevenir la infección de las células del epitelio intestinal, mediante anticuerpos localizados en la luz del intestino delgado, que puedan neutralizar al virus y evitar la aparición de la diarrea.

Por lo tanto, el nivel de anticuerpos contra rotavirus presentes en el calostro de las madres es de vital importancia para evitar la infección de los lechones en los primeros días de vida. (Hidalgo M., 1995).

Cuando los lechones muestran diarrea la provisión de soluciones de electrolitos fresca dos veces al día, mientras tengan diarrea puede ayudar a mantener al animal. (Thomson J., 1998).

## 6.2 COCCIDIOSIS

**Coccidiosis:** Es un problema principalmente de los lechones en las parideras.

### Etiología

Clasificación Taxonómica:

PHYLUM APICOMPLEXA (Levine 1980)

Clase Sporozoasida

Sub Clase Coccidia

Orden Eucoccidiida

Sub Orden Eimeriida

Género Isospora -*I.belli*, *I.suis*

Género Toxoplasma -*T.gondii* (Nicolle y Manceaux 1909)

Género Cryptosporidium-*C.parvum*

Género Cyclospora -*C.cayetanensis*

*Isospora ssp.* Es un parásito de distribución cosmopolita, lo descubrieron Biester y Murray en 1931. (Cordero del Campillo et al 1999) que afecta tanto a animales domésticos como silvestres. (Atias, 1991: Georgi y Georgi, 1994: Mehlhom y Col, 1993). Se conocen unas 248 especies de Isospora, pero sólo *Isospora suis* se considera responsable de diarrea neonatal en lechones.

*Isospora suis* son parásitos intracelulares cuyo desarrollo pasa por fases tanto en el interior del hospedador como en su entorno.

Sus ooquistes (que representan la fase exógena de su ciclo de vida) son esféricos o sub esféricos y miden de 20 a 24 por 18 a 21  $\mu$  de diámetro, con una cápsula uniforme monocapa de 1.5  $\mu$  de espesor. Cada ooquiste contiene dos esporocistos (dispárico), con cuatro esporozoitos cada uno. (Quiroz et al 1996).

El *Cryptosporidium spp.* Es un protozoo descrito por primera vez en el año 1907 por Tyzzer, parásito intracelular obligado, incluye aproximadamente 15 especies y es el causante de la Criptosporidiosis. (Levine 1980).

Las especies mas relevantes son *C. parvum* (propio de cerdos, terneros, hombre y otros mamíferos), *C. muris* (en roedores), *C. bayleyi* y *C. meleagridis* (en aves), *C. Crotali* (en reptiles) y *C. nasorum* (en peces tropicales). Los ooquistes son esféricos miden 3-4 micras, cada ooquiste tiene 4 esporozoítos. (Cordero del Campillo et al 1999).

El género *Cyclospora* fue identificado por Eimer en 1870 aunque su caracterización la realizó Schaudin en 1902; el ciclo habitual de este parásito se cumple en reptiles, artrópodos y roedores. (Olsen W., 1990).

*Cyclospora cayetanensis* (Ortega, Gilman & Sterling, 1994), es un agente zoonótico de parasitosis intestinal de reciente descubrimiento (Ortega Y, 1993), precediendo a su descripción reportes de un organismo semiácido resistente de tipo coccidio, con morfología similar a *Cryptosporidium* (Olsen W., 1990).

Es un Coccidio oportunista, los ooquistes esferoides miden de 8-12  $\mu$  de diametro, cada ooquiste tiene 2 esporoquistes con 2 esporozoítos cada uno. (Centers for Disease Control and Prevention, 2000).

### **Síntomas Clínicos:**

La Ciclosporidiosis tiene un corto período de incubación, los síntomas son diarrea líquida acompañada de astenia importante, pérdida de peso (70-90% de los casos) y, en ocasiones, otros síntomas, como vómitos, flatulencia, dolor abdominal y fiebre. La enfermedad tiene una duración variable (media) y suele ser intermitente.

*Cyclospora cayetanensis* se manifiesta como una diarrea autolimitada de dos a seis semanas de duración. (Organización Panamericana de la Salud. OPS, 2001). Es una diarrea acuosa con extrema fatiga, anorexia, dolores abdominales, flatulencia y fiebre, con pérdida de peso. Los ooquistes de este microorganismo son excretados por la materia fecal por unos 23 días promedio durante el período de estado. (Soave et al, 1995).

En la Criptosporidiosis se presentan de forma temprana, principalmente en granjas con problemas de manejo de crías intensivas.

Dentro de los síntomas se puede observar en lechones de mas de una semana de edad (10 a 12 días) anorexia, dolor abdominal, pelo erizado,

pérdida de peso, postración, fiebre, deshidratación, caquexia, reducción en la ingestión de alimentos, pérdidas de sangre y proteínas plasmáticas en el tracto gastrointestinal, alteraciones en el metabolismo proteico, reducción de minerales, depresión en la actividad de algunas enzimas intestinales y diarrea (Rodríguez et al, 2001).

La diarrea puede ser más o menos intensa de color amarillo- verdosa bien característica, mezclada con moco y gas, la enfermedad se describe en animales de 4 a 30 días de edad. (Rossanigo et al, 1987), según otras bibliografía la diarrea puede ser de color pardusca durante 3-5 días e inclusive heces pastosas. La duración es variable entre 3 -5 días en casos leves, y de 1 a 2 semanas en los más graves. (Cordero del Campillo et al 1999).

### **Ciclo de vida del *Cryptosporidium Parvum*.**

El ciclo biológico del *Cryptosporidium parvum* puede ser muy rápido de 24 a 48 horas y es de tipo coccidial (monoxeno). La Esquizogonia ocurre en el hospedador y en el medio ambiente. La Esquizogonia y Gametogonia en el Hospedador: Hombre, cerdos, rumiantes, conejos, otros. (Cordero del Campillo et al 1999) ver figura en anexos.

Se desconoce el ciclo completo del *Cyclospora cayetanensis*. (Atlas et al 1995, Garcia et al 1993).

### **Epidemiología**

La Coccidiosis afectan primariamente a lechones lactantes, y se observa con mayor frecuencia en animales entre 8 y 15 días de edad, aunque la enfermedad puede aparecer antes (día 5) o posteriormente (hasta la tercera semana de vida).

La Cryptosporidiosis se produce en animales neonatos de 8 a 15 días, y los puede iniciar la infección en una amplia variedad de especies de mamíferos: terneros, corderos y lechones lactantes parecen ser los hospedadores reservorios más comunes. El periodo de incubación 5 -28 días, la ingestión del ooquistes), es variable dentro de las diferentes especies de hospedadores, desde varios días a varios meses. (De la Parte-Pérez et al, 2005).

En la Criptosporidiosis la principal vía de entrada es la oral, de gran importancia en neonatos, siendo más susceptibles aquellos que no han consumido calostro,

lo que guarda relación con un sistema inmune que aún no está totalmente desarrollado.

Es posible encontrar el *Cryptosporidium ssp.* causando infecciones subclínicas en animales, lo que indicaría que estos huéspedes portadores pueden controlar el parasitismo mediante los mecanismos normales de defensa; que es lo que probablemente sucede frente a reinfecciones con el protozoo. El agua es un importante agente para su diseminación. Otros factores de riesgo son el estado inmunológico, la edad y estado nutricional del individuo, así como el número de parásitos causantes de la infección y de las condiciones del medio ambiente, ya que los ooquistes mantienen su infectividad durante un tiempo relativamente largo y son muy resistentes a los desinfectantes. (De la Parte-Pérez, M et al., 2005).

El *Cryptosporidium* se extiende fácilmente a través de comida o agua contaminada, o por contacto directo con una persona o animal infectado. El periodo de prepatencia, varía de 2 a 14 días, en la mayoría de los animales domésticos, mientras que el periodo de patencia, es variable dentro de las diferentes especies de hospedadores, desde varios días a varios meses. (De la Parte-Pérez et al, 2005).

Los ooquistes son sensibles a amoníaco, formalina, peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio. (Cordero del Campillo et al 1999).

El problema se agudiza aún más por la baja dosis infectante requerida, alrededor de 10 a 100 ooquistes, y por el hecho de que en un ambiente húmedo los ooquistes pueden mantenerse viables durante 2 a 6 meses (de la Parte-Pérez, M et al., 2005).

Los ooquistes no resisten temperaturas extremas ni la desecación. La congelación de  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 72 horas o mediante calentamiento hasta  $45-60^{\circ}\text{C}$ , durante 30 minutos reducen considerablemente la infectividad. (Casemore DP.1990; Prescott LM, et al 1999, Cordell RL et al1994).

Diferentes especies de hospedadores han mostrado algún tipo de resistencia a la infección relacionada con la edad, lo que explicaría que la Criptosporidiosis sea más frecuente y más severa en mamíferos neonatos y en pájaros que en adultos.

Con relación al *Cyclospora cayetanensis* los ooquistes requieren ser esporulado en el ambiente para que pueda iniciar una infección (factores que influyen en la esporulación: temperatura y humedad).

## Patogénesis

El *Cryptosporidium Parvum* invade los enterositos, daña y destruye las células absorbente y ocasiona su extensión al lumen intestinal.

Alteraciones que provocan en el organismo son:

- Atrofia parcial de las vellosidades.
- Se rompe el equilibrio entre absorción y secreción

Infiltración de células inflamatorias en la lámina propia, se activan los macrófagos que estimulan la producción de prostaglandinas por parte de los fibroblastos, estas provocan secreciones de Cl e inhiben la absorción de NaCl. (Cordero del Campillo et al 1999).

## Diagnóstico

En el diagnóstico de Coccidiosis en lechones deben tenerse en cuenta distintos factores:

- Historial de la camada; diarrea persistente durante la segunda y tercera semana de vida, así como camadas desiguales a la edad de destete.
- Cuadro clínico; heces pastosas a acuosas, de color blanco a amarillo. Sin indicios de sangre en las heces. Baja mortalidad.
- Tratamiento; sin respuesta a antibióticos.
- Sospechas del parásito según otros indicios; no es posible detectar ooquistes en las heces durante la fase aguda de la coccidiosis neonatal cuando los primeros síntomas clínicos aparecen en una camada. Sin embargo, la presencia de estados endógenos del parásito en el epitelio intestinal se puede confirmar mediante frotis del intestino delgado o análisis histopatológicos.

El método de preferencia consiste en concentrar los microorganismos en muestras de heces por técnica de flotación y después identificarlos por métodos de tinción: tinción de Ziehl Neelsen (técnica modificada).

Se pueden realizar extendidos de materia fecal, para ser coloreados por otra técnica naranja de acridina y/o Auramina-rodamina, con el fin de poner en

evidencia la cualidad tintorial de los coccidios (Instituto C. Malbrán.1993., Salvatella R. et al, 1996).

También existen otras técnicas, como el uso de métodos inmunológicos para el diagnóstico de los Coccidios, aunque este es reciente, el uso de anticuerpos monoclonales para inmunofluorescencia directa (detección de antígenos) y la detección del agente por reacción en cadena de polimerasa (PCR) pero no se utilizan comúnmente. (Orlandi et al, 2000).

La detección de anticuerpos IgG e IgM, en suero mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) o ELISA.

Anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína. (De la Parte-Pérez, et al, 2005). También se ha utilizado una nueva técnica de tinción tricrómica y ácido alcohol para la detección simultánea de *Cryptosporidium* y especies de *Microsporidias* en heces. (De la Parte-Pérez et al, 2005).

Toma de muestras fecales; las muestras fecales deben tomarse en la segunda o tercera semana de vida. La probabilidad de encontrar el patógeno en la muestra no necesariamente aumenta seleccionando lechones con diarrea; la diarrea puede aparecer antes de que los ooquistes sean excretados con las heces, e incluso heces compactas a menudo contienen un gran número de ooquistes. En cualquier caso, se necesita un cierto número de muestras. Cuantas más muestras se toman, mayor es la probabilidad de identificar una granja positiva.

Examen fecal; el examen directo de muestras fecales para localizar ooquistes en un microscopio óptico no es concluyente, pero puede dar resultado en presencia de una infestación masiva. Sin embargo, por lo general será necesario concentrar primero las muestras. Para flotación, las soluciones de flotación con el mayor peso específico serán las más apropiadas.

El *Cyclospora cayetanensis* puede ser observados en el examen microscópico directo en fresco de la materia o en el sedimento del enriquecimiento, practicados en suero fisiológico y lugol parasitológico, en el caso de encontrarse abundantes ooquistes que puedan llamar la atención de un observador entrenado, dado su pequeño tamaño y su similitud general con

levaduras. Con el material de enriquecimiento por técnicas de sedimentación (Ritchie modificado) o flotación. (Ritchie LS. 1948).

La Coccidiosis de lechones deberá ser diferenciada de deficiencias nutricionales y otras infecciones víricas o bacterianas.

### **Control y Profilaxis**

El control depende del mantenimiento de las buenas condiciones de higiene y procesos de desinfección. Existen distintas estrategias para controlar la Coccidiosis, si bien en realidad la erradicación total de los coccidios es imposible. La aceptación de este hecho es esencial para establecer programas de control en granjas con éxito.

El establecimiento de programas que combinan estrategias de gestión y medidas de higiene en las granjas es muy importante para reducir la presión de infección del parásito y limitar los efectos de la enfermedad en los animales. (Cordero del Campillo et al 1999).

Las cerdas deben lavarse antes de entrar en la camisa de partos y las heces deben quitarse tan frecuentemente como sea posible en suelos sólidos, los lechones deben ser separados de sus heces y de las de otras camadas. Se ha detectado que la Coccidiosis es mucho menos frecuente cuando las parideras tienen un suelo emparrillado o parcialmente emparrillado frente a un suelo liso. El establecimiento de programas de control de plagas también es importante para prevenir la presencia de vectores (roedores) en las granjas. (Cordero del Campillo et al 1999).

Procedimientos tales como la limpieza correcta de las cunas, utilizando agua caliente a presión ( $>70^{\circ}$  C), y mantenerlos secos durante las primeras semanas después del parto ayudan a reducir el número de ooquistes presente.

### **Tratamiento**

Se han llevado a cabo distintas pruebas con anticoccidiosos tales como ionóforos, sulfonamidas, diclazurilo, amprolium y furozolidona. Estos tratamientos dieron resultados desalentadores y suponen un esfuerzo

demasiado intensivo para su utilización práctica. (Cordero del Campillo et al 1999).

También se debe tener en cuenta que una vez los lechones han empezado a retrasarse, la terapia anticoccidiosa poco puede hacer para prevenir las consecuencias de la enfermedad.

Es virtualmente imposible compensar el contratiempo que los lechones afectados sufren en este estado tan temprano. (Cordero del Campillo et al 1999).

En explotaciones afectadas por Coccidiosis, un tratamiento único con 20 mg de toltrazurilo por kg de peso vivo administrado a lechones a la edad de 3 a 5 días ha mostrado dar excelentes resultados tanto en condiciones de control como en condiciones de campo. (Cordero del Campillo et al 1999).

Este tratamiento previene la aparición de síntomas clínicos y pérdidas en producción, a la vez que permite el desarrollo de inmunidad. Los estados intracelulares del parásito, perjudicados por el toltrazurilo, permanecen en las células huésped el tiempo suficiente para proporcionar estímulo antigénico necesario para el desarrollo de inmunidad frente a subsiguientes infecciones. (Cordero del Campillo et al 1999).

En el tratamiento de la Cryptosporidiosis se puede hacer uso de las sulfonamidas y otros fármacos como Lasolacin, Amprolium, Dimitolmida, Salinomocina, Sulfaquinoxilina, Paromomicina, Decoquinato, Diclazuril, Toltrazuril, así como el uso de Sueros glucosados y vitaminas B6, B12, A y K, aminoácidos y electrolitos. (Cordero del Campillo et al 1999).

El tratamiento etiológico de la Ciclosporidiosis es trimetoprima sulfa 160 mg y sulfametoxazo 1.800 mg, 4/veces por día, durante diez días, Cotrimoxazol, 160/180 mg cada 6-12 horas, durante 7 días. (Salvatellal R 2002).

## 7. METODOLOGÍA

### **Tipo de estudio:**

El tipo de estudio del presente trabajo es descriptivo de corte transversal (Hernández A. M. et al., 2000), por lo que se pretendió evidenciar la presencia o ausencia de rotavirus y coccidios en animales con problemas de gastroenteritis en el primer mes de vida, en el municipio de León en el periodo Febrero – mayo 2008.

### **Población y tamaño de muestra:**

El universo de las muestras fueron 1756 lechones, la cual se obtuvo del último censo de la Dirección General de Protección y Sanidad Agropecuaria (DGPSA) del Ministerio de Agricultura y Forestal (MAG-FOR) 2006 basada en la cantidad de lechones menores de un mes de las granjas porcinas de crianza intensiva.

Las muestras del estudio fueron colectadas en granjas porcinas y en criaderos urbanos del Municipio de León en el periodo febrero – Mayo 2008.

El tamaño de muestra se obtuvo por el programa Win Episcope 2.0, estimando porcentaje calculándose con un tamaño de población de 1756 lechones, utilizando una prevalencia esperada de 10% (Bern et. al, 1994), un error aceptado del 5% y un nivel de confianza de 95%, obteniéndose un tamaño de muestra de 129 animales, pero por razones de costo el estudio se limitó a 120 muestras.

### **Área de estudio:**

El estudio se llevó a cabo en tres granjas porcinas de crianza intensiva del municipio de León localizadas en: Sutiava (Granja San Pedro), carretera a Poneloya (Granja Gallo Solo), km 75 carretera León-Managua (Granja El Nicalit), además de las ubicaciones de los criaderos urbanos.

Factores incluyentes: lechones de 1 día a 5 semanas de edad, ubicados en el municipio de León con diarrea aguda.

Factores excluyentes: lechones mayores de 5 semanas con diarrea crónica.

### **Recolección y Envío de Muestra:**

Las muestras fecales fueron colectadas directamente del recto del animal previa estimulación rectal provocando así la evacuación. Éstas fueron depositadas en recolectores, debidamente etiquetados (código de la muestra y fecha de recolección), a cada muestra se le elaboró una ficha con la siguiente información: nombre del propietario, ubicación de la granja o casa, edad del animal, raza, sintomatología e historial clínico. Posteriormente las muestras fueron transportadas en termos con refrigerantes al laboratorio de serología de la Escuela de Medicina Veterinaria, UNAN - LEÓN, donde se colocaron en viales, de las cuales una parte se procesó en el laboratorio de la Escuela de Veterinaria y otra se trasladó al laboratorio de virología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNAN-LEÓN para su análisis.

### **TÉCNICAS DE LABORATORIO:**

#### **Tinción de Ziehl Neelsen**

Se realizaron frotis que fueron coloreados con la técnica de Ziehl Neelsen para el diagnóstico de Coccidios (Hensicksen y Pohlenz, 1981).

#### **Reactivos utilizados:**

Carbón Fuscina: se disolvieron 10 g de carbón fuscina en 100 ml alcohol puro, homogenizando la solución antes de usar.

Verde de Malaquita: Se agregaron 5 g de verde malaquita en 100 ml de agua destilada, agitándose antes de usar.

Alcohol Ácido: Se utilizó 1.13 ml de ácido clorhídrico aforada a 100 ml de alcohol.

#### **Procedimiento de la tinción:**

Se realizó un frotis de la muestra fijado con metanol por 5 minutos asegurando que el frotis quedara adherido al portaobjeto. Utilizando pinzas, se colocaron los portaobjetos en una gradilla de tinción con los extendidos hacia arriba.

Se aplicó Carbón-Fucsina y se dejó a temperatura ambiente por 5 minutos. Posteriormente se lavó suavemente cada portaobjeto con agua del grifo hasta que toda la tinción quedara lavada y luego se retiró el exceso de agua. Se decoloró con alcohol-ácido.

Se cubrió cada portaobjeto con la solución decolorante y se dejó reposar durante 3 minutos. Se enjuagó con agua cada portaobjeto quitando el exceso de agua. Se aplicó verde malaquita y se dejó por 3 minutos. Se enjuagó con agua hasta eliminar el exceso y se dejó a temperatura ambiente hasta secar. Se colocó una gota de aceite de inmersión y se observó al microscopio a 10 x 100.

#### **Lectura de las láminas:**

Diagnostico de coccidios (*Cryptosporidium parvum*, *Isospora suis* y *yiclospora cayetanensis*). La caracterización se realizó inicialmente con el lente de 40x y para confirmar las muestras positivas se observaron a 100x. Se dió como positivas a *Cryptosporidium parvum* aquellas muestras cuyos ooquistes estuvieran dentro del rango de a 3-4 micras de diámetro, estos se visualizaron con formas esféricas de color rojo anaranjado con presencia de granulaciones oscuras en su interior contrastando el tono verde del fondo y positivas a *Ciclospora cayetanensis* las muestras cuyos ooquistes estuvieran dentro del rango de a 6-8 micras de diámetro, estos se visualizaron con formas esféricas de color rojo con presencia de granulaciones oscuras en su interior contrastando el tono verde del fondo. (Cordero del Campillo)

#### **ELISA, Ensayo IDEIA Rotavirus**

Es una prueba inmunoenzimática cualitativa que sirve para la detección de rotavirus grupo A en muestras fecales, éste utiliza un anticuerpo policlonal de fase sólida que detecta antígeno (VP6) de dicho grupo y puede ser leído fotométricamente.

El procedimiento se realizó según el protocolo de la casa comercial (OXOID), (DAKO, USA).

## **Procedimiento**

Se mezcló 0.1 gr de muestra fecal en 1000 µl de buffer diluyente y luego se transfirió 100 µl a cada posillo, posteriormente se agregó 100µl del conjugado (anticuerpo policlonal específico) y se dejó incubar a 20 – 30°C durante una hora en una cámara húmeda tapada con papel aluminio; luego se lavó 5 veces con buffer de lavado; luego se añadió 100 µl de sustrato y se incubó entre 20 – 30 °C por 15 minutos y finalmente se agregó 100 µl de solución de parado.

Posteriormente se procedió a la lectura fotométrica en el lector de ELISA a 450 nm, biotek ELx 800.

## **Electroforesis del ARN de Rotavirus en gel de Poliacrilamida:**

### **Materiales y equipos utilizados:**

Microcentrifuga (1400 pm.)

Micropipetas de 1 ml, 10-100 µl

Etanol 100 %

Gradillas

Tubos eppendorf 1,5 ml

Vortex.

### **Procedimiento de extracción de ARN viral mediante el Kit de QIANGEN**

Para la extracción del ARN viral se realizó según el protocolo del kit QIANGEN. Se colocó 560 µl de buffer AVL en un tubo de micro centrifuga de 1.5 ml. Se añadió 140 µl de la muestra y se agitó por 15 segundos. Se incubó a temperatura ambiente (15-25 °C) por 10 min. Se centrifugó brevemente y luego se añadió 560 µl de etanol (96-100%) a la muestra y se agitó suavemente. Se colocaron 630 µl de la mezcla anterior en una columna (tubo de 2 ml) y se centrifugó a 8000 rpm por un minuto. Se colocó la columna en un nuevo tubo de 2 ml y se descartó el anterior. Se añadió nuevamente 630 µl de la solución y se repitió el paso anterior. Luego se agregó 500 µl de Buffer AW1 y se centrifugó a 8000 rpm por 1 minuto. Se colocó la columna en un nuevo tubo colector y se le agregó 500 ml de Buffer AW2 y se centrifugó a 14000 rpm por 3 minutos.

Se colocó la columna en un nuevo tubo colector y se centrifugó por 1 minuto. Se colocó la columna en un tubo eppendorf 1.5 ml y se le agregó 60 µl buffer AVE y se incubó por un minuto, se centrifugó a 8000 rpm y se guardó el ARN viral -20°C.

## **Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE)**

### **Reactivos y materiales utilizados:**

Ácido Clorhídrico, HCl 36-38 % (Baker Analyzed)

Tetra Metil Etilendiamina, TEMED (Bio-Rad)

Persulfato de Amonio, AMPS (Bio-Rad)

Glicerina (Baker Analyzed)

Silver Lactate (Bio-Rad)

Formaldehído (Merck)

Etanol (Merck)

Cloruro de sodio, NaCl (Merck)

Glicina (Merck)

Hidróxido de sodio, NaOH (Akzo Nóbel)

SDS (Gibco – BRL)

TRIS Base (Merck)

BIS Acrilamida (Merck)

Acrilamida (Gibco - BRL)

Ácido acético glacial (Fisher Scientific)

Fenol (Merck)

Cámaras de Electroforesis (Bio – Rad)

Fuente de Poder (Bio – Rad).

### **Preparación de los geles**

**Gel Separador:** En un tubo de 10 ml se mezcló 1.86 ml de acrilamida al 40%, 1 ml de bis acrilamida al 2 %, 1.25 ml de buffer 8 XLA, 4.90 ml de agua destilada, 90 µl de AMPS al 10% y 10 µl de TEMED.

Se vertió la mezcla anterior en las placas hasta 2 cm del borde, se depositó una película fina de agua destilada. Se dejó polimerizar por 35 min y luego se le extrajo la película fina de agua destilada con papel filtro.

**Gel espaciador:** En un tubo de 10 ml se mezcló 0.42 ml de acrilamida al 40 %, 0.23 ml de bis acrilamida al 2 %, 0.48 ml de buffer 8XLB, 2.53 ml de agua destilada, 40 µl de AMPS al 10% y 6 µl de TEMED.

Se vertió la mezcla sobre el gel separador hasta el borde de la placa, se introdujo el peine y se dejó polimerizar durante 40 min. Una vez lograda la polimerización del gel espaciador, el peine se retiró y se procedió a la colocación de las muestras con sample buffer en una relación de 2:1 (20 µL de muestra / 10 µL buffer de corrida). Luego se llenó la cámara con buffer de

corrida teniendo el cuidado de no tocar las muestras y se realizó la corrida a 100 voltios por 15 min y luego a 160 voltios por 90 min.

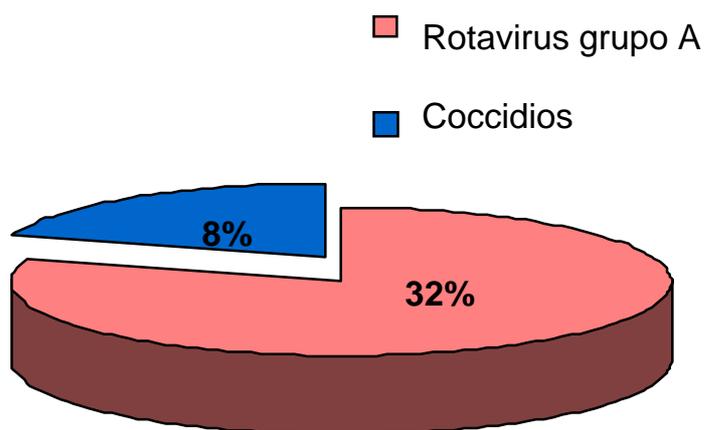
### **Tinción y revelado**

El gel se fijó en 100 ml de solución de fijado (Etanol 35%, Ácido acético 10%) agitándose por 20 min. Luego se agregó 200 ml de solución oxidante y se dejó por 3 min. (Solucion oxidante: Bio Rad Cat No. 161-0444). Se enjuagó 6 veces con agua destilada durante 2 min, se le agregó 100 ml de solución de Silver Láctate 0.175 % y se agitó por 15 min. Se lavó 3 veces con agua destilada, luego se reemplazó con solución de revelado hasta la aparición de las bandas, luego se reemplazó con solución de parado (ácido acético al 5%). Posteriormente el gel se colocó sobre un papel filtro húmedo y se procedió al secado al vacío (Temp. 80°C 1:45 h).

## 8. RESULTADOS

Durante un periodo de 4 meses (Febrero-Mayo del año 2008) se colectaron un total de 120 muestras fecales de lechones con diarrea, obtenidas en 8 lugares (Granjas y crianza domestica) localizadas en la región del Municipio de León. Del total de las muestras analizadas se obtuvo un 32%(38/120) de prevalencia de rotavirus y 8.3%(10/120) de coccidios.

Prevalencia de Rotavirus Grupo A y Coccidios  
n:120



Dentro del estudio se tomaron en cuenta variables que estuvieran asociadas a los procesos diarreicos, como fueron: tiempo, edad, raza, coloración, consistencia y síntomas más frecuentes en este proceso. Todas estas variables fueron consideradas para ambas enfermedades (Rotavirus Grupo A y Coccidiosis) y se muestra en las siguientes figuras:

Grafico 2. Distribución de los meses que mostraron mayor positividad a rotavirus grupo A y coccidios. n:120

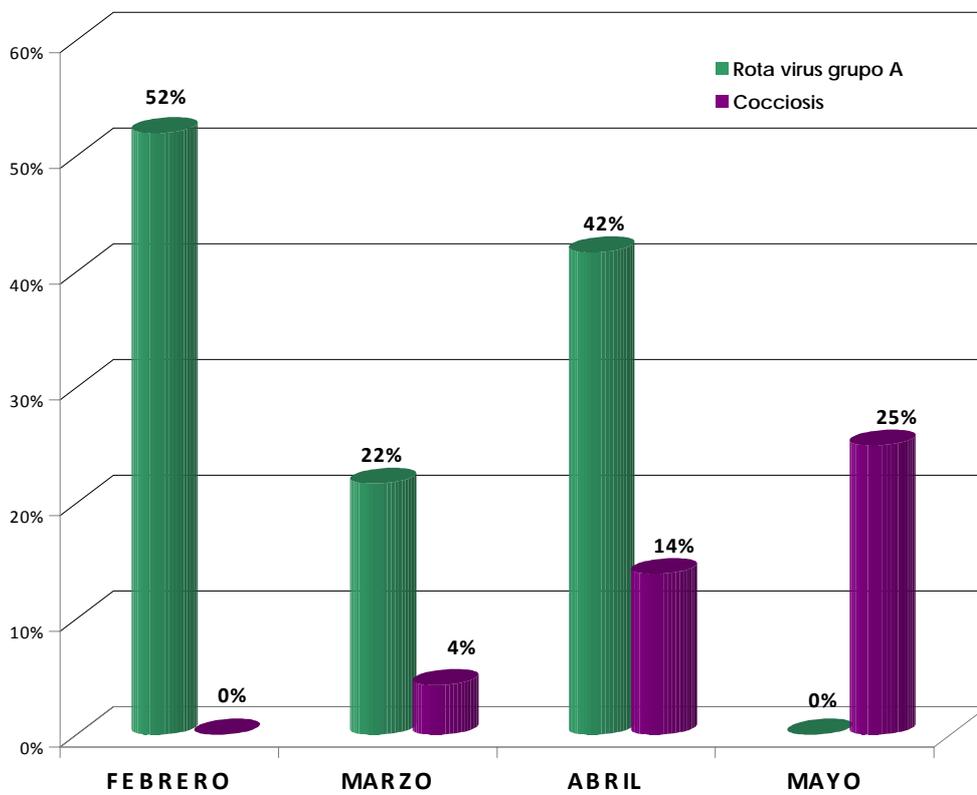


Grafico 3. Distribución de las edades en muestras positivas. n:120

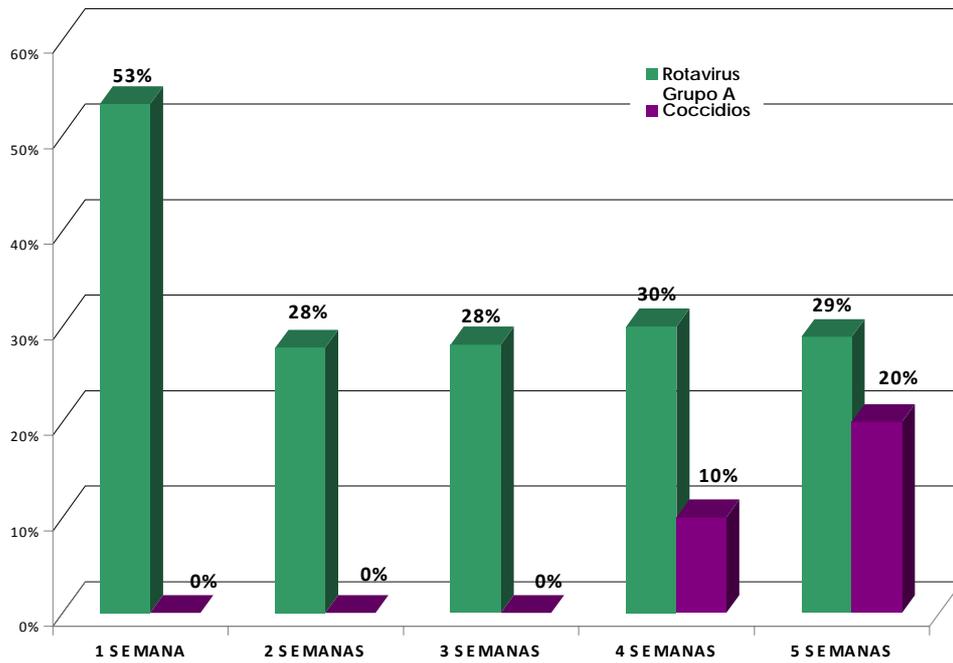


Grafico 4. Porcentaje de positividad de las razas en las granjas de estudio.

n:120

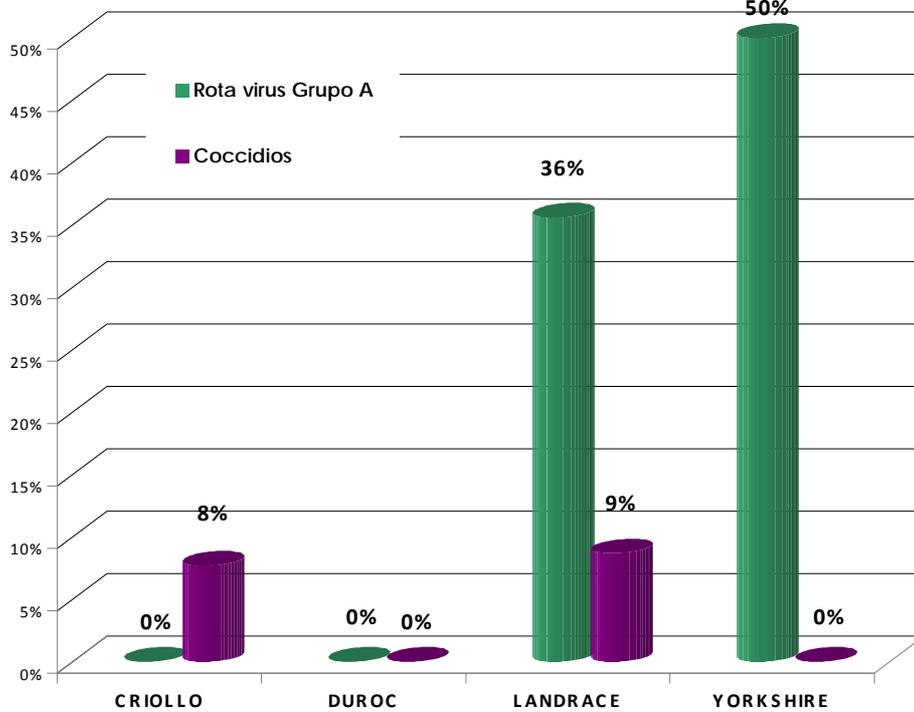


Grafico 5. Síntomas más frecuentes encontrados en lechones. n:120

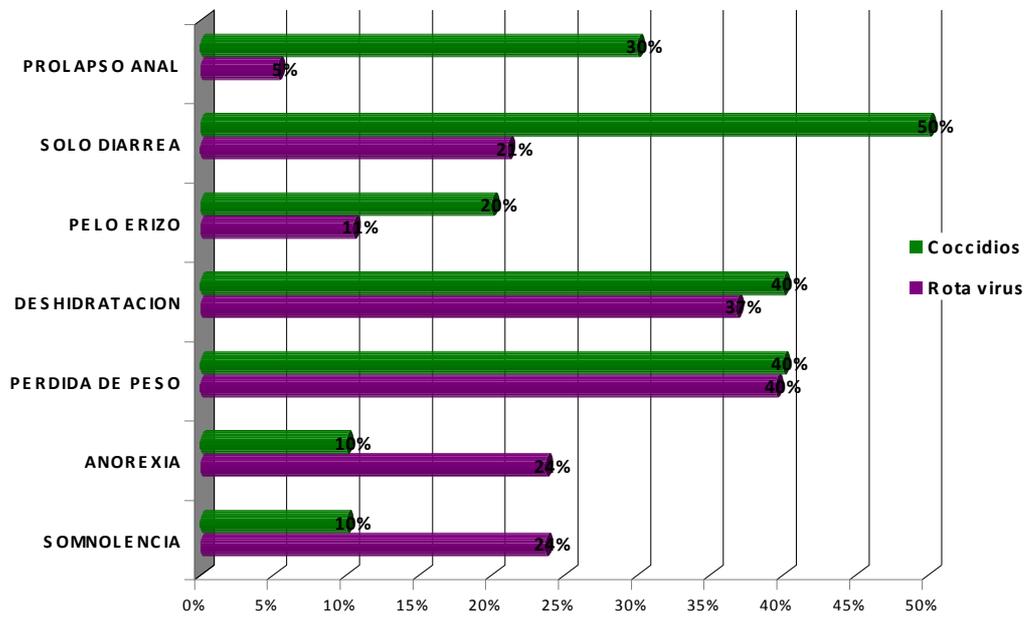


Grafico 6. Color de las deposiciones en las muestras positivas. n:120

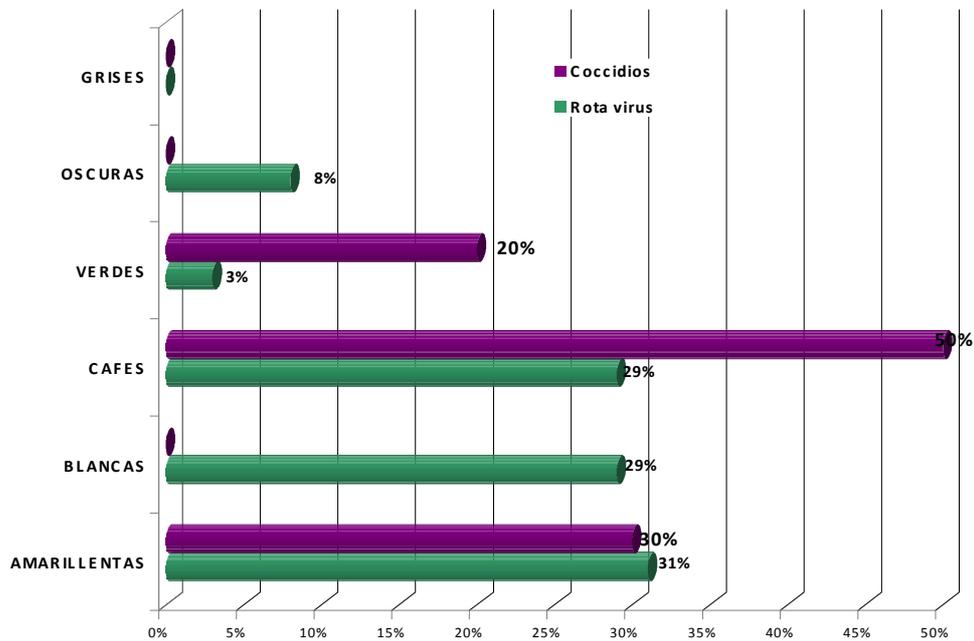
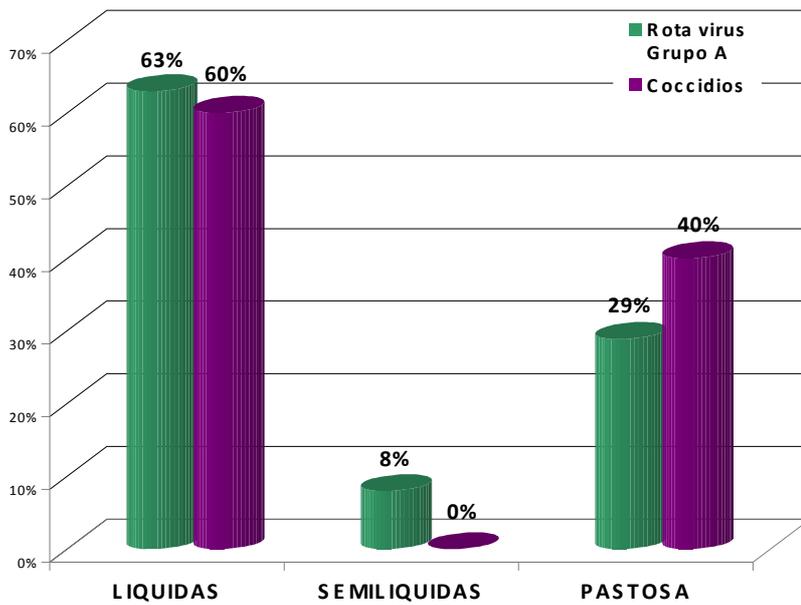
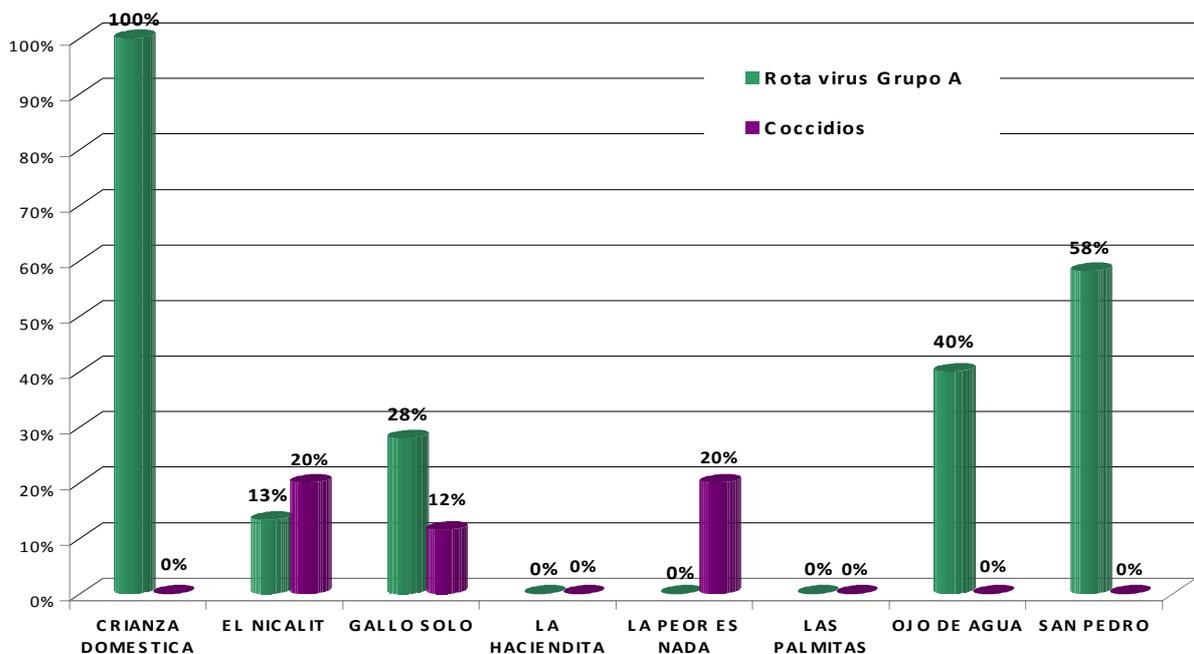


Grafico 7. Consistencia de las heces encontradas en las muestras positivas.



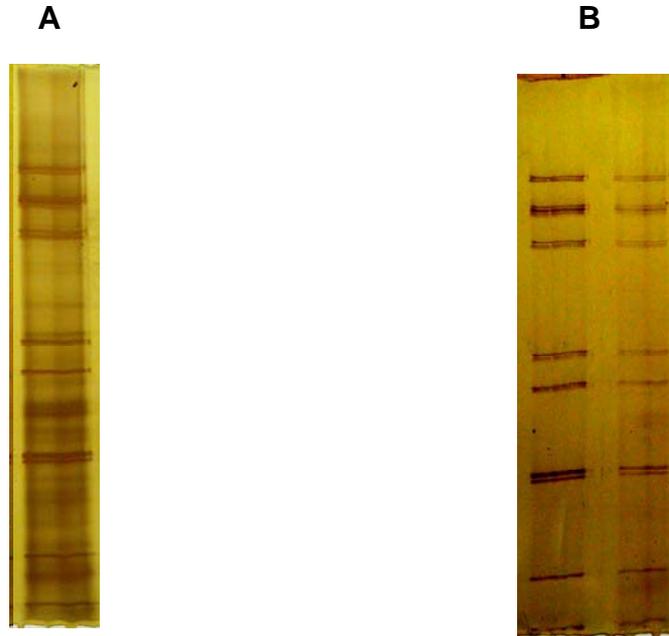
Dentro del estudio se ubicaron granjas de crianza intensiva (El Nicalit, Gallo Solo y San Pedro) y de patio (Crianza doméstica, la Haciendita, La peor es nada, Las palmitas y ojo de agua), el cual muestra en grafico 8 el porcentaje de positividad a rotavirus y coccidios.

Grafico 8. Porcentaje de positividad a Rotavirus grupo A y Coccidios por ubicacion. n:120



## Resultado de Electroforesis (PAGE)

Bandas de ARN de Rotavirus Grupo A aislados en el sector de Gallo Solo (A) y San Pedro (B), Febrero-Mayo 2008.



## 9. DISCUSIÓN

Este es el primer reporte en Nicaragua referido sobre la infección por Rotavirus y Coccidiosis en lechones con diarrea, estudio realizado en 8 sitios (Granjas y crianza domestica) localizadas en el Municipio de León. Durante un periodo de 5 meses (Febrero-Mayo 2008).

En base a los resultados expuesto en la Gráfica 1, estos difieren de otros estudios realizados en otras latitudes, como es el caso de Costa Rica donde se reportó solamente un 14% de prevalencia de rotavirus en 50 muestras fecales analizadas de lechones con diarrea, estudiadas en 5 granjas porcinas de crianza intensiva en Río Cuarto de Grecia, Costa Rica. (Bonilla, J. L., 2007). Nuestros resultados, fueron similares a los reportados en un estudio realizado en Venezuela donde se demostró que cerca del 30 % de las diarreas que ocurren en lechones de entre 3 y 6 semanas de edad estaban asociados a infección por rotavirus (Utrera, 1984; Liprandi y col., 1987; Nava, 1995).

La variabilidad en las tasas de infección por rotavirus y otras infecciones intestinales en lechones recién nacidos, esta asociada a numerosos factores, hay que tomar en cuenta el tamaño de los animales estudiados que para el caso de Costa Rica fue una muestra muy pequeña. También es importante la el sitio de donde se colectaron las muestras de estudio por los factores de riesgo de contaminación cruzada con otras especies provenientes de animales en granjas de crianza doméstica. En cambio, en las explotaciones de granjas de crianza intensiva tiene menos riesgo de infección cruzada.

Se observó que la distribución de las diarreas en base a los meses de recolección fue relativamente uniforme obteniéndose en los meses de Febrero y Abril, mayor frecuencia de casos positivos a rotavirus (52 y 42%, respectivamente). En cambio para el caso de la Coccidiosis los meses de mayor presencia fue Abril y Mayo (14 y 25%, respectivamente), Desde el punto de vista epidemiológico seria interesante conocer la distribución de agentes infecciosos a lo largo del año y sobre todo en las diferentes estaciones . La realización de estudios longitudinales pudiera ser útil para estos casos.

Respecto a la distribución de las edades se muestra que hubo mayor positividad en la primera semana de edad para el caso de rotavirus con un 53% y para el caso de la Coccidiosis se mostró mayor positividad en la quinta semana con 20%. Nuestros resultados no coinciden con un trabajo publicado al

respecto, donde ha sido demostrado que el virus afecta a lechones de 3 a 6 semanas de edad en las cuales alcanza una mayor frecuencia de positividad. (Hidalgo M., 1995).

Se observó que la raza Yorkshire presentó mayor positividad a rotavirus con un 50% seguido de la raza Landrace con un 36%, para el caso de Coccidiosis la mayor positividad se presentó en la raza Landrace con 9% seguido de las razas criollas. Esto se explica a que en las granjas era la raza utilizada era de estas dos estirpes en su mayoría (Yorkshire y Landrace). Además como se ha constatado en muchos estudios, es importante tomar en cuenta que existen razas genotípicamente mas resistentes o sensibles a diferentes tipos de agentes infecciosos , (Henryon et al. 2001).

En relación a la distribución de infección por rotavirus por sitios expuestos en la Grafica 8. Nos indica que la granja San Pedro obtuvo 48% de positividad, esto lo atribuimos probablemente a que las muestras fueron tomadas durante pico epidémico de rotavirus ya que los tipos identificados mostraron el mismo patrón electroforético.

Respecto a la sintomatología, el color y la consistencia de las deposiciones, nuestro hallazgos fueron similares a los descritas en la literatura, respecto a esto, es difícil determinar solo por las características de las heces tener una presunción diagnóstica del agente responsable, necesitando siempre el diagnóstico de Laboratorio.

La cría porcina es una de las actividades pecuarias importante en Nicaragua y las diarreas en estos animales generan perdidas económicas de consideración.

Respecto a esta enfermedad se conoce muy poco en nuestro país por lo tanto, es necesario en conjunto con autoridades del ministerio de Agricultura y otras autoridades sanitarias diseñar políticas de investigación para obtener conocimientos todo ello con el objetivo de contribuir a la salud y a la productividad del rebaño porcino y controlar el impacto que causan las infecciones por microorganismos entero patógenos.

## 10. CONCLUSIONES

- Las infecciones por Rotavirus Grupo A fueron encontrados asociados a lechones con diarrea en un 32% y un 8.3% a infecciones por Coccidiosis.
- Se identificaron dos especies de Coccidios: *Cryptosporidium parvum* y *Ciclospora cayenatensis*.
- La técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) de rotavirus demostró que pertenecían a un mismo patrón de migración electroforético largos.
- La mayor casuística de diarreas en las granjas muestreadas se reportó en los meses de Febrero y Abril para rotavirus y en Mayo para coccidios del presente año.
- La mayor tasa de positividad a Rotavirus grupo A, fue encontrada en animales de una semana de edad y en el caso de coccidios en animales de cinco semanas de edad.
- Los lechones de la raza Yorkshire presentaron mayor porcentaje de positividad a Rotavirus grupo A.
- Los síntomas más frecuentes en muestras positivas a Rotavirus fueron pérdida de peso y deshidratación.
- Las muestras colectadas de heces positivas a Rotavirus se caracterizaron por presentar una coloración amarilla sin presentar una diferencia significativa con otros colores de heces presentes en las muestras, en cambio para Coccidios el color de heces más frecuente fue el café.
- Las granjas ubicadas en la zona sur-oeste (sutiava) y nor- oeste (carretera a poneloya) del municipio de león presentaron mayor positividad a Rotavirus grupo A.

## 11. RECOMENDACIONES

1. Caracterizar los genotipos de Rotavirus grupo A con el fin de ampliar la investigación y determinar los serotipos más prevalentes en cerdos en Nicaragua.
2. Mejorar las técnicas diagnosticas de Coccidios mediante la técnica PCR.
3. Ampliar las zonas de estudio y el periodo de vigilancia para obtener datos de la epidemiología de estas infecciones en nuestro medio .
4. Establecer granjas centinelas para la aplicación de un programa de vigilancia epidemiológica.
5. Utilizar muestras de animales asintomático y con diarrea para determinar si en ellos existe la presencia de los agentes encontrados en la muestra de estudio.
6. Incluir dentro de la investigación otros agentes infecciosos que producen síntomas similares a los encontrados en la población bajo estudio.
7. Realizar estudios anuales sobre la relación ínter especie entre rotavirus humano y rotavirus porcino en la población rural de Nicaragua.

## 12. BIBLIOGRAFIA

1. Atlas, A. Parasitología Médica; 1th edición, Publicaciones Técnicas Mediterráneo, Santiago, Chile. 1998.
2. Arias, C. F., C. Guerrero, E. Méndez, S. Zárate, P. Iša, R. Espinosa, P. Romero, and S. López. 2001. Early events of rotavirus infection: the search for the receptor(s). *Novartis Found. Symp.* 238:47–63.
3. Atias, A., 1991. *Parasiyologia clinica*. 3th. Ed.Chile. mediterraneo:102-4, 123-26, 145-62, 438-44, 462-66, 577-86p.
4. Bern C, Glass RI. 1994,. Impact of diarrheal disease worldwide. In: Kapikian AZ, ed. *viral infections of the gastrointestinal tract*. 2 Ed. New York: Marcel Dekker; pp.1-26.
5. Bonilla J. L., Detección y genotipificación de rotavirus bovino y porcino en., 2007 Universidad Nacional De Costa Rica Posgrado Regional en Ciencias Veterinaria Tropicales Maestria en Enfermedades Tropicales.
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Division of Parasitic Disease. Identification and Diagnosis of parasites of public health concern. Atlanta: CDC, 2000.
7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Division of Parasitic Disease. *Cyclospora* infection. Information for health care providers. Atlanta: CDC, 1999.
8. Cordero del campillo, M., rojo, F. A., Ortega, L. M. 1999 Parasitosis del aparato digestivo: Criptosporidiosis. 1th Ed. Mc Graw-Hill-interamericana de España, España, pp. 456-457.
9. Casemore DP. The antibody response to *Cryptosporidium*: development of a serological test and its use in a study of immunologically normal persons. *Journal of Infection* 1987; 14:125-34.
10. Chae C., D. Kwon, O. Kim, K. Mim, D-S. Cheon, C. Choi, B. Kim and J. Suh., 1998, Diarrhoea in nursing piglets associated with coccidiosis: prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms *Veterinary record*, 143, 417-420.
11. Driensen S. J., P. G. Carland y V. A. Fahy. 1993. Studies on preweaning piglet diarrhoea. *Aust. Vet. J*, 70(7):259-262.

12. Eberhard M L, Nace EK, Freeman A R. 1999 Survey for *Cyclospora cayetanensis* in domestic animals in an endemic area in Haiti. *J. Parasitol* 1999; 85:562-3.
13. Falcone E., Tarantino M., L. Di Trani, Cordioli P., Lavazza A., y Tollis M, 1999. Determination of Bovine Rotavirus G and P Serotypes in Italy by PCR. *Journal of clinical microbiology*, 37:3879-3882.
14. Garcia, L; Bruckner, D. *Diagnostic Medical Parasitology*; 3rd edition, American Society of Microbiology, Washington, USA 1993.
15. Gouvea V., Santos N., and Timenetsky M., 1994, Identification of Bovine and Porcine Rotavirus G Types by PCR, *Journal of Clinical Microbiology*, 32(5): 1338-1340.
16. Henriksen S. A. y J. P. Chirstensen 1992. Demonstration of isospora suis oocyst in faeca sample vet. *Rec*, 131:443-444p.
17. Henriksen SA, Pohlenz JF. 1981. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet Scand*, 22: 594-596.
18. Henryon M, Berg P, Jensen J, Andersen S (2001) Genetic variation for resistance to clinical and subclinical diseases exists in growing pigs. *Anim Sci* 73,375-387.
19. Hidalgo M., 1995 Diarrea por rotavirus en lechones, Instituto de investigación veterinaria., Maracay. fonaiap n 49., año XII julio-septiembre 1995. Hidalgo M., 1995, <http://www.inia.gov.ve> n 49, año., 12, julio- sep 1995.
20. Instituto C. Malbrán. *Coproparasitología*. Buenos Aires: Inst C Malbrán: 1993.
21. Kapikian, A. Z., Y. Hoshino, R. M. Chanoc. 2001. *Virology*. 4th ed., Lippincott-Raven, Philadelphia, USA. Rotavirus en animales asintomáticos: Detección y clasificación antigénica., *Arch. med. vet.* v.36 n.1 Valdivia 2004.
22. Kapikian, A. Z., Y. Hoshino, R. M. Chanoc. 2001. *Virology*. 4th ed., Lippincott-Raven, Philadelphia, USA.
23. Levine, N.D. (1980). Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. *J. Protozool.*, 56/5: 830-834.
24. Martella Vito, Pratelli Annamaria, Greco Grazia, Tempesta Maria, Ferrari Maura, Losio Marina Nadia, y Buonavoglia Canio, 2001. Genomic characterization of porcine rotaviruses in Italy. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8:129-132.

25. Martella V., Ciarlet M., Baselga R., Arista S., Elia G., Lorusso E., Ba'nyai K., Terio V., Madio A., Ruggeri F.M., Falcone E., Camero M., Decaro N., Buonavoglia C., 2005. Sequence analysis of the VP7 and VP4 genes identifies a novel VP7 gene allele of porcine rotaviruses, sharing a common evolutionary origin with human G2 rotaviruses. *Virology*, 337:111-123.
26. Meyer C., A. Joachim y A. Dauschies, 1999, Occurrence of isospora suis in lager piglet production rearing farms. *Vet. Parasitol.*, 82:277-284.
27. Orlandi PA, Lampel KA. Extraction-Free, Filter-Based Template Preparation for Rapid and Sensitive PCR Detection of Pathogenic Parasitic Protozoa. *J Clin Microbiol* 2000; 38(6): 2271-7.
28. Olsen W. *Parasitología animal*. 2a.ed. Barcelona: Argos, 1990.
29. Organización Panamericana de la Salud. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. 17ª ed. Washington: OPS, 2001: 98-9.
30. Ortega Y. R. ; Gilman R. H. ; Sterling C. R. ; 1994, vol. 80, nº4, pp. 625-629 (22 ref.) A new coccidian parasite (apicomplexa : eimeriidae) from humans.
31. Ortega Y, Sterling C, Gilman R, Cama V y Díaz F. 1993 *Cyclospora* species a new protozoan pathogen of humans. *New England J. Med.* 328(18): 1308-1312.
32. Parte-Pérez M.A., Bruzual E., Brito A., Enero 2005. *Cryptosporidium* spp. Ycriptosporidiosis. *Revista sociovenezolana Microbiología*. vol.25 no.1 Caracas.
33. Quílez, J, Sánchez Acedo, C, Clavel, A, Del Cacho, E., López Bernad, F. 1996. Prevalence of *Cryptosporidium* infections in pigs in Aragón (northeastern Spain). *Vet. Parasitol.*, 67: 83-88.
34. Reinhardt, G.,S. Riedmann,M. Polette, M. Aguilar, N. Niedda. (1986). Diarrea neonatal: Infección por rotavirus en bovinos y porcinos. *Arch. Med. Vet.* 18: 23-27.
35. Ritchie LS. An Ether Sedimentation Technique for routine Stool Examination. *Bull US Army Med Dept* 1948; 8: 326.
36. Rivas C. (1983). Detección y caracterización de rotavirus en cerdos lactantes en la Región Metropolitana. Tesis Medicina Veterinaria.

Santiago. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile.

37. Rossanigo, C.E.; Grelloni, V.; Gialetti, L.; Fioroni, A. y Rivero, V.B. (1987). Diagnosi di criptosporisiosi in alcuni allevamenti dell'Italia Centrale. Riv. Zoot. Vet., 15: 9-15.
38. Salvatella R, Ballesté R, Puime A, Rodríguez G, Eirale C, Calegari L, 2002, Prevalencia y epidemiología de *Cyclospora cayetanensis* en Uruguay. Agente de diarrea del viajero, adquirida en el exterior. Rev. Méd. Urug. v.18 n.2 Montevideo set. 2002.
39. Soave R, Johnson W. *Cyclospora*: conquest of an emerging pathogen. Lancet 1995; 345(8951): 667.
40. Thomson J. 1998, Etiología y control de las principales infecciones entéricas porcinas (1) Ponencia presentada en SEPOR 2000. Autorización expresa para "Información Veterinaria".
41. Webster, W. R. 1981. Scouring in suckers, Vet. Sci. 56: 195 - 207.
42. Zerpa R, Uchima N, Huicho L. 1995, *Cyclospora cayetanensis* associated with watery diarrhoea in peruvian patients. J Trop Med Hyg; 98:325-9.

## 13. ANEXOS

### 13.1 CUADROS

Tabla 1. Periodo de tiempo en el cual se tomaron las muestras del estudio

FECHA DE RECOLECCION DE INFORMACION	n	%
15-FEB-2008	6	5%
18-FEB-2008	4	3%
22-FEB-2008	5	4%
25-FEB-2008	4	3%
29-FEB-2008	6	5%
03-MAR-2008	9	8%
04-MAR-2008	2	1%
07-MAR-2008	5	4%
12-MAR-2008	8	7%
19-MAR-2008	8	7%
25-MAR-2008	4	3%
27-MAR-2008	6	5%
28-MAR-2008	4	3%
03-APR-2008	3	2%
09-APR-2008	8	7%
11-APR-2008	10	8%
14-APR-2008	15	12%
14-MAY-2008	13	13%
Total	120	100,0%

Tabla 2. Cantidad de muestras tomadas por mes.

Mes de muestreo	Recuento	% del N de la tabla
FEBRERO	25	21%
MARZO	46	38%
ABRIL	36	30%
MAYO	13	11%

Tabla 3. Edad y razas en las muestras parte del estudio.

<b>EDAD Y RAZA DEL CERDO</b>			
		N	%
EDAD	1 SEMANA	15	13%
	2 SEMANAS	18	15%
	3 SEMANAS	32	27%
	4 SEMANAS	10	8%
	5 SEMANAS	45	37%
RAZA	CRIOLLO	13	11%
	DUROC	1	1%
	LANDRACE	104	87%
	YORKSHIRE	2	1%

Tabla 4. Síntomas encontrados en los animales al momento del muestro.

<b>SINTOMAS</b>		
	n	%
SOMNOLENCIA	25	21%
ANOREXIA	18	15%
PERDIDA DE PESO	48	40%
DESHIDRATACION	32	27%
PELO ERIZO	14	12%
NORMAL	37	31%
PROLAPSO ANAL	8	7%

Tabla 5. Zonas del municipio donde se tomaron muestras: granjas y criaderos urbanos.

<b>NOMBRE DE LAS GRANJAS</b>	n	%
CRIANZA DOMESTICA	1	,8%
EL NICALIT	15	12.5%
GALLO SOLO	53	44.1%
LA HACIENDITA	2	1.6%
LA PEOR ES NADA	5	4%
LAS PALMITAS	8	6.6%
OJO DE AGUA	5	4.1%
SAN PEDRO	31	25.8%
Total	120	100%

Tabla 6. Color y consistencias de las heces en la muestra del estudio.

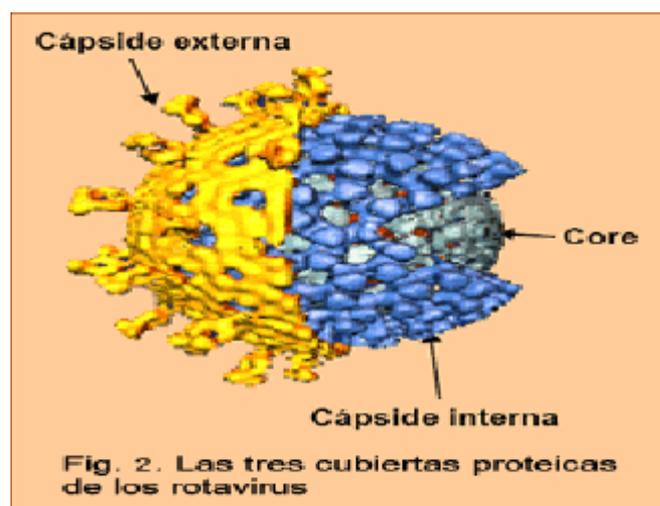
	n	%
<b>COLOR DE LAS HECES</b>		
AMARILLENTAS	36	30%
BLANCAS	30	25%
CAFES	31	26%
VERDES	9	7%
OSCURAS	13	11%
GRISES	1	,8%
<b>CONSISTENCIA DE LAS HECES</b>		
LIQUIDAS	75	62%
SEMILIQUIDAS	6	5%
PASTOSA	38	32%

## 13.2 IMÁGENES

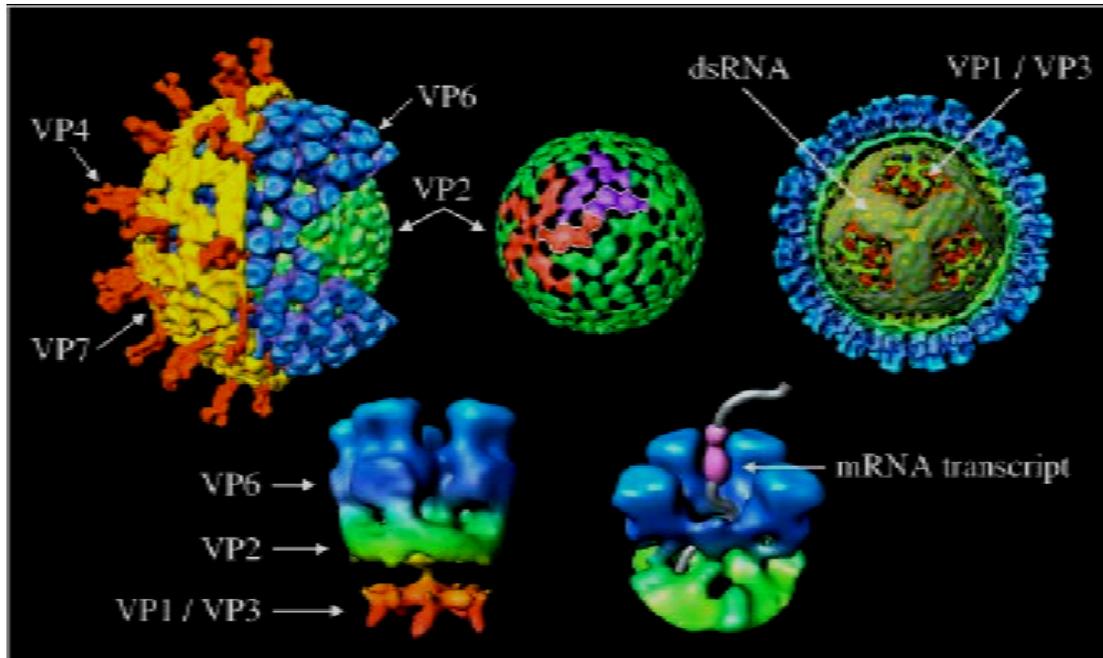
### Síntomas clínicos de los lechones muestreados.



### Estructura del Rotavirus:

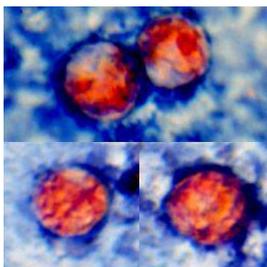


## Estructura Externa e Interna del Rotavirus Grupo A: Proteínas de la cápside de rotavirus.

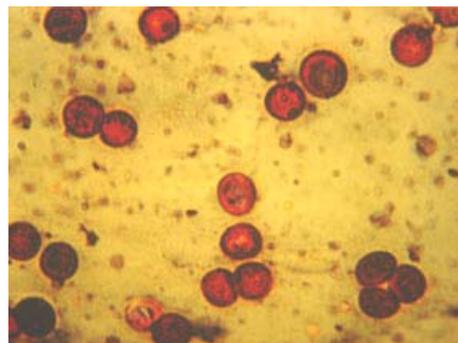


## Imágenes teñidas con Ziehl Neelsen Modificado (Kinyou)

### Cyclospora cayetanensis



### Cryptosporidium parvum



## Ciclo biológico del Parásito

