

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTECNIA

PREVALENCIA E INCIDENCIA DE *Cryptosporidium* spp EN BECERROS  
DE LA ZONA CENTRO DEL ESTADO DE VERACRUZ, MÉXICO.

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

PRESENTA

**PAMELA CANO ROMERO**

Asesores:

Dr. Miguel Ángel Alonso Díaz

Dr. Juan Antonio Figueroa Castillo

México, D. F.

2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIA**

A mis padres Eduardo y Lina por estar siempre a mi lado, por todo su apoyo, por compartir este logro que también es de ustedes, por que han dedicado su vida hacer de mi alguien de bien, porque todos sus esfuerzos han valido la pena, por confiar en mí y por todos sus sacrificios muchas gracias los amo.

A mis hermanas Lina y Maeva, a mi cuñado Lázaro por todo el apoyo que me dieron, por sus palabras de aliento, por confiar en mí y por estar siempre a mi lado.

A mi hermosa sobrina Siomara por ser la luz en mi vida, por ti me esmere en hacer un buen trabajo y terminar pronto para regresar a tu lado porque tu amo mucho.

Al Dr. Héctor Basurto porque por el descubrí mi verdadera pasión de estudiar veterinaria: los bovinos y así encontrar la motivación de terminar esta bella carrera, por sus sabios consejos, pero en especial por ser un gran amigo en todos estos años.

A toda mi familia le dedico esta tesis con mucho cariño y amor ya que sin su apoyo nunca hubiera logrado esto.

## AGRADECIMIENTOS

A mi asesor el Dr. Miguel Ángel Alonso, por el apoyo y guía durante la realización de este proyecto, por brindarme la oportunidad de exponer en congresos, por compartir sus conocimientos durante esta estancia, por su paciencia, por hacerme mejorar cada día, pero sobre todo por su valiosa amistad.

A mi asesor el Dr. Juan Antonio Figueroa, por su confianza para que realizara este proyecto, por todo el apoyo y consejos que me brindo, por compartir sus conocimientos y por todo el tiempo dedicado.

Al Dr. Francisco Trigo Tavera por haberme otorgado un gran apoyo para realizar este proyecto, por la confianza que me brindo muchas gracias.

A mi Universidad la UNAM por toda la formación que recibí en ella, a mi Facultad por ser la mejor en Latinoamérica, por permitirme estudiar en ella, a todos los profesores de la FMVZ que participaron en mi formación, en especial al Dr. Juan Manuel Cervantes por iniciarme en el mundo de la investigación, es todo un orgullo ser hecha en C.U.

Gracias a todo el personal académico del CEIEGT por sus sabios consejos, por compartir sus conocimientos, por su valiosa amistad en especial al Dr. Fernando Livas, al Dr. Jesús Jarillo, al Dr. Epigmenio Castillo, al Dr. Manuel Corro, al Dr. Eliazar Ocaña, a la Dra. Rebeca Acosta y a la Dra. Leticia Galindo.

A todos los trabajadores de “El Clarín” por hacerme sentir como en casa, en especial a mis grandes amigos Vicky, Gris, Filo, Enrique, Francisco, Oscar, Héctor (pollo), Dago, Cirilo, Arturo (güero), por toda su ayuda que me brindaron siempre, por los buenos momentos que pase con ellos durante esta maravillosa estancia.

A Jorge Becerra mi querido popochitas por compartir todos sus conocimientos, por ser el master en el laboratorio, por toda la paciencia que tuvo para enseñarme, pero sobre todo por ser un gran amigo.

A mis amigos Coatlicue, Paulina, Erikita, Susana, Javier, Alfonso, Gerardo, Pepe, Diego, Margarita, Isaac, Santiago y José Manuel gracias por brindarme su amistad, por estar conmigo en todo momento y por darme su apoyo durante tanto tiempo.

A mi gran amiga Paulina Ortega por todo lo que hemos compartido, por todos los bellos momentos, porque en las buenas y en las malas siempre hemos estado juntas, por todo tu apoyo gracias.

A mis amigos de “El Clarín: Agustín por ayudarme en la difícil tarea de conseguir ranchos para realizar esta investigación a Rosenda por ser una excelente amiga y compañera a Yazmín, Katia, Alejandro, Jorge, Adrian, Lennin, Martincito y Ángel, por hacer que esta estancia fuera algo inolvidable, por todos esos momentos divertidos que compartimos y por los que faltan, por su gran amistad, sin ustedes esto nunca hubiera sido tan especial, siempre los llevare en mi corazón.

A todos los ganaderos por su cooperación en esta investigación permitiendo muestrear en sus ranchos y claro a todos los becerros que aportaron su respectiva muestra.

A mi honorable jurado conformado por el Dr. Héctor Basurto, el Dr. Miguel Quiroz, el Dr. Alberto Guadarrama, la Dra. Yazmín Alcalá y al Dr. Miguel Ángel Alonso por todo su tiempo dedicado y observaciones en mejora de este trabajo.

Gracias a todos aquellos que no menciono, porque no terminaría nunca, pero que tuvieron que ver en la realización de este mi gran sueño ser una Medica Veterinaria Zootecnista.



# CONTENIDO

	Página
<b>I. RESUMEN</b>	1
<b>II. INTRODUCCIÓN</b>	2
2.1. Antecedentes	3
2.2. Distribución y prevalencia de <i>Cryptosporidium</i> spp en bovinos.	5
2.3. Ciclo biológico de <i>Cryptosporidium parvum</i>	6
2.4. Epidemiología de <i>Cryptosporidium</i> spp	8
2.4.1. Características de <i>Cryptosporidium</i> spp	8
2.4.2. Transmisión	9
2.4.3. Factores de riesgo	9
2.5. Signos clínicos y lesiones causadas por <i>Cryptosporidium</i> spp	10
2.6. Diagnóstico	11
2.7. Tratamiento	14
2.8. Prevención y control	14
<b>III. JUSTIFICACIÓN</b>	15
<b>IV. HIPÓTESIS</b>	16
<b>V. OBJETIVOS</b>	17
<b>VI. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	18
6.1. Localización geográfica	18
6.2. Animales experimentales	18
6.3. Colecta de muestras y análisis de laboratorio	19
6.4. Análisis estadístico	21
<b>VII. RESULTADOS</b>	22
7.1. Distribución de animales muestreados en las UPB evaluadas	22
7.2. Prevalencia de las UPB con <i>Cryptosporidium</i> spp	22
7.3. Relación del sexo de los becerros sobre la infección de <i>Cryptosporidium</i> spp	23
7.4. Relación de la edad de los becerros sobre la infección de <i>Cryptosporidium</i> spp	23
7.5. Incidencia verdadera de <i>Cryptosporidium</i> spp	23
<b>VIII. DISCUSIÓN</b>	25
<b>IX. CONCLUSIONES</b>	27
<b>X. LITERATURA CITADA</b>	28

## I. RESUMEN.

PAMELA CANO ROMERO. Prevalencia e incidencia de *Cryptosporidium* spp en becerros de la zona centro del estado de Veracruz, México. (Bajo la dirección del Dr. Miguel Ángel Alonso Díaz y del Dr. Juan Antonio Figueroa Castillo).

Los objetivos de este estudio fueron: i) determinar la prevalencia de *Cryptosporidium* spp en unidades de producción bovina (UPB) ubicadas en la zona centro de Veracruz, México, ii) relacionar la edad y el sexo de los becerros con la infección de *Cryptosporidium* spp y iii) calcular la incidencia verdadera de *Cryptosporidium* spp en becerros de dos UPB ubicadas en la misma zona. Se examinaron 272 becerros de doble propósito en pastoreo, pertenecientes a 13 UPB elegidas por conveniencia. A todos los animales se les colectaron heces directamente del recto, se realizaron frotis de heces y se tiñeron conforme a la técnica de Kinyoun. Los ooquistes de *Cryptosporidium* spp se identificaron por microscopía a 100X. En las UPB “El Clarín” y “La Soledad” se colectaron muestras quincenalmente para determinar la incidencia verdadera. La prevalencia global fue de 35.7% (IC 30 – 41.4%) y fluctuó de 18.8 a 63%. La prevalencia fue mayor en los becerros menores de cuatro meses (42.86%) que en los mayores a cuatro meses (28.03%) (P=0.01). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras. La incidencia verdadera fue de 170 y 100 casos nuevos por cada 1000 animales a riesgo en “El Clarín” y “La Soledad”, respectivamente. Se concluye que la criptosporidiosis es una enfermedad prevalente en las UPB de la zona centro de Veracruz y que tiene una elevada incidencia verdadera, por lo que es necesario evaluar su efecto sobre la productividad de las UPB así como las estrategias de prevención y control.

## II. INTRODUCCIÓN.

El género *Cryptosporidium* agrupa más de 20 especies de protozoarios Apicomplexa, de los cuales, 19 han sido reconocidas como válidas. De estas, 12 especies afectan a los mamíferos<sup>1</sup> y se considera a *C. parvum* el de mayor importancia debido a que afecta a más de 150 especies de mamíferos incluido el hombre.<sup>2</sup> *Cryptosporidium* spp es el agente causal de la enfermedad conocida como criptosporidiosis, que se transmite por ingestión de agua y alimentos contaminados con ooquistes.<sup>3</sup> La importancia de la criptosporidiosis en el ganado bovino es médica y económica, ya que ocasiona diarrea en los becerros neonatos y frecuentemente se asocia con rotavirus y/o coronavirus, resultando en un cuadro diarreico persistente, emaciación y muerte.<sup>4</sup> Esta enfermedad también tiene una gran importancia en salud pública debido a que es una zoonosis con alto riesgo de transmisión a las personas que manejan bovinos infectados.<sup>5, 6</sup>

En México, se ha reportado una frecuencia de *Cryptosporidium* spp del 75 % (95/126) en becerras lactantes en confinamiento.<sup>7</sup> Existen otros estudios sobre la frecuencia de *Cryptosporidium* spp en ganado bovino realizados en establos de ganado productor de leche ubicados en Aguascalientes, Coahuila, Durango, Estado de México, Guanajuato, Hidalgo, Querétaro y Zacatecas, aunque también se han encontrado casos aislados en bovinos del Distrito Federal y Veracruz.<sup>7, 8, 9, 10, 11, 12</sup>

Los estudios de la prevalencia de *Cryptosporidium* en ganado bovino en el trópico son escasos. Recientemente Cortés *et al.*<sup>13</sup> en una población de 100 becerros de carne menores de un año de edad en pastoreo en Balancán, Tabasco, reportaron una frecuencia de 67% de animales positivos.

Existen pocos reportes epidemiológicos sobre la prevalencia de unidades de producción bovina de doble propósito con animales infectados con *Cryptosporidium*.



Por ejemplo, no existen estudios donde se evalúe la incidencia verdadera de la criptosporidiosis en las Unidades de Producción Bovina tanto de la ganadería especializada como la de doble propósito.

Es importante estudiar esta enfermedad en estos sistemas de producción porque debido al manejo (ordeña diaria y amamantamiento del becerro para estimular la bajada de la leche) existe un alto nivel de exposición del personal con los animales. Además, existen problemas de diarreas en animales jóvenes que en muchas ocasiones pueden estar confundidas con otros agentes etiológicos.

## 2.1. Antecedentes

El género *Cryptosporidium* fue descubierto por Edward Ernest Tyzzer en 1910 al encontrar ooquistes de *Cryptosporidium muris* en las glándulas pépticas de un ratón (*Mus musculus*). Tyzzer describió a *Cryptosporidium parvum* como un protozooario morfológicamente diferente de *Cryptosporidium muris*.<sup>14</sup> El primer reporte de criptosporidiosis producido por *C. parvum* en ganado bovino fue realizado por Panciera *et al.*,<sup>15</sup> al encontrar al parásito en cortes histológicos del yeyuno de una becerro de 8 meses de edad con diarrea crónica. Pero la participación directa de *Cryptosporidium parvum* como principal agente enteropatógeno en diarreas clínicas en becerros neonatos se estableció hasta 1980 por Tzipori.<sup>16</sup> Posteriormente en 1981, se reportó el primer brote epidémico de criptosporidiosis en bovinos neonatos causado por un agente morfológicamente parecido a *C. muris*.<sup>17</sup> Es hasta el año 2000, cuando se crea la nueva especie, *C. andersoni* con características morfológicas y de comportamiento idénticas al *C. muris* de ratón, pero que afecta al bovino.<sup>18</sup>

La criptosporidiosis es causada por protozoarios del género *Cryptosporidium* (familia Cryptosporidiidae, orden Eucoccidiorida, subclase Coccidiasina, clase Sporozoasida, filum Apicomplexa)<sup>17</sup>. En el cuadro 1 se presentan las características principales de las 12 especies de *Cryptosporidium* que afectan a los mamíferos.

**Cuadro 1. Diferentes especies de *Cryptosporidium* en mamíferos.<sup>1</sup>**

<b>Especies</b>	<b>Dimensiones del ooquiste (μ)</b>	<b>Lugar de infección</b>	<b>Principal hospedador</b>	<b>Infeccioso para humanos</b>
<i>C. hominis</i>	4.5 x 5.5	Intestino delgado	Humanos	Si
<i>C. parvum</i>	4.5 x 5.5	Intestino delgado	Mamíferos	Si
<i>C. suis</i>	5.05 x 4.41	Intestino delgado	Cerdos	Si
<i>C. felis</i>	4.5 x 5.0	Intestino delgado	Gatos	Si
<i>C. canis</i>	4.95 x 4.71	Intestino Delgado	Perros	Si
<i>C. muris</i>	5.5 x 7.4	Estomago	Roedores	Si
<i>C. andersoni</i>	5.0-6.5 x 6.0-8.1	Estomago	Ganado	No
<i>C. wrairi</i>	4.0-5.0 x 4.8-5.6	Intestino delgado	Cobayas	No
<i>C. bovis</i>	4.7-5.3 x 4.2-4.8	Intestino delgado	Ganado vacuno	No
<i>C. fayeri</i>	4.5-5.1 x 3.8-5.0	Intestino	Canguro rojo	No
<i>C. macropodum</i>	ND*	ND*	Canguro gris	No
<i>C. ryanae</i>	2.94 x 3.68	Intestino,	Bovino	No

**ND\* = No Determinado**

## 2.2. Distribución y prevalencia de *Cryptosporidium* spp en bovinos

*Cryptosporidium* spp ha sido reportado en los 5 continentes. En un estudio realizado en 1993 por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, en 28 estados, se determinó que el 90% de los establos productores de leche tuvieron el 50% de los becerros de 1 a 3 semanas de edad infectados. Por su parte, Dubey<sup>19</sup> recopiló las siguientes prevalencias: Hungría 27%, República Federal Alemana 40%, Estados Unidos: Idaho 64%, Maryland 27% y California 21 %, Canadá 26%, Italia 40%, Holanda 55%, Dinamarca 17%, Gran Bretaña 24%, Rusia 26% y Finlandia 76%.

En México el diagnóstico de *Cryptosporidium* spp se ha realizado en bovinos de la ciudad de México y diversos estados como el Estado de México, Querétaro, Guanajuato, Hidalgo, Veracruz, Nayarit, Coahuila, Zacatecas y Chihuahua. Dependiendo del sistema de crianza se ha encontrado un rango entre 22% y 67%, donde del 93 al 95% de los establos han sido positivos en un muestreo único<sup>9, 20, 21, 22</sup> (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Prevalencia de *Cryptosporidium* en becerros en México**

<b>Estado</b>	<b>Frecuencia (%)</b>	<b>Edad</b>	<b>Referencia</b>
Aguascalientes	75	8 a 14 días de edad	Castillo <i>et al.</i> , <sup>7</sup>
	50	Vacas preparto	Vitela <i>et al.</i> , <sup>8</sup>
	55	Vacas posparto	
	80	Menores a 30 días	
	42	Becerras lactantes en verano	García <i>et al.</i> , <sup>11</sup>
	31	Becerras lactantes en primavera	
Estado de México	20	1 a 30 días	Maldonado <i>et al.</i> , <sup>22</sup>
Guerrero	3.14	2 meses	Fitz <i>et al.</i> , <sup>23</sup>
Hidalgo	28	1 a 30 días	Maldonado <i>et al.</i> , <sup>22</sup>
	59.4 ( <i>C. parvum</i> ) 21.8 ( <i>C. muris</i> )	3 a 28 días	Vázquez <sup>9</sup>
Jalisco	29	1 a 30 días	Maldonado <i>et al.</i> , <sup>22</sup>
Veracruz	72	Menores a 1 año	Castelán <i>et al.</i> , <sup>12</sup>
Tabasco	67	Destetados, menores a 12 meses	Cortés <i>et al.</i> , <sup>13</sup>

### **2.3. Ciclo biológico de *Cryptosporidium parvum***

*Cryptosporidium* spp presenta un ciclo de vida monoxeno, que implica que todos los estadios de desarrollo sexual y asexual, ocurren en el mismo hospedador. El ciclo inicia con la ingestión de ooquistes esporulados, que son los estados presentes en el ambiente y son excretados en las heces (Figura 1).

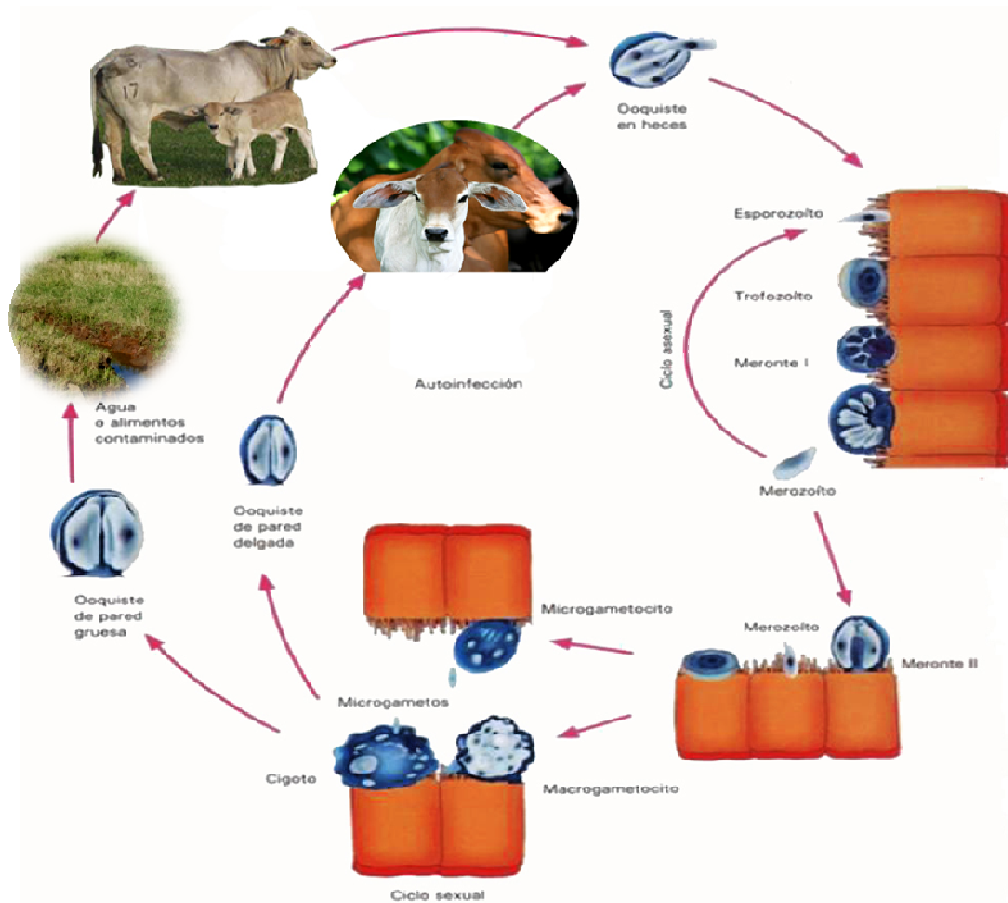
Cada ooquiste contiene cuatro esporozoítos, estados infectivos, que al quedar en libertad (exquistación) por el efecto combinado de tripsina y sales biliares invaden las células epiteliales y experimentan una multiplicación asexual (merogonía o esquizogonía). Como resultado de esta fase del ciclo, se originan merontes tipo I que contienen a su vez seis u ocho merozoítos que al ser liberado pueden reiniciar nuevos ciclos como merontes tipo I o dar origen a merontes tipo II que poseen cuatro merozoítos.<sup>10</sup>

Estos cuatro merozoítos darán inicio a la fase sexual (gametogonia) en la cual se terminará produciendo los micros y macrogametos, que luego de la fecundación formarán el cigoto, único estado diploide del ciclo.<sup>10</sup>

Posteriormente se forma la pared y ocurre esporulación de los ooquistes (formación de cuatro esporozoítos). Como los ooquistes esporulan dentro del hospedador, son eliminados en estado infeccioso y presentan gran resistencia para sobrevivir en el ambiente externo por un largo período de tiempo.<sup>24</sup>

Se estima que el 80% de los ooquistes tienen doble pared y son eliminados con las heces, constituyendo así, las formas de resistencia capaces de infectar a otros hospedadores. El 20% restante, está rodeado por una membrana y se les denomina ooquistes de paredes delgadas que tienen la capacidad de liberar los esporozoítos y originar un ciclo auto-infectivo.<sup>25</sup> La duración del ciclo biológico es de 3 a 14 días dependiendo del hospedador.<sup>26</sup>

Figura 1. Ciclo biológico de *Cryptosporidium parvum*.



## 2.4. Epidemiología de *Cryptosporidium spp*

### 2.4.1. Características de *Cryptosporidium spp*

Existen características relacionadas a los oocistos de *Cryptosporidium spp* que son de gran importancia en la epidemiología y transmisión de la enfermedad.

- Tiene una alta patogenicidad ya que se requiere de pocos oocistos viables para iniciar una infección.<sup>27</sup>
- Resistencia del oociste a la cloración, la iodación y relativamente a los ácidos entre otros tratamientos del agua.<sup>26</sup>

- Además sobrevive en el medio ambiente por largos períodos de tiempo. Los lugares frescos y húmedos favorecen su viabilidad (hay una pequeña proporción de los ooquistes que sobreviven hasta seis meses en agua estancada).<sup>26,28</sup>
- El Tamaño es muy pequeño (4-6 mm) lo cual dificulta el tratamiento de filtración en los procesos de potabilización del agua.
- Capacidad infectante al momento de alcanzar las heces, además del largo tiempo que el hospedador continúa eliminando ooquistes luego de la resolución de los signos.
- Gran potencial zoonótico de algunas especies de *Cryptosporidium*. Si bien la mayoría de los casos son por *C. hominis* y *C. parvum*, existen reportes de casos esporádicos de otras especies de *Cryptosporidium* que involucran especies que afectan a distintos animales.<sup>26, 29</sup>

#### **2.4.2. Transmisión**

*Cyptosporidium* spp se transmite por la ingestión de ooquistes excretados en las heces de los humanos o animales infectados. La transmisión tiene lugar de persona a persona, de animal a otro animal, de animal a humano y viceversa, por medio de agua, alimento y aire contaminados.<sup>29, 30</sup>

#### **2.4.3. Factores de riesgo**

Los ooquistes de *Cryptosporidium* spp pueden estar presentes en las heces de bovinos en todas las etapas de su vida; sin embargo, la edad de mayor susceptibilidad es desde el nacimiento a la primera semana de edad particularmente si no han ingerido calostro en cantidad suficiente (3 - 4 lts.) en las primeras cuatro horas de vida.

La calidad del calostro es también importante se requieren de 30 a 50 mg/ lt de IgG<sub>1</sub> para proteger adecuadamente al becerro.<sup>3</sup>

Los sitios donde se puede dar la transmisión en becerros neonatos pueden ser: a través del canal de parto, la salas de partos, las becerrerías o en la sala de crianza por contacto entre becerros, los utensilios de alimentación y la persona que maneja a los becerros.<sup>14,31</sup> Se requiere extremar las medidas higiénicas en el ambiente de los becerros para bajar el número de contagios.

En brotes epidémicos en Hidalgo se encontró que el 90% de los becerros presentaron evacuaciones diarreicas y la mortalidad fue del 10% en animales calostrados, a pesar de que las condiciones de limpieza y cuidado de los becerros fueron de buena a excelente.<sup>9</sup>

## **2.5. Signos clínicos y lesiones causadas por *Cryptosporidium spp***

La criptosporidiosis por *Cryptosporidium parvum* origina diarreas en el ganado joven no destetado. Las fases endógenas infectan a los enterocitos de la porción distal del intestino delgado, el ciego y el colon. Los mayores cambios patológicos asociados con la enfermedad son la atrofia de las vellosidades intestinales, el acortamiento de las vellosidades y la disgregación de los enterocitos, y los animales afectados se recuperan a las dos semanas de mostrar síntomas de la enfermedad.<sup>33</sup>

Los animales destetados y adultos también pueden resultar infectados. Los signos pueden variar desde una infección moderada o asintomática en animales adultos a diarreas graves en animales jóvenes. La mortalidad es baja excepto si ocurre una infección asociada con otros patógenos entéricos, tales como el rotavirus, *E. coli* o *Salmonella*. Los animales adultos pueden excretar ooquistes que pueden transmitirse a otros hospedadores susceptibles.<sup>33</sup>



Las infecciones del ganado vacuno por *Cryptosporidium parvum* pueden producir diversos grados de deshidratación, inactivación, anorexia, fiebre y deterioro del estado físico. Raramente producen la deshidratación aguda, el colapso y la elevada mortalidad que se observan con *Escherichia coli* enterotoxigénica o con el rotavirus, que pueden ocurrir en paralelo. Se pueden detectar ooquistes en hospedadores clínicamente sanos y en enfermos.<sup>33</sup>

Los terneros y los corderos con diarrea pueden excretar entre  $10^6$  y  $10^8$  ooquistes por gramo de heces. El ganado adulto infectado excreta menor cantidad de ooquistes, aunque en infecciones subclínicas pueden generar concentraciones similares de ooquistes en un periodo de 12 meses.<sup>33</sup>

*Cryptosporidium andersoni* coloniza las glándulas digestivas del rumen de terneros mayores y del ganado adulto. Los microvelli de las glándulas pépticas son destruidos por las fases endógenas, lo que puede explicar la elevada concentración de pepsinógeno detectada en el plasma de los hospedadores infectados. El ganado adulto no desarrolla diarrea, pero puede excretar ooquistes durante varios meses.<sup>32</sup>

## 2.6. Diagnóstico

Hasta el momento, en la mayoría de los estudios de prevalencia del protozooario se han utilizado métodos diagnósticos morfológicos o inmunológicos que determinan con alta especificidad el género *Cryptosporidium*. La sensibilidad de las pruebas diagnósticas varía considerablemente por lo que la prevalencia real del parásito en poblaciones bovinas puede variar dependiendo de la técnica utilizada.<sup>33, 34</sup> En general, existen pocos estudios que identifiquen la especie que afecta a los bovinos.

Hay diversas técnicas descritas para la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en muestras fecales o de tejido.<sup>33</sup>

**Coprológicas.** Este protozooario tiene la característica de ser ácido resistente por lo que las tinciones Ziehl- Neelsen modificada o Kinyoun son ampliamente utilizadas para identificar los ooquistes y esporozoítos de *Cryptosporidium* a través del microscopio óptico. La tinción de auramina-rodamina también es útil pero tiene el inconveniente que requiere un microscopio de fluorescencia.<sup>35</sup>

La detección del protozooario por medio de cortes histológicos se realiza principalmente en el íleon, aunque se pueden tomar muestras del tracto digestivo: rumen, retículo, región pilórica, duodeno, yeyuno, íleon, ciego y colon.

Los cortes deberán ser fijados en una solución de formalina amortiguada, los cuales se incluirán en parafina y serán cortados en secciones de 6  $\mu$  para ser teñidas con hematoxilina-eosina. A la tinción *Cryptosporidium parvum* se observa como una partícula ovoide (observación medial) o esférica (observación sagital), con un diámetro de 4.5 a 5.5  $\mu$ , mientras que *C. andersoni* presenta un rango entre 6.0 a 8.1 $\mu$  y 5.0 a 6.5  $\mu$  respectivamente.<sup>28</sup> Con la tinción de hematoxilina-eosina se ven basófilas, cercanas a la superficie de las células epiteliales. Los métodos coprológicos usuales como flotación y sedimentación, por separado o en combinación, pueden ser utilizados en la concentración de los ooquistes una vez que se ha diagnosticado una muestra positiva.

Esta metodología no es recomendable para diagnóstico porque se pierden cerca del 85% de los ooquistes en estos procesos.<sup>36</sup> Sin embargo, con el sistema de concentración de los ooquistes por medio de Sheathers (gradiente 1.018) se han alcanzado hasta el 92% de la recuperación de los ooquistes.<sup>14</sup>

**Inmunológicas.** Fueron desarrollados para identificar *Cryptosporidium* directamente de las muestras fecales, utilizando anticuerpos inmunofluorescentes (anticuerpos monoclonales y policlonales) para el diagnóstico y cuantificación de ooquistes, con sensibilidad que va del 83 al 95% en casos diarreicos. El sistema mejor desarrollado detecta ooquistes de *Cryptosporidium parvum* marcando la pared celular mediante anticuerpos monoclonales denominados OW50 y OW3 o la sutura del ooquiste con el OW64 marcados con FITC (isotiocianato de fluoresceína).<sup>37, 38</sup>

ELISA. Esta prueba permite la identificación de anticuerpos IgM, IgG, e IgA contra el género *Cryptosporidium* permitiendo un diagnóstico rápido a partir de las muestras fecales sin identificar la especie(s) que están involucradas en la criptosporidiosis.<sup>32</sup>

Se han desarrollado pruebas para conocer el grado de exposición de diversos grupos poblacionales a *Cryptosporidium* detectando IgG e IgM principalmente, no funciona como prueba diagnóstica cuando la infección es activa.<sup>39</sup>

**Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).** Este sistema consiste en amplificar un fragmento específico de genes específicos de DNA, proteínas de pared o proteínas de choque y enzimas como Acetil CoA, en un sistema enzimático (polimerasa) *in vitro* que multiplica millones de copias para identificar genéticamente el género *Cryptosporidium*. Este método permite procesar al protozooario directamente de las heces, de tejidos fijados en parafina, de muestras concentradas y conservadas en soluciones amortiguadoras y a partir de aguas contaminadas con ooquistes.

Se han realizado diversos tipos de diagnóstico con cortes enzimáticos y comparación de secuencias para identificar los diferentes genotipos o especies.<sup>40</sup>

## **2.7. Tratamiento**

Una vez manifiesta la criptosporidiosis el tratamiento es de mantenimiento, el becerro seguirá tomando su leche en cantidad de 10% de su peso corporal y se le ofrecerán soluciones con electrolitos y sustancias protectoras de la mucosa. Las medidas higiénicas en los utensilios de alimentación y su entorno deben incrementarse para evitar contagios con los otros becerros y los humanos que conviven con ellos.<sup>41</sup>

Se han probado más de 200 medicamentos, incluyendo antibióticos y antiparasitarios, donde sólo dos han limitado el número de ooquistes excretados sin que eliminen la infección (Paromomicina y Nitaxozanida).<sup>17</sup> También se han desarrollado anticuerpos en calostros con vacas hiperinmunizadas para auxiliar a becerros no calostrados, aunque con muy poco éxito.<sup>41</sup>

## **2.8. Prevención y control**

En establos las medidas higiénicas como limpieza de becrreras, lavado de utensilios de alimentación con agua caliente, así como la administración correcta de calostro en las primeras horas de vida contribuyen a prevenir la transmisión en becerros neonatos.<sup>39</sup>

### III. JUSTIFICACIÓN.

La mayoría de los estudios sobre criptosporidiosis bovina han sido conducidos en ganado lechero<sup>4,9,12,13,14,20,42,43,44,45</sup>, en comparación, son relativamente escasos los reportes en bovinos de carne<sup>13,15,46,47,48</sup> y la investigación es aún incipiente en los de doble propósito.<sup>49</sup>

Desde el punto de vista económico la criptosporidiosis tiene un elevado impacto en las Unidades de Producción Bovina (UPB) ya que provoca cuadros diarreicos persistentes, lo que lleva a bajas ganancias diarias de peso, llegando a ocasionar la muerte del animal. También este impacto se ve reflejado en gastos de tratamientos y en la contratación de servicios del Médico Veterinario.

Existen pocos reportes epidemiológicos sobre la prevalencia UPB de doble propósito con animales infectados con *Cryptosporidium spp.* Y no existen reportes de incidencia verdadera en UPB en el trópico mexicano, donde el diagnóstico de las parasitosis gastrointestinales está enfocado a nematodos gastrointestinales, por lo que *Cryptosporidium spp.* pudiera estar pasando inadvertido. En estos sistemas de doble propósito se presentan cuadros diarreicos en becerros que están siendo tratados como coccidiosis y colibacilosis por lo que algunos becerros no responden al tratamiento. Indicando la presencia de otro agente etiológico como pudiera ser *Cryptosporidium spp.* Debido a lo expuesto anteriormente se considero conveniente determinar la prevalencia e incidencia verdadera de *Cryptosporidium spp.* en becerros en el trópico mexicano.

#### **IV. HIPÓTESIS.**

La prevalencia de *Cryptosporidium spp* en becerros de la zona centro del estado de Veracruz se encuentra en un intervalo de 60 al 80%.

La incidencia verdadera de *Cryptosporidium spp* en becerros de la zona centro del estado de Veracruz es elevada.

## V. OBJETIVOS

### Objetivo general

- Determinar la prevalencia e Incidencia de *Cryptosporidium spp* en becerros de la zona centro del estado de Veracruz.

### Objetivos específicos

- Determinar la prevalencia de unidades de producción bovina con becerros de crianza infectadas con *Cryptosporidium spp* en la zona centro-norte de Veracruz.
- Relacionar la edad y el sexo de los becerros con la infección de *Cryptosporidium spp*.
- Determinar la incidencia verdadera de *Cryptosporidium spp* en animales de diferentes edades de dos unidades de producción bovina.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS.

### 6.1. Localización geográfica

El estudio se realizó, durante los meses de Mayo a Noviembre del 2010. Se evaluaron en total 272 animales, pertenecientes a 13 UPB ubicadas en los municipios de Tlapacoyan, Martínez de la Torre, San Rafael y Nautla en la zona centro norte del estado de Veracruz (Figura 2).

Figura 2. Mapa del estado de Veracruz.



### 6.2. Animales experimentales

La selección y muestreo de los ranchos se realizó por conveniencia. Fueron incluidos ranchos con productores cooperantes que tuvieron becerros de crianza (del nacimiento a los 9 meses de edad). La mayoría de los becerros eran cruce de cebú con razas europeas (Holstein, Suizo).



### 6.3. Colecta de muestras y análisis de laboratorio

De cada animal, se tomó una muestra de heces directamente del recto (Figura 3) con una bolsa de plástico (Figura 4) identificada con el número correspondiente al animal. Posteriormente, la muestra se colocó en un termo con refrigerantes para su transporte al laboratorio de sanidad del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) (Figura 5).

Para calcular la incidencia verdadera de *Cryptosporidium* spp se utilizaron animales de diferentes edades (del nacimiento a los 9 meses de edad) en dos UPB (“El Clarín” y La Soledad”) seleccionadas por conveniencia para realizar los muestreos a través del tiempo. Los muestreos de heces se realizaron cada 15 días durante un periodo de cinco meses (mayo a septiembre del 2010).

El diagnóstico de *Cryptosporidium* spp se realizó de acuerdo a la técnica de Kinyoun.<sup>50</sup> La lectura de las muestras se realizó por microscopia directa en un microscopio en inmersión (100X). Un animal fue diagnosticado positivo a *Cryptosporidium* spp cuando se observó al menos un ooquiste en tres frotis observados a la microscopia y este ooquiste media entre 4-6 $\mu$ . Los ooquistes fueron medidos con un micrómetro ocular<sup>51</sup> (Figura 6).



Figura 3. Toma de muestra

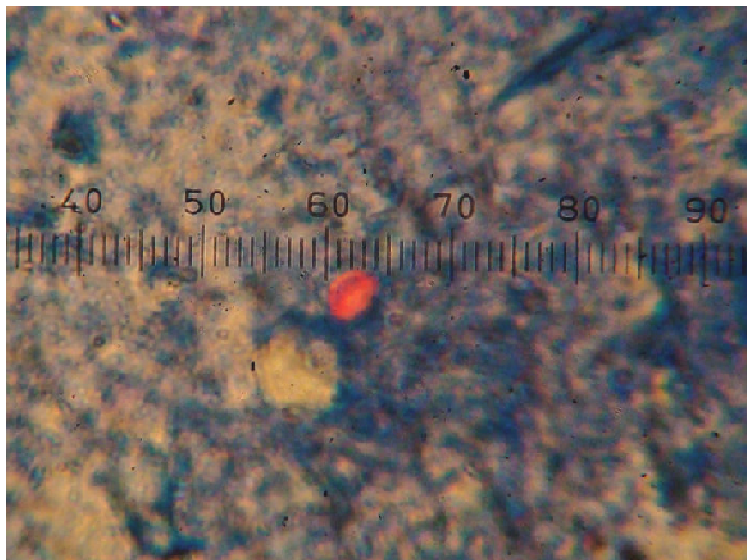
Figura 4. Muestra en una bolsa



Figura 5. Laboratorio de Sanidad Animal



Figura 6. Ooquiste de *Cryptosporidium* spp



#### 6.4. Análisis estadístico.

La prevalencia de las UPB con becerros de crianza infectados con *Cryptosporidium* spp se calculó de acuerdo a la fórmula de Thrusfield.<sup>52</sup> Además, se calculó el intervalo de confianza al 95% en cada UPB.

$$\text{Prevalencia} = \text{N}^\circ \text{ de enfermos} / \text{Total animales muestreados} \times 100$$

La asociación entre prevalencia, edad y sexo se determinó mediante pruebas de Chi cuadrada (EpiInfo, 2008).<sup>53,54,</sup>

Para determinar la incidencia verdadera de animales infectados con *Cryptosporidium* spp. en los animales de diferentes edades de dos UPB se utilizó la fórmula descrita por Thrusfield.

$$Iv = \text{N}^\circ \text{ casos nuevos} / \Sigma \text{ Tiempos a riesgo}$$

Donde:

Iv = incidencia verdadera

$\Sigma$  Tiempos a riesgo = Suma del tiempo a riesgo

## VII. RESULTADOS.

### 7.1. Distribución de animales muestreados en las UPB evaluadas

En el cuadro 3 se observa el número de Unidades de Producción Bovina evaluadas, el número de animales muestreados en cada una y la cantidad de animales positivos a *Cryptosporidium* spp.

### 7.2. Prevalencia de las UPB con *Cryptosporidium* spp.

El 100% de las 13 UPB evaluados tuvo becerros infectados con *Cryptosporidium* spp. Dentro de cada UPB, la prevalencia de becerros infectados fluctuó del 18.8% al 63% y la prevalencia global fue del 35.7% (IC 30-41.4%) (Cuadro 3).

**Cuadro 3. Prevalencia de las Unidades de Producción Bovina (UPB).**

UPB	Núm. animales examinados	Prevalencia %	Intervalo de confianza al 95%
Arambulo	30	40.0	22.5- 57.5
Cabellal	30	20.0	5.7- 34.3
Clarín*	18	55.6	32.6- 78.5
Embarcadero	20	40.0	18.5- 61.5
Esperanza	24	29.2	11.0- 47.4
HC	19	21.1	2.7- 39.4
Manterola	17	23.5	3.4-43.7
Piedra pinta	20	30.0	9.9- 50.1
Playa	16	18.8	0.0-37.9
Rancho viejo	17	29.4	7.8- 51.1
San Rafael	17	47.1	23.3- 70.8
San Valentín	27	63.0	44.7- 81.2
Soledad*	17	41.2	17.8- 64.6
<b>Global</b>	<b>272</b>	<b>35.7</b>	<b>30- 41.4</b>

\*La prevalencia corresponde al primer muestreo realizado en estas UPB.

### **7.3. Relación del sexo de los becerros sobre la infección de *Cryptosporidium* spp**

De los 272 animales evaluados 119 (43.75%) fueron hembras y 153 (56.25%) fueron de machos. La prevalencia de animales positivos a *Cryptosporidium* spp fue de 30.2% (IC 22.7-39.0) y 39.8% (IC 32.4-47.7) en hembras y machos respectivamente. No hubo efecto del sexo sobre la eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp ( $P>0.05$ ).

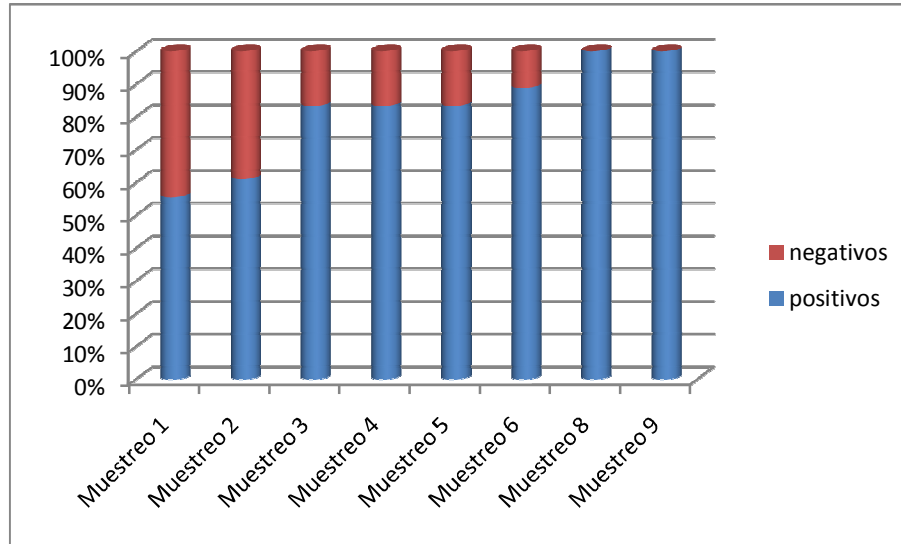
### **7.4. Relación de la edad de los becerros sobre la infección de *Cryptosporidium* spp**

En cuanto a la edad de los becerros de los 272 evaluados 140 pertenecen al grupo de 0 a 4 meses de edad, de estos el 42.86% fueron positivos a *Cryptosporidium* spp, mientras que 132 becerros pertenecen al grupo de 5 a 9 meses, de estos el 28.03% fueron positivos a *Cryptosporidium* spp. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $P=0.01$ ) entre los dos grupos de edad.

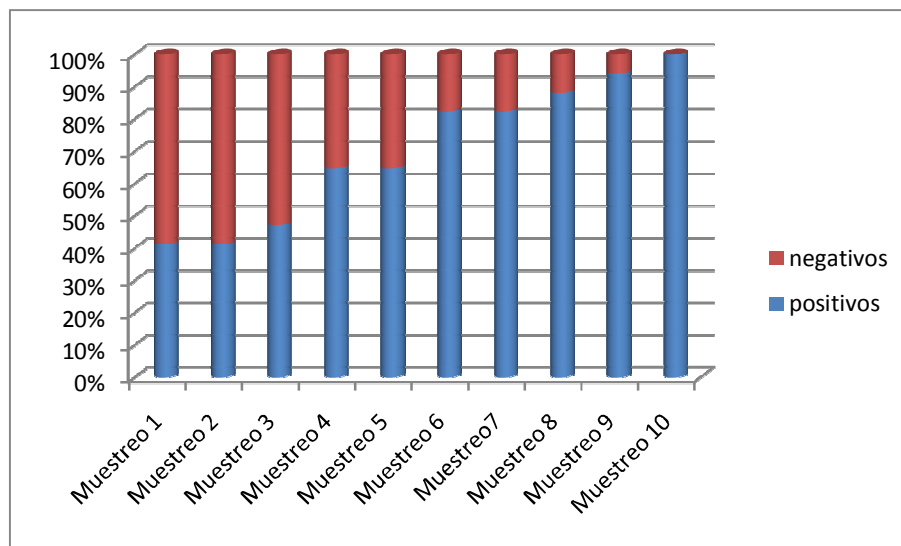
### **7.5. Incidencia Verdadera de *Cryptosporidium* spp**

El número de casos nuevos de animales infectados con *Cryptosporidium* spp fue en aumento hasta llegar al 100% en “El Clarín” y “La Soledad”. La incidencia verdadera en las UPB fue de 170 y 100 casos nuevos por cada 1000 animales a riesgo respectivamente. (Figura 7 y 8).

**Figura 7. Dinámica quincenal de becerros infectados con *Cryptosporidium* spp en “El Clarín” de junio a septiembre de 2010.**



**Figura 8. Dinámica quincenal de becerros infectados con *Cryptosporidium* spp en “La Soledad” de mayo a septiembre de 2010.**



## VIII. DISCUSIÓN.

El primer objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de *Cryptosporidium* spp en UPB ubicadas en la zona centro de Veracruz, México. Se encontró una prevalencia global ligeramente superior a la reportada por Maldonado *et al.*<sup>22</sup> en becerros de establos lecheros en la zona centro de México pero inferior a la observada por Castillo *et al.*<sup>7</sup> y García *et al.*<sup>11</sup> en establos lecheros de Aguascalientes o la observada por Vásquez<sup>3</sup> en Hidalgo. Son pocos los estudios realizados en ganado de carne o doble propósito en pastoreo. Cortes *et al.*<sup>13</sup> y Castelán *et al.*<sup>12</sup> reportaron una prevalencia superior de becerros positivos a *Cryptosporidium* spp bajo condiciones de pastoreo en Balancán, Tabasco, y en el Sur de Veracruz, respectivamente. Las diferencias en la prevalencia entre UPB pueden deberse a factores como el sistema de producción, condiciones de manejo en la crianza de becerros (manejo individual o grupal), raza, edad, hacinamiento así como las medidas higiénicas.<sup>12,20</sup> Debido a que en este estudio se encontraron diferencias importantes en la prevalencia de becerros infectados con *Cryptosporidium* spp entre UPB, se sugiere identificar y estudiar los posibles factores que pueden contribuir en estas diferencias para poder diseñar estrategias de prevención y/o control de la parasitosis.

En cuanto a la relación del sexo y de la edad de los becerros con la eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp, los resultados de este estudio fueron consistentes con los reportado por otros investigadores. Estudios previos tampoco reportaron diferencias en el sexo de los becerros con la eliminación de *Cryptosporidium* spp (Díaz *et al.*<sup>53</sup> y Castelan *et al.*<sup>12</sup> pero sí se ha observado una mayor prevalencia en los becerros jóvenes.

Los becerros menores a dos meses de edad son más susceptibles a la infección (Garber *et al.*<sup>4</sup> y Atwill *et al.*<sup>47</sup>) sin embargo, en este estudio también se observó que aún cuando la prevalencia es mayor en los becerros jóvenes (<4 meses de edad) la eliminación de ooquistes fue importante en los animales mayores a los cuatro meses de edad lo cual coincide con lo reportado por Cortés *et al.*<sup>13</sup> y Castelán *et al.*<sup>12</sup> en ganado de doble propósito en pastoreo. Desde el punto de vista epidemiológico, esta información generada bajo condiciones de pastoreo es importante porque los animales pastorean juntos hasta la edad del destete y los becerros de mayor edad pueden contribuir como portadores de la enfermedad a los becerros más susceptibles.

El segundo objetivo de este estudio fue calcular la incidencia verdadera de *Cryptosporidium* spp en becerros de dos UPB ubicadas en la misma zona. La velocidad de difusión de la eliminación de ooquistes en las UPB “El Clarín” y “La Soledad” fue de 170 y 100 casos nuevos por cada 1000 animales a riesgo, respectivamente. No se encontraron reportes sobre la incidencia verdadera de *Cryptosporidium* spp en becerros de doble propósito ni en becerros de clima templado con los cuales comparar estos resultados. Sin embargo, estos resultados demuestran que la velocidad con la que los animales de las dos UPB eliminan ooquistes es elevada y que también hubo una diferencia importante en el número de casos nuevos entre las dos UPB evaluadas. Es posible que algunos factores de manejo en la crianza de los becerros entre UPB (amamantamiento restringido vs. crianza artificial), raza (3/4 Holstein 1/4 cebú vs. 1/2 Holstein 1/2 Cebú), condiciones climáticas y sistema de pastoreo pueden influir en la dinámica de la eliminación de ooquistes. Se sugiere estudiar la influencia de estos factores posteriormente.



## **IX. CONCLUSIONES.**

La criptosporidiosis es una enfermedad prevalente en las UPB de la zona centro de Veracruz.

Este protozoo afecta de manera igual a machos y hembras y tiene preferencia por becerros menores a cuatro meses de edad. No obstante, un alto porcentaje de animales mayores eliminan ooquistes de *Cryptosporidium* spp lo cual puede tener un impacto importante sobre la epidemiología de la enfermedad en las UPB.

Existe una elevada incidencia verdadera, por lo que es necesario evaluar su efecto sobre la productividad de las UPB así como las estrategias de prevención y control.

## X. LITERATURA CITADA.

- 
- <sup>1</sup> Fayer R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. Exp. Parasitol. 2010;124:90-97.
- <sup>2</sup> Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent advances and implications for public health. Clin Microbiol Rev. 2004;17:72-97.
- <sup>3</sup> Vázquez FS. Criptosporidiosis en bovinos. En: Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. Ed. Quiroz RH, Figueroa CJA, Ibarra FV, López AME. México, DF. 2011.
- <sup>4</sup> Garber LP, Salman MD, Hurd HS, Kefee T, Shalater JL. Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. J Am Vet Med Assoc 1994; 205:86-91.
- <sup>5</sup> Chacin BL. Criptosporidiosis en humanos. Invest Clin. 1995;36:207-250.
- <sup>6</sup> Montilla NJ. Excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. en becerros de una explotación de ganadería lechera. Mundo Pecuario, 2009; N° 1, 14-36.
- <sup>7</sup> Castillo GC, Cruz VC, López RR. Sánchez GM, Cruz RR, Mendoza VI, et al. Frecuencia e identificación molecular de *Cryptosporidium* spp en becerras lactantes mantenidas en confinamiento en Aguascalientes, México. Tec. Pecu. Mex. 2009; 48: 425-434.
- <sup>8</sup> Vitela MI, Cruz. VC, Ramos PM. Criptosporidiosis en ganado Holstein en un establo lechero, riesgo para manejadores de ganado. Memorias del VIII Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria. 2009 octubre 26-28; Mérida (Yucatán) Pág. 257.
- <sup>9</sup> Vázquez FS, Ballesteros GR, Méndez DM. Presencia de *Cryptosporidium muris* en becerros neonatos de la cuenca de Tizayuca, Hidalgo. Memorias del XII Congreso de Parasitología. 1998 Zacatecas (Zacatecas).

- 
- <sup>10</sup> Fayer R, Speer CA, Dubey JP.. The general biology of *Cryptosporidium*. 1997 41pp. In R. Fayer (ed) *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- <sup>11</sup> García RMR, Cruz VC, Ramos PM. Prevalencia estacional de *Cryptosporidium* spp en becerros lactantes en un establo de la cuenca lechera del estado de Aguascalientes. Memorias del VII Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria; 2006 septiembre 28-30; Acapulco (Guerrero) México; 2006:111.
- <sup>12</sup> Castelán HOO, Romero SD, Martínez HD, Garcia VZ, Loeza LR, Muñoz MS, Ibarra PN, Aguilar DM, Montiel PT.. Prevalencia de criptosporidiosis en tres regiones ecológicas de la zona centro de Veracruz, México. Memorias de la XXIII Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria Veracruz y II del Trópico Mexicano; 2010 Noviembre 17-20; Veracruz México.
- <sup>13</sup> Cortés MYE, Figueroa CJA, Quiroz RH. Prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en becerros de Balancán, Tabasco. Memorias de la XLII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. 2006, Veracruz. 2006:47
- <sup>14</sup> Tyzzer EE. *Cryptosporidium parvum* (sp. Nov) a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch. Protistenkd* 1912;26:394-412.
- <sup>15</sup> Panciera RJ, Thomassen RW, Garner FM. Cryptosporidial infection in a calf. *Vet. Path.* 1971;172:479-484.
- <sup>16</sup> Tzipori S. Cryptosporidiosis in Animals and Humans. *FEMS Microbiological Reviews* 1983:84-96.
- <sup>17</sup> Upton SJ, Current W. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. *J. Parasitol.* 1985;71:625-629.

- 
- <sup>18</sup> Lindsay DS, Upton, SJ, Owens, DS, Morgan, UM, Mead JR, Blagburn BL *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. *J. Eukaryot Microbiol* 2000;47:33-39.
- <sup>19</sup> Dubey JP, Speer CA, Fayer R. Cryptosporidiosis of Man and Animals. CRC Press, Boca Raton, Florida. 1990; 86.
- <sup>20</sup> Vázquez-Flores, S. Cryptosporidiosis. Curso de Zoonosis Parasitarias. FMVZ, UNAM México, D.F. 2000.
- <sup>21</sup> Maldonado CS, Atwill ER, Saltijeral OJA, Herrera ALC. Prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium parvum* in Holstein-Friesian dairy calves in central México. *Prev. Vet. Med.* 1998;36:95-107.
- <sup>22</sup> González MC, Gómez, ES, Aluja AS. Criptosporidiosis en bovinos lactantes (histopatología, microscopía electrónica y de barrido). *Vet. Mex.* 1983;14:12-22.
- <sup>23</sup> Fitz SE, Rosario CR, Hernández CE, Fernández RM, García VZ. Prevalencia y factores de riesgo de *Cryptosporidium* spp. En becerros del municipio de Cuajinicuilapa, Guerrero. Memorias de la XLII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. 2006 noviembre 6 – 11; Veracruz. 2006:89.
- <sup>24</sup> Current, WL, Resse NC. A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. *J. Protozool.* 1986;33:98-108.
- <sup>25</sup> Current, WL. Cryptosporidiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1985;187:1334-1338.
- <sup>26</sup> Uga, S, Matsuo J, Kono E, Kimura K, Inoue M, Rai SK, Ono K.. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocysts shedding in calves in Japan. *Vet. Parasitol.* 2000; 94: 27 - 32.
- <sup>27</sup> Smith H, Corcoran G. New drugs and treatment for cryptosporidiosis. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2004; 17: 557- 564.

- 
- <sup>28</sup> Dillingham R, Lima A, Guerrant R. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes and Infection* 2002; 4: 1059-1066.
- <sup>29</sup> Goodgame RW. Understanding intestinal spore-forming Protozoa: *Cryptosporidia*, *Microsporidia*, *Isospora* and *Cyclospora*. *Annals of Internal Medicine* 1991; 124:429-441.
- <sup>30</sup> Fayer R., Moran U., Upton SJ. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int. J Parasitol.* 2000;30:1305-1322
- <sup>31</sup> Anderson BC. Gastric cryptosporidiosis of feeder cattle, beef cows, and dairy cows. *Bovine Pract.* 1988;23:99-101.
- <sup>32</sup> Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008. capítulo 2. 9.4. Criptosporidiosis.
- <sup>33</sup> Faubert GM, Litvinsky V. Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. *J. Parasitol.* 2000;86:495-500.
- <sup>34</sup> United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Veterinary Services (USDA:APHIS:VS). *Cryptosporidium parvum* outbreak. National Health Monitoring System, Center for Animal Health Monitoring, Fort Collins, Colorado. 1993.
- <sup>35</sup> Arrowood MJ. Diagnosis In: R. Fayer, ed. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. 2nd ed. Beltsville, MD.: CRC Press, 1997;43-64.
- <sup>36</sup> Webster JP, MacDonald DW. Parasites of wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on UK farms. *Parasitology* 1995;111:247-255.
- <sup>37</sup> Arrowood MJ, Sterling, CR. Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibody-bases methods for *Cryptosporidium* oocyst detection. *J. Clin. Microbiol.* 1989;27:1490-1495

- 
- <sup>38</sup> Anusz K, Mason, PH, Riggs, MW, Perryman, LE. Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in bovine feces and monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* 1990;28:2770-2774.
- <sup>39</sup> Lorenzo MJ, Ben B, Mendez F, Villacorta I, Ares-Mazas ME. *Cryptosporidium parvum* oocyst antigens recognized by sera from infected asymptomatic adult cattle. *Vet. Parasitol.* 1995;60:17-25.
- <sup>40</sup> Fayer R, Ungar BLP. *Cryptosporidium* spp and Cryptosporidiosis. *FEMS Microbiological Reviews* 1986:458-483.
- <sup>41</sup> Harp JA. Effects of colostrum antibody on susceptibility of calves to *Cryptosporidium parvum* infection. *Am J Vet Res* 1989;50:2117-2119.
- <sup>42</sup> Lefay D, Naciri M, Poirier P, Chermette R. Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. *Vet. Parasitol.* 2000;89:1-9.
- <sup>43</sup> Ongerth JE, Stibbs HH. Prevalence of *Cryptosporidium* infection in dairy calves in western Washington. *Am J Vet Res.* 1989;50:1069-1070.
- <sup>44</sup> Surumay Q, Alfaro C. *Cryptosporidium* spp en bovinos jóvenes de fincas lecheras de la región oriental de Venezuela (Resumen). En IV Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias. VII Congreso SOVVEC. 1999 Mayo 17-21. Maracaibo (Zulia, Venezuela) 1999: 222.
- <sup>45</sup> Valera Z, Quintero W, Villarroel R, Hernández H. *Cryptosporidium* Sp. en becerros neonatos de una finca del Municipio Rosario de Perijá, estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ* 2001; 11: 213-218.
- <sup>46</sup> Atwill ER, Johnson E, Klingborg DJ, Veserat GM, Markegard G, Jensen WA. Age, *et al.* Age geographic, and temporal distribution of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cow- calf herds. *Am. J. Vet. Res.* 1999; 60: 420-425.

- 
- <sup>47</sup> Bendali F, Bichet H, Schelcher F, Sanaa M. Pattern of diarrhoea in newborn beef calves in south West France. *Vet Res* 1999; 30: 61-74.
- <sup>48</sup> Kaminyolo JS, Adesiyun AA, Loregnard R, Kitson P. Prevalence of *Cryptosporidium* oocysts in livestock in trinidad and tobago. *Vet parasitol* 1993; 45: 209- 13.
- <sup>49</sup> Díaz de RA. *Cryptosporidiosis* en ganado bovino. En: Avances en la Ganadería de Doble Propósito. 2002 .Fundación GIRARZ. Ediciones Astro Data. S.A Maracaibo-Venezuela Cap. XII:179-190.
- <sup>50</sup> Surumay VQ, Coromoto A. *Cryptosporidium* spp. en fincas de la región Oriental de Venezuela. *Invest Clin* 2000; 41(4): 245-250.
- <sup>51</sup> Romero MRD, Pedrozo PHR, Vera E. La criptosporidiosis en los terneros recién nacidos. Su etiología, patogenia, síntomas, tratamiento y profilaxis (5° Curso Fcv) *Revista de Ciencia y Tecnología Dirección de Investigaciones – UNA* Vol. 1 N° 3, 2001: 99
- <sup>52</sup> Thrusfield M. *Veterinary Epidemiology*. Third Edition. Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford; 2005.
- <sup>53</sup> Díaz de RA, Lilido N, Ramírez I, Hernández SO, Montilla N. *Cryptosporidium* sp. en becerros neonatos de ganadería lechera y de doble propósito del estado Trujillo, Venezuela *Zootecnia Tropical* 2004; 22:125-132.
- <sup>54</sup> Lippi OE, Castro SP. Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en becerros de rebaños lecheros. *Parasitol Latinoam* 2003;58:122-127.