

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**PREVALENCIA DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* EN BECERRAS HOLSTEIN DE
9 ESTABLOS LECHEROS DE LA COMARCA LAGUNERA.**

**POR:
ROCIO SOLANO GURZA**

TESIS

**PRESENTADO COMO REQUISISTO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

JUNIO DE 2008

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

TESIS

**PREVALENCIA DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* EN BECERRAS HOLSTEIN EN
9 ESTABLOS LECHEROS DE LA COMARCA LAGUNERA.**

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE REVISIÓN

ASESOR PRINCIPAL

M.C.V. RAMON ALFREDO DELGADO GONZALEZ

**COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL DE CIENCIA
ANIMAL**

M.C. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS

**PREVALENCIA DE *CRYPTOSPORIDIUM SPP.* EN BECERRAS HOLSTEIN EN
9 ESTABLOS LECHEROS EN LA COMARCA LAGUNERA.**

TESIS ELABORADA BAJO LA SUPERVISION DEL COMITÉ PARTICULAR DE
ASESORIA Y APROBADA COMO REQUISISTO PARCIAL PARA OBTENER

EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESIDENTE

M.C.V. RAMON ALFREDO DELGADO GONZALEZ

VOCAL

DR. CARLOS LEYVA ORASMA.

VOCAL

M.V.Z. JOSE GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTINEZ.

VOCAL SUPLENTE

M.C. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO.

Agradecimientos

Gracias Dios por dejar cumplir mi sueño, a ti padre Pío, por que me escuchaste en mis oraciones, y no me has negado nada, y por tu intersección llegue a la meta esperada. Gracias.

Principalmente a mi padre Edmundo Solano †, que gracias a el me dio una formación excelente y fue el quien me impulso a sacar las fuerzas desde el corazón para tenerle fe a mi carrera, gracias papa por que se que desde el cielo me estas apoyando con todo tu corazón y que pides cada día por mi. muchas gracias por esos consejos que me diste para que me formara como profesionista, gracias por que aunque no estuviste presente, siempre lo hiciste en mi corazón y pensamiento y por que cada día eras un motivo mas para salir adelante. Todo este esfuerzo te lo dedico, y espero que desde allá estés orgulloso de mi. Y sobre todo gracias por darme la familia que tengo. Te amo y te extraño papa, gracias.

A ti madre, que fuiste mi pilar toda mi carrera, por que me diste los ánimos cuando mas los nesecitaba, cuando aquella vez que ya me iba a salir de la carrera que me impulsaste para que siguiera y que no me diera por vencida, que me diste las alas para volar y cumplir el sueño que hasta hoy e cumplido. Gracias por esa amiga quien compartía conmigo mi felicidad y mis aventuras, por eso te doy las gracias mamá, por ser ese puente que siempre estuvo bien puesto para mi, por todo el apoyo, el

cariño y el amor que recibí en toda mi carrera y todo lo que e
logrado es gracias a ti te amo mamá.

A ti hermanita linda CP. Guadalupe Solano, gracias mana por
que estuviste conmigo en todas aquellas aventuras ganaderas que
teníamos yo como estudiante, gracias por ayudarme en unas
cosillas no tantas eh.. gracias por presumirme cuando recién
entre a la carrera , recuerdo que presumías a tu hermana que era
veterinaria, jaja que sin embargo me describías que yo las podía
de toas a todas cuando apenas empezaba la carrera pero que me
hacías sentir Juan camaney, jaja muchas gracias por el apoyo
tanto sentimental como otras cosas gracias por ser una de las
impulsadoras en mi vida de profesionista, gracias por compartir
momentos de estrés en la casa cuando tenia que estudiar mucho
para los exámenes, sobre todo por aguantarme el genio que me
cargaba por tanta presión jaja y anda ... por echarme las porras
sobretudo cuando te salías a la calle los fines de semana y me
dejabas en la computadora estudiando y que me moría de coraje por
que tenia que estudiar pero a la vez quería salir y sin embargo
tu te salías aaaa pero eso si me dejabas el apoyo moral jajaj
muchas gracias por haber formado parte de mis sueños. Muchas
gracias mana.

Gracias a ti abuelito Alfredo Gurza, alias el (Don
Alfredo), por que en cada momento de mi carrera estuviste conmigo
apoyándome y dándome consejos de el rancho, gracias por estar al
pendiente de mi en todo mi transcurso de estudiante, por darme el

apoyo de un papa a su hija, por contarme historias de cuando estabas en el rancho de cómo curaban a los animales.. y por enseñarme a no ser tan vergonzosa en cuestiones de trabajo, y por enseñarme entre muchas cosas mas. Gracias mi nino Dios te Bendiga siempre.

A ti abuelita Martha Torre, por estar presente en tus oraciones cotidianas que vaya que me sirvieron mucho, y por tomarme en cuenta en mi transcurso de carrera y sobre todo de tenerme la confianza de llamarme cuando se presentaba algo malo en casa respecto a la laika, gracias por apoyarme en esos momentos y sobre todo cuando iba a las curaciones de la laika jaja. Muchas gracias por eso y por mas gracias nini.

Gracias mana mayor Martha, principalmente por darme el sobrino que tengo en esos años de mi carrera, gracias por todo que aunque a veces que venias me quitabas tiempo ya que tenia que estudiar verdad pero sin embargo me quedaba contigo y con el benjí jaja muchas gracias mana por los obsequios de caballos que siempre me diste muchas gracias por todo aaa gracias por el articulo que me tradujiste cuando empezaba mi tesis que nada mas fue uno pero me quisiste ayudar gracias por eso. y esperemos que me recomiendes por allá jaja no te creas muchas gracias.

A ti enano por la paciencia que me tuviste toda mi carrera por el apoyo que aunque eres alérgico te aguantabas y hasta a veces te metías a los caballos para ver si eras inmune y la

verdad no eras de ahí y te pusiste malo por querer darme un gusto mínimo ya nos dimos cuenta que pa ganadero ya no eres compita jaja pero sin embargo me ayudaste cuando empecé mi tesis prestándome tu computadora jaja muchas gracias mi amor por ser la persona que eres conmigo y apoyarme en todo momento y aguantarme todos aquellos olores extraños para ti cuando recién llegaba de la escuela, practicas o del establo. Y por esos alientos raros que me cargaba cuando llegaba dizque de practicas. Gracias por ser quien eres conmigo te quiero mucho.

Pues nada mas ni nada menos que a mi asesor Ramón, que me ayudo bastante en mi tesis aa pero sobre todo gracias por los jalones de orejas que a veces eran recompensados con las bendiciones que nos daba que eso se significaba que teníamos trabajo hasta para escupir, muchas gracias por todo ese apoyo que me brindo..

Al M.V.Z. J. Guadalupe por ser mas que mi maestro un amigo y se podría decir que confidente, que en los momentos de tristeza en los exámenes finales me jalaba bien las orejas para que reaccionara y supiera en donde estaba parada. Gracias Lupe por ser mi apoyo en la escuela y por esas regañadas que por cierto si estaban duras pero que ahora esas cosechas dieron resultados y sobre todo por el positivismo en los últimos días de carrera jajaj muchas gracias.

Al Dr. Leyva por su enseñanza muy buena por cierto y sobretodo por impulsarnos a ir al establo y ahí aprender cosas mas nuevas, que lastima que lo tuvimos como maestro en el último semestre pero como quiera lo incluyo en mis agradecimientos por que se porto muy bien conmigo y tuvo muchas atenciones muchas gracias Dr. Se le recordara.

Y a mis demás profesores que también me encariñe mucho con ellos y les llegue a tener un gran cariño.

No podrían faltar mis amiguis del alma a la maris que aunque ya con las diferencias pasadas fue la que me acompaño en casi todo mi recorrido de carrera y que fue mi compañera de relajo por decirlo así. Y por el apoyo recibido. A mis amiguis de parranda y comprensión jajaj el wolberin por sus mensadas y risas que cuando llegaba yo bien aguitada me alimentaba con esas risas y esas mensadas que decía. A la ale por el apoyo y la convivencia que pase con ella que ya lamentablemente nos empezamos hallar un poco mas ya a un paso de salir pero sin embargo alcanzamos jajaj gracias ale por todo el apoyo, al Daniel que aunque con su genio no lo puedo negar me hecho la mano muchas veces cuando me trababa en la mayoría de los casos jaja por la paciencia y por aguantarse las ganas de ahorcarme cuando no entendía las cosas. Al bobadilla por demostrar se r amigo y estar en las buenas con todos y por el apoyo que me brindo siempre gracias amiguis la verdad los voy a extrañar mas de lo que se imaginan los quiero mucho.

Y todos mis amiguis del salón.. que los quiero mucho.. y que disfrutamos dentro y fuera del salón.

Dedicatorias

Esta tesis es dedicada principalmente a mi padre CPT. Edmundo Solano, que fue quien me impulso al comenzar la carrera.

A mi madre Guadalupe Gurza, que estuvo conmigo en todo momento apoyándome en las buenas y en las malas.

A mis hermanas Martha y Lupita que aunque una no estuvo me apoyo en lo que se pudo. Y a la otra que convivió conmigo todos los días.

A mi abuelo Alfredo Gurza, que como ganadero que era me dio tips de cómo hacerle en unas cosas. Y a mi abuelita Martha Torre que me felicitaba a cada rato por mis esfuerzos y que siempre rezaba por mi.

A mi tío Alfredo Gurza que fue el ejemplo de mi familia por todo el apoyo que me dio desde lejos, en todo el transcurso de mi carrera. Gracias tío y gracias a ustedes mis primos socarrones.

A mi sobrino Benjamín Rafael, que lo quiero mucho.

INDICE

	Paginas
AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	2
III. ANTECEDENTES	3
3.1. Historia	3
3.2. Agente etiológico	4
3.2.1 Taxonomía	4
3.3. Morfología	7
3.4. Ciclo biológico	8
3.5. Epidemiología	9
3.5.1 Reservorios y vías de transmisión	9
3.6. Transmisión y patogenia	11
3.7. Signos y Lesiones	11
3.7.1 Signos clínicos en humano	13
3.8. Diagnóstico	14
3.9. Control y tratamiento	16
3.9.1 Prevención y tratamiento en humanos	17
IV. JUSTIFICACIÓN	18
V. MATERIAL Y METODOS	19
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
VII. CONCLUSIONES	23
VIII. LITERATURA CITADA	24

Figura 1.- Aspecto y características morfométricas de ooquistes de Cryptosporidium spp. Aislados de becerros.	7
Figura 2.- Prevalência de Cryptosporidium spp. em becerros Holstein de la Comarca Lagunera.	22
Figura 3.- Edades de infección de Criptosporidiosis en becerras con diarrea de la Comarca Lagunera.	23

RESUMEN

La criptosporidiosis es una enfermedad altamente contagiosa que afecta a las becerras recién nacidas en los hatos lecheros, causando grandes pérdidas económicas.

Estudios previos realizados en la Comarca Lagunera indican que la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* es alta en hatos de vacas lecheras.

De 9 establos ubicados en la Comarca Lagunera en época de invierno. para tal fin se recolectaron 90 muestras de heces de terneras de 1 a 60 días de edad. Las muestras fueron tomadas del recto de los animales con signos clínicos de diarrea, se transportaron para su análisis en la unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Las muestras recolectadas fueron teñidas con el método de Ziehl Neelsen modificado, fueron observadas al microscopio, verificando la presencia de eliminación de los ooquistes.

Los resultados, obtenidos muestran 48/90 (53.3%) heces positivas a la eliminación de ooquistes con un rango de 20 a 100%. los 9 (100%) establos resultaron positivos a criptosporidiosis, concluyendo que la prevalencia es alta en la Comarca Lagunera.

I.- INTRODUCCIÓN

La infección por *Cryptosporidium parvum*, (*C. parvum*), patógeno que coloniza el epitelio del intestino de humanos, bovinos y otros animales, resulta a menudo en enteritis aguda y enfermedad diarreica (Casemore y Fayer *et al.*, 1997). Este organismo es de interés en salud pública debido a su carácter zoonótico y ha sido identificado con frecuencia en bovinos, particularmente en los becerros (Becher *et al.*, 2004) en los cuales constituye uno de los principales agentes etiológicos de la diarrea neonatal (De la Fuente *et al.*, 1999; Moore y Zeman, 1991; Naciri, 1999; Uga *et al.*, 2000). *C. parvum* es un organismo ubicuo y ha sido reportado desde muchas regiones geográficas del mundo. En estudios conducidos en hatos lecheros donde se evaluaron factores asociados con el riesgo de infección, se ha señalado que los primeros 30 días de vida de los animales corresponden con el período máximo de infección con *C. parvum* (Castro-Hermida, 2002; Becher *et al.*, 2004), la cual se incrementa en condiciones de hacinamiento y cuando las medidas de higiene y ciertas prácticas de manejo son deficientes (Atwill *et al.*, 1999; Mohammed *et al.*, 1999). De esa forma, los becerros menores de un mes constituyen la población más vulnerable y cualquier esfuerzo diseñado para controlar la infección por *C. parvum* debe ser dirigido principalmente a este grupo de edad, en donde el parásito puede impactar adversamente sobre la salud de los animales, particularmente como agente causal de diarrea, ya sea sólo o en combinación con otros enteropatógenos (Xiao y Herd, 1994; Olson *et al.*, 2004; O'Handley *et al.*, 1999). Las pérdidas económicas asociadas con esta enfermedad no solo se

deben al resultado de la mortalidad, sino también al retraso de crecimiento de los animales que se recuperan, costo de medicamentos, asistencias veterinarias, y el incremento del trabajo involucrado (De Graaf, 1999; Quilez *et al.*, 2003). En becerras los factores de riesgo para la infección son el agua y alimentos, aunque también se menciona la eliminación de los ooquistes, por los animales adultos (Díaz de Ramírez *et al.*, 2002). En la Comarca Lagunera dentro de los estudios realizados previamente para la detección de *C. parvum* en becerras de entre 1 a 60 días de edad, con la técnica Ziehl Neelsen modificada, se evidenciaron la presencia de los parásitos, sin embargo, es importante también encontrar alguna diferencia en los diferentes meses de frío. Debido a estos antecedentes la finalidad de la presente investigación es observar la prevalencia de la Criptosporidiosis en meses fríos.

II.- OBJETIVOS

Objetivo general

Investigar la prevalencia de *Cryptosporidium spp.* involucrado en el síndrome diarreico de las terneras en 9 hatos lecheros de bovinos Holstein de la Comarca Lagunera, muestreados en los meses fríos.

Objetivos específicos

Se utilizó la tinción de Ziehl Neelsen modificada para identificar ooquistes de *Cryptosporidium spp* en heces de becerras lactantes con diarrea.

Medir la intensidad de excreción de ooquistes de *Cryptosporidium parvum spp* y clasificarlas de acuerdo a la severidades becerras diarreicas.

III. ANTECEDENTES

3.1. Historia

Se han observado brotes de Criptosporidiosis como consecuencia de la resistencia de ooquistes a desinfectantes comúnmente usados en el tratamiento de agua potable durante los últimos 12 años. Los 19 brotes documentados en áreas sin relaciones geográficas ocurrieron en los Estados Unidos, Canadá, el Reino Unido, y Japón, afectando a aproximadamente 427,000 individuos (Liu *et al.*, 1999).

En 1976, Reportaron los primeros casos de Criptosporidiosis humana (Nime *et al.*, 1976). En 1981, *C. parvum* fue detectado en una cabra, pero desde esa fecha, pocos documentos se habían preocupado por la criptosporidiosis (Morgan *et al.*, 2000). En 1982, fue implicado como uno de los más importantes agentes oportunistas en pacientes con SIDA (Prescott 2000). En 1985, concluyeron que sólo dos especies afectaban a mamíferos: *C. parvum*, de ooquistes pequeños en seres humanos y terneros y *C. muris*, con ooquistes más grandes en ratones (Current *et al.*, 1991). En 1990, se describió por primera vez este parásito en las criptas gástricas de ratones asintomáticos de laboratorio (Fayer R., 2004).

3.2. AGENTE ETIOLÓGICO

3.2.1. Taxonomía

Las infecciones por *C. parvum* y *C. muris*, han sido reportadas en mamíferos, teniendo en cuenta las características morfológicas del ooquiste, *C. muris* es la especie hallada en todos los casos de Criptosporidiosis humana adecuadamente documentados. Las infecciones por *C. baileyi*, y *C. melagridis* han sido encontradas en aves. Sin embargo, fue reportado el hallazgo de *C. baileyi* en un paciente infectado con SIDA. Las infecciones por otras 17 especies han sido descritas aunque no suficientemente documentadas, en mamíferos, aves, peces y reptiles. La mayoría de los casos de Criptosporidiosis documentados durante las últimas dos décadas han sido a pacientes con SIDA. Este hecho conduce a considerar a los Criptosporidios como parásitos oportunistas con independencia de que esta parasitosis es más frecuente y de consecuencias más graves en individuos con algún daño en su sistema inmunológico, la realidad es que la Criptosporidiosis es causa de diarreas tanto en inmunocompetentes como en inmunodeprimidos (Flynn 1996).

El género *Cryptosporidium* está incluido en la siguiente taxonomía:

Phylum Apicomplexa,

Clase Sporozoa,

Subclase Coccidia,

Orden Eucoccidiida,

Suborden Eimeina,

Familia Cryptosporidiidae.

La clasificación taxonómica de ooquistes de *Cryptosporidium* se basa en la morfología, la especificidad del hospedador, y la localización anatómica de la infección. más recientemente, además de la caracterización genético-molecular así como los criterios tradicionales (Cordero *et al.*, 1999; Jellis *et al.*, 2004).

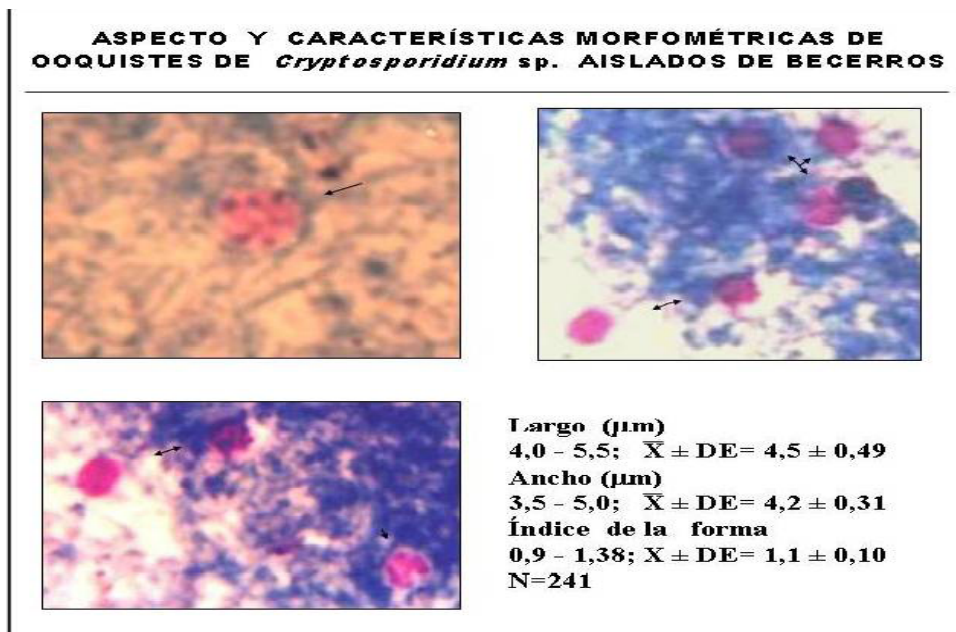
Doce especies de *Cryptosporidium* se consideran válidas y potencialmente puede ser encontradas en el medio ambiente: *C. hominis* predominantemente en los seres humanos, *C. parvum* en los seres humanos y otros mamíferos, *C. andersoni* en el ganado bovino, *C. muris* en ratones *C. Felis* en gatos, *C. wrairi* en cobayos, *C. meleagridis* en pavos, *C. baileyi* en pollos, *C. saurophilum* de los lagartos, *C. serpentis* en serpientes, y *C. nesorum* y *C. molnari* en los peces (Tzipori *et al.*, 1998; Nichols Campbell 2003) en base a la taxonomía controversial de *Cryptosporidium*, se consideró que todas las especies de este género son potencialmente patógenas para el hombre (Sturbaum *et al.*, 2001; Tzipori *et al.*, 1998).

De ser cierta esta hipótesis, la biología, virulencia, transmisión, significación nosológica, prevención y epidemiología en general, de las diferentes especies y de las razas o genotipos de *C. parvum*, están lejos de conocerse con exactitud por lo menos, es lógico pensar que los pacientes inmunosuprimidos, especialmente aquéllos con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), podrían ser susceptibles a infecciones oportunistas con una amplia variedad de especies y genotipos (Tzipori *et al.*, 1998). Hasta hace poco se consideraba que sólo los genotipos bovinos y humanos de *C. parvum* infectaban al hombre. Sin embargo, recientemente se

han descrito infecciones sintomáticas con *C. felis*, *C. meleagridis* y el genotipo parecido a *C. parvum* aislado de perros, en pacientes con SIDA (Pieniazek *et al.*, 1999; Morgan *et al.*, 2000) y en niños inmunocompetentes (Xiao *et al.*, 2001). Estos hallazgos sugieren que los parásitos zoonóticos podrían jugar un papel importante. En individuos inmunocompetentes se han encontrado los genotipos humanos y bovinos de *C. parvum* en diversas áreas, tales como, América del Norte y del Sur, Europa, Australia y Kenia (Mc Lauchlin *et al.*, 1999; Xiao *et al.*, 2000). Existen evidencias de que la distribución de estos genotipos en los humanos varía de acuerdo al área geográfica. En condiciones endémicas, el 62% de las infecciones humanas en el Reino Unido son causados por el genotipo bovino (Mc Lauchlin *et al.*, 1999). Mientras que en Australia, Kenia, Guatemala y Perú, es notorio el predominio del genotipo humano, el cual es responsable del 85 a 92% de las infecciones (Xiao *et al.*, 2000). En condiciones epidémicas, este genotipo ha predominado, siendo el agente etiológico del 75% de 20 epidemias estudiadas en países industrializados (Xiao *et al.*, 2000). En Venezuela, no se conoce cual de los dos genotipos de *C. parvum* es más frecuente en humanos. Un estudio regional sugiere que la transmisión antropozoonótica es la dominante en una comunidad del Estado Zulia (Chacin-Bonilla 1995), lo cual estaría a favor del predominio del genotipo humano. Sin embargo, no se puede descartar que una proporción de la población adquiriera infecciones secundarias de individuos que albergaran el genotipo bovino.

3.3. Morfología

La forma diagnóstica en material fecal, de *Cryptosporidium* corresponde a la forma de ooquiste, que aparece como una estructura esférica o ligeramente ovoidal que mide de 4 a 6 μm de diámetro. Cuando se observa en microscopia de contraste de fases se ve que posee una doble pared y una estructura interna formada de 4 esporozoitos vermiformes y cuerpos residuales que no son claramente visibles. Pueden observarse varios tipos de ooquistes: ooquistes no esporulados y los ooquistes esporulados, en los cuales en muchos casos es posible observar los esporozoitos como líneas transversales claras y el cuerpo residual como una mancha oscura excéntrica cuando están teñidos con Ziehl-Neelsen modificado (Tay 1993).



3.4. Ciclo Biológico

El ciclo inicia después de la ingestión de ooquistes esporulados por el hospedero. Estos constituyen los únicos estadios exógenos y son excretados en las heces, aunque también pueden ser excretados por la secreción respiratoria o nasal, ya que se han encontrado en el esputo en pacientes con SIDA (Fayer *et al.*, 1997).

Los ooquistes de *Cryptosporidium spp.*, son similares a las otras coccidias, tienen una capa interna y otra externa que se abren y los esporozoitos salen del ooquistes. Una vez liberados los esporozoitos alcanzan el borde luminal de los enterocitos mediante movimientos de contracción, extensión y deslizamiento. Ahí se invaginan siendo englobados por la membrana de la célula hospedadora, que encapsula al parásito en el interior de la vacuola parasitófora localizado en la superficie de la célula (Holland .1990; Butler Y Mayfield 1996), y se desarrolla a estadio de trofozoito (Current *et al.*, 1991).

El núcleo de cada trofozoito maduro sufre una división asexual, es decir pasa a merogonia que resulta en el desarrollo de merontes tipo I y tipo II (Butler y Mayfield 1996; De Graaf 1999). El tipo I es el primero en aparecer en el ciclo biológico y tiene 8 merozoitos, y el tipo II cuenta con 4 merozoitos. los de tipo I pueden generar nuevas merogonias de primera generación o generar merozoitos de tipo II, de estos se desarrollan los macro y microgametos, la mayoría de los merozoitos tipo II que entran en las células hospedadoras forman microgametos, y solo unos cuantos forman microgametos en su interior: se cree que la temperatura corporal de los mamíferos, las sales biliares y posiblemente

la tripsina son los factores que mas influyen en esta fase. Los microgametos no tienen flagelo y se une a los microgametos gracias al flujo intestinal. Esto lleva a que los microgametocitos produzcan la formación de la pared de los ooquistes que genera su resistencia al medio ambiente y así logran transmitirse de un hospedador a otro. En el ooquiste se formaran esporozoitos infectivos dentro de su pared. Los ooquistes son arrojados por las heces (Current *et al.*, 1999).

3.5. Epidemiología

Además de constituir un agente etiológico importante en la diarrea neonatal de los becerros, *C. parvum* presenta gran interés en salud publica, debido a su potencial zoonótico. Por tal motivo el diseño de planes estratégicos para controlar la persistencia de la infección en una población susceptible depende principalmente del conocimiento de los factores que conducen a su introducción, transmisión y diseminación.

3.5.1. Reservorios y vías de transmisión

Se considera que las fuentes potenciales de infección pueden ser muy diversas, teniendo en cuenta que *C. parvum* es capaz de desarrollarse en numerosas especies de mamíferos, las cuales eliminan ooquistes que pueden ser infectivos para todas ellas. Por otra parte, estos estadíos de resistencia del parásito pueden estar presentes en ríos, arroyos, embalses, en aguas residuales tratadas o no, así como en agua potable. Un ambiente donde confluyen un gran número de estadios infectivos y una gran cantidad de animales susceptibles,

predispone a la infección. Los animales de la explotación pecuaria suelen ser importantes fuentes para la contaminación ambiental. Ovinos, caprinos, equinos, porcinos y otras especies de importancia económica, son susceptibles a la infección por *C. parvum* y eliminan ooquistes esporulados. Sin embargo, los ovinos representarían en mayor riesgo, debido a su número, amplia distribución, alta incidencia y niveles de infección. Al respecto, se ha señalado que los becerros infectados, la excreción de ooquistes de *C. parvum* dura entre 1 a 13 días, con una media de 7 días considerando de este periodo y la cantidad de heces producidas diariamente, se calcula que en un becerro infectado puede eliminar alrededor de 6×10^8 ooquistes durante su primer mes de vida (Uga *et al.*, 2000). Estos valores pueden ser superados en los cuadros de diarrea, siendo indudable, que los animales diarreicos desempeñan un papel importante en la diseminación de parásito y la transmisión directa de becerro a becerro. Tampoco se debe desestimar el rol que puede cumplir los bovinos adultos o los becerros asintomáticos como fuente de infección; así mismo, los animales silvestres y transportadores mecánicos como fomites, insectos, aves y humanos pueden actuar en la diseminación del parásito. Esto contribuye el hecho de que los ooquistes pueden permanecer viables en el suelo o en el agua durante semanas o meses, dependiendo de las condiciones ambientales, son resistentes a la mayoría de los desinfectantes, incluyendo el cloro en las concentraciones usadas en la purificación del agua (Fayer 1989).

3.6. Transmisión y Patogenia.

3.7. Signos y lesiones

Las infecciones son primeramente observadas en animales jóvenes (Díaz de Ramírez *et al.*, 2004). En neonatos de 4 a 30 días de edad, con una morbilidad alta del 10 al 85%. (Ortolani *et al.*, 2003) y animales con sistema inmune comprometido, mientras que los animales adultos sanos contagiados pueden ser asintomáticos o desarrollar solo signos clínicos ligeros, en bovinos adultos aparentemente no causa enfermedad manifiesta, pero la producción de leche se ha visto significativamente reducida en las vacas afectadas (Díaz de Ramírez *et al.*, 2004).

La enfermedad se caracteriza clínicamente por diarrea profusa y acuosa, a veces con secreciones mucoides teñidas con sangre, deshidratación, emaciación, anorexia, debilidad, letargia o tenesmo. La enfermedad es mas severa y letal cuando se complica con otros enteropatógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, Rotavirus o Coronavirus en hospedadores Inmunodeprimidos (Aíslan *et al.*, 2001). *Cryptosporidium* han sido identificado como el segundo agente infeccioso más común de diarrea en becerros (Fayer *et al.*, 1986). No existen signos patognomónicos que diferencien a la Criptosporidiosis de procesos causados de otros enteropatógenos. El principal signo clínico es la diarrea profusa, asociada a la excreción de un gran número de ooquistes en las heces (Ortega –Mora 2002). Acompañando a la diarrea y dependiendo de diversos factores como los son la edad, el estado inmunitario y las condiciones ambientales, que si son adversas y el manejo en la explotación

no es buena, se puede producir brotes con elevada mortalidad Ortega-Mora 2002. Las heces suelen ser de un color amarillento y su consistencia varia de pastosa a liquida, con un olor fétido. Generalmente, estos síntomas se prolongan durante 3-5 días en los casos mas leves y durante 1-2 semanas en los más graves. Para posteriormente, resolverse espontáneamente, pudiendo pasar desapercibida en animales de más de 30 días de edad. en la resolución de la infección juega un papel decisivo la inmunidad especifica adquirida por el neonato, de forma pasiva a través del calostro de su madre, y de forma activa por el desarrollo del sistema inmune además de que si se producen infecciones concurrentes con otros enteropatógenos o con deficiencias en el manejo del hato (Riggs *et al.*, 2000). Como se ha señalado además de la diarrea, la inapetencia es también un signo característico de la edad. La menor ingestión de leche es muy marcada al inicio del proceso, incluso los animales peden llegar al rechazo total del alimento, lo que unido a la reducción en el aprovechamiento de nutrientes por parte de un intestino lesionado, hace que el animal pierda peso. La mala absorción y la digestión deteriorada pueden resultar un sobre crecimiento de la microflora intestinal, un cambio en la presión osmótica a través de la pared del intestino y en el flujo de fluido dentro del lumen del intestino (Current *et al.*, 1991). La infección en el epitelio intestinal puede producir vellosidades romas, hiperplasia de la cripta, destrucción del citoesqueleto y disminución de la absorción de sodio (McCole *et al.*, 2000). Con frecuencia el abomaso contiene leche coagulada sin digerir, el intestino delgado presenta enteritis congestiva con mucosa hiperémicas más no hemorrágicas. El contenido

intestinal en ocasiones es amarillento y acuoso, puede haber acumulo de gas en el ciego y colon sodio (McCole *et al.*, 2000). Las lesiones histológicas incluyen criptas, disminución de la altura de la mucosa, atrofia y fusión de las vellosidades. Bioquímicamente, las actividades enzimáticas de la mucosa disminuyen. la pérdida de las vellosidades, disminuye la actividad enzimática de la mucosa y reduce el área de superficie de la absorción comprometiendo la digestión intestinal y absorción de los nutrientes de la dieta. Ocurren problemas de la digestión y mala absorción de nutrientes en vacas jóvenes infectadas con *Cryptosporidium spp.* La acumulación y fermentación producen diarrea (Holland 1990).

La transmisión ocurre vía ingestión de los ooquistes infecciosos, eliminados en las heces de un hospedador infectado (Power *et al.*, 2005) a través de la ruta oro-fecal, pero la infección puede resultar mediante la ingestión de agua subterránea contaminada o alimento contaminado o por contacto por fomites.

Los humanos pueden adquirir las infecciones de *Cryptosporidium* por varias rutas de transmisión directa (Xiao L, Morgan U. 2000) de persona a persona o gente que trabaja con animales, o por contacto con objetos contaminados, aunque la relativa importancia de éstas rutas no es conocida (Butler y Mayfield 1996; Boak Packman 2001; Roy 2004).

3.7.1 Signos clínicos en los humanos

Este organismo puede causar diarrea persistente de 1 a 3 semanas (Kuhn *et al.*, 2002) en los individuos inmunocompetentes se manifiesta con un cuadro de diarrea aguda generalmente autolimitante, siendo los niños de edades entre 1 y 5 años los principalmente afectados. Los síntomas son mucho mas graves en enfermos inmunocomprometidos, en los que se originan un cuadro de diarrea incoercible, fiebre, pérdida de apetito, pérdida de peso que puede persistir por varias semanas y ser mortal por numerosas ocasiones (Griffiths *et al.*, 1998). Los más afectados son los pacientes con SIDA, debido al déficit inmunitario que produce la destrucción de linfocitos CD4⁺. Por otra parte aunque el intestino es la localización mas frecuente en pacientes con SIDA se han descrito localizaciones extraintestinales del parasito, especialmente en tracto respiratorio, páncreas y conductos biliares. (Hunter *et al.*, 2002). La forma respiratoria se manifiesta fundamentalmente con tos persistente y disnea, mientras que el tracto biliar, frecuentemente en los pacientes con Criptosporidiosis crónica, pueden ocasionar síntomas de colangitis esclerosante, dolor en el cuadrante superior derecho del abdomen, náuseas y vómitos. (Chen, 2002). Cabe destacar que la introducción de la “terapia antiretroviral altamente activa” en el tratamiento de la infección por el VIH ah supuesto un descenso significativo en la morbilidad y mortalidad producida por las infecciones oportunistas, entre ellas la Criptosporidiosis (Lemoing *et al.*,1998).

3.8. Diagnóstico

Se efectúa con técnicas directas o métodos inmunológicos. Los más usados se basan en la recolección de las deposiciones con o sin fijadores; métodos de concentración (Sheather) y de tinción con fucsina básica (Ziehl-Neelsen modificado) o safranina (García *et al.*, 1983; Marshall 1997) se pueden utilizar métodos de concentración, que permitan examinar una mayor cantidad de heces, como las técnicas de flotación con diferentes soluciones (sulfato de cinc, sulfato magnesio, cloruro sódico) (Ignatius *et al.*, 1997). Se han evaluado diversos métodos de concentración, para la determinar el porcentaje de recuperación de ooquistes de *C. parvum*, en muestras de heces de becerros, el método mas adecuado es el de flotación con cloruro de sodio para la detección de rutina y cuantificación de ooquistes (Ignatius *et al.*, 1997). en este caso se recomienda el empleo de microscopio de contraste de fases para identificar el parásito en observación directa o realizar tinciones diferenciales: en este último grupo cabe citar las tinciones basadas en las propiedades acido-resistentes de los ooquistes como la de Ziehl Neelsen modificada y sus variantes, estos procedimientos que ofrecen buenos resultados para la detección microscópica de ooquistes y diferenciando los ooquistes de las levaduras, que tienen forma y tamaño similar; los ooquistes se tiñen de rojo por ser ácido-alcohol resistentes, mientras que las levaduras no toman este color (Ignatius *et al.*, 1997).. Se puede utilizar la técnica de auramina/rodamina, seguida por la tinción de Ziehl Neelsen, ésta es muy sensible y específica aprovechada como herramienta para la identificación de *Cryptosporidium* (Clark y Douglas 1999). Además de los

métodos antes mencionados se han comercializado diversas técnicas inmunológicas con anticuerpos monoclonales o policlonales inmunofluorescencia indirecta, y anticuerpos humano específicos que permite detectar ooquistes en diversos tipos de muestras (heces, agua) y cuya principal ventaja es la elevada sensibilidad, aunque con algunas pruebas se ha demostrado la existencia de reacciones cruzadas con otros microorganismos que pueden ser problemáticos cuando se analizan muestras ambientales (Fayer 2000).

La importancia adquirida como enfermedad de transmisión hídrica ha hecho que se haya comenzado a investigar la presencia de *Cryptosporidium* en los últimos años, habiéndose desarrollado numerosos métodos para concentrar (filtración a través de membranas o cartuchos de polipropileno, floculación con carbonato cálcico, centrifugación de flujo continuo, separación inmunomagnética) e identificar la presencia de ooquistes en este tipo de muestras (microscopía, citometría de flujo, hibridación fluorescente *in situ*, PCR) (Fricker *et al.*, 1998).

En este sentido la técnica de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) ha proporcionado la base para el desarrollo de una nueva generación de métodos diagnósticos debido a sus ventajas para detectar *Cryptosporidium* en muestras clínicas y ambientales, tales como su sensibilidad para analizar muestras con escaso número de ooquistes (1 ooquiste según los autores) capacidad para analizar gran número de muestras y su potencial para eliminar los falsos negativos obtenidos mediante la microscopía de fluorescencia o caracterizar el genotipo de los aislados de *Cryptosporidium*, aunque

determinados contaminantes de laboratorio, como microorganismos no viables, pueden dar lugar a falsos resultados positivos (Morgan *et al.*,1998).

3.9. Control y Tratamiento

En ausencia de tratamientos efectivos para la Criptosporidiosis resalta la necesidad de medidas preventivas (Spano *et al.*, 1998). Las medidas de control basadas en las practicas de manejo, nutrición e higiene del hato, que contribuyen a minimizar el grado de explosión al agente infeccioso y que aumenta el nivel de resistencia de los neonatos puede reducir significativamente la morbilidad y difusión del parásito (Díaz *et al.*, 2002)

El control de la Criptosporidiosis constituye un desafío y su principal problema radica en que el parásito presenta una gran resistencia a los fármacos antimicrobianos por lo tanto la enfermedad no tiene un tratamiento específico totalmente satisfactorio, ni en el ser humano ni en los animales. En la actualidad no se dispone de fármacos satisfactorios capaces de prevenir o interrumpir el desarrollo del parasito (Fayer *et al.*,1997) aunque se han realizado investigaciones para evaluar la actividad de gran numero de agentes, ninguno ha sido considerablemente efectivo en los ensayos controlados, sin embargo aunque el proceso ha sido lento, las investigaciones realizadas en los últimos años han permitido identificar algunas moléculas con una cierta actividad frente al parásito que pueden considerarse parcialmente eficaces (Fayer 2000).

En becerros infectados experimentalmente bajo condiciones controladas, productos como lactato de halofuginona, decoquinato de sodio, y paromomicina,

logran reducir la severidad y la duración de la diarrea asociada con la infección por *Cryptosporidium parvum* (Fayer 1997). Todo se administra por vía oral y en general son mas eficaces cuando se administran preventivamente, reduciendo la cantidad de ooquistes eliminados y la gravedad de la diarrea (De Graaf *et al.*, 1999).

En casos de diarrea, deberá realizarse un tratamiento de sostén puesto que permite reducir el grado de deshidratación y las pérdidas económicas asociadas al retraso de crecimiento que produce la Criptosporidiosis. Para combatir deshidratación se requiere administrar soluciones isotónicas de electrolitos, como lo son sodio, potasio, glucosa, aminoácidos, se debe de retirar la leche durante un periodo de tiempo razonable (Butler y Mayfield 1996; Holland 1990).

3.9.1. Prevención y Tratamiento en Humanos

En relación con el agua de bebida, se recomienda utilizar filtros especiales para agua de menos de diámetro, o hervirla durante 1 minuto antes de su consumo; el agua mineral envasada, bebidas carbonatadas o jugos comerciales envasados, deben ser consumidos solo aquellos cuyo procesamiento incluye la pasteurización (Juraneck, 1999). El habito de lavado de manos con agua corriente y jabón antes de comer, preparar alimentos y atender niños o pacientes, al llegar al hogar procedente del trabajo o cualquier actividad, después de la micción o defecación y de tocar animales, es la medida de prevención mas importante. (Juraneck, 1995). Se han utilizado antibióticos y

quimioterapicos, coccidiostaticos, antivíricos, antidiarreicos, inmunoterapia e inmunomoduladores. Se han ensayado sin éxito alrededor de un centenar de esquemas terapéuticos y preventivos para la Criptosporidiosis en pacientes inmunocomprometidos (Current *et al.*, 1991).

Se ha utilizado en estos pacientes espiramicina durante 15 días, la cual puede ser eficaz transitoriamente (Stuart 2000). La paromomicina, antibiótico del grupo de los aminoglucósidos, con escasa absorción por vía gastrointestinal, parece ser prometedor en el tratamiento de la Criptosporidiosis. Un estudio controlado, utilizando la paromomicina en pacientes con Criptosporidiosis intestinal y SIDA, demostró su eficacia para reducir la sintomatología y la excreción de ooquistes (White *et al.*, 1994). La Nitazoxanida, utilizado en el tratamiento de Criptosporidiosis intestinal, mostró eficacia en estudios realizados en pacientes con SIDA (Smith *et al.*, 1998). También se ha utilizado roxitromicina a dosis de 300 mg. durante 4 semanas con escasos resultados. Actualmente no existe quimioprofilaxis ni vacuna para la prevención de la infección o la recurrencia de esta parasitosis (Smith *et al.*, 1998).

IV. JUSTIFICACIÓN

Teniendo como base todos los antecedentes descritos anteriormente, conociendo la prevalencia de *Cryptosporidium parvum* que existe en la Comarca Lagunera, considerando los factores de riesgo como el medio ambiente, el suelo, el agua, las madres, la edad del animal y la época del año, y sabiendo que los ooquistes liberados se encuentran en el agua contaminada y en el agua

potable, haciéndolo transmisible al hombre, a bovinos y a otros mamíferos, se decidió realizar el presente trabajo en la época de invierno para conocer la prevalencia de la infección en becerras con diarrea.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Fase de campo

Se obtuvieron 90 muestras de heces de becerras con diarrea de 9 hatos lecheros de la Comarca Lagunera, que fueron transportadas al laboratorio en refrigeración, para su procesamiento.

Fase de laboratorio

Las muestras de heces se trabajaron en la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Se precedió a la elaboración de frotis, se secaron al aire y se tiñeron con la tinción de Ziehl Neelsen modificada. Se colocaron las laminillas en canastillas metálicas, en orden por número de animal y de establo y se procedió a la tinción primero con la solución de carbol fucshina por 30 minutos. Posteriormente se enjuagaron en agua quitando el exceso de colorante, se pasaron a una solución de alcohol ácido al 1%, (Ácido clorhídrico y alcohol al 70%) se sumergieron y se sacaron inmediatamente hasta obtener un color rosado, se procedió a quitar el exceso de colorante con agua corriente y se realizó la contratinción con azul de metileno durante 5 minutos, se lavaron las laminillas para quitar el exceso de colorante, se clarificaron con alcohol al 96%, alcohol absoluto y xilol y fueron cubiertas con resina sintética y con cubreobjetos, para posteriormente observar al microscopio

con el objetivo de 40 aumentos (40x). El criterio de evaluación se basó en la observación de ooquistes de color rojo brillante; se realizó la observación de 25 campos, para dar un caso positivo, en caso de ser negativos se procedió a contar 40 campos.

Para medir la intensidad de excreción de ooquistes, se llevó a cabo considerando el siguiente criterio:

Observación de ooquistes

Negativo	(-)	No se observaron ooquistes
Incipiente	(+)	1 a 10 ooquistes
Leve	(++)	11 a 20 ooquistes
Moderado	(+++)	21 a 40 ooquistes
Severo	(++++)	Más de 41 ooquistes

Análisis estadísticos

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se tomaron muestras de 81 becerras y 9 becerros, de 1 a 35 días de edad con un promedio de 13 días.

Los resultados obtenidos indican que de 9 hatos lecheros que se muestrearon, el 100% fueron positivos a la infección por *Cryptosporidium* spp. y por lo tanto presenta una alta prevalencia de la enfermedad en la región.

Atwill (1998), examinaron becerros de 7 a 21 días y encontraron una prevalencia del 92% (Atwill y Hlarp 1998), en nuestro estudio se encontró un 53.3% y anteriormente se encontró también en la Comarca Lagunera un 30% de

prevalencia Mijangos (2004). Sin embargo, Vergara-Castiblanco *et al.*, (2001), muestrearon 135 vacas adultas asintomáticas y no encontraron ninguna positiva (Vergara-Casiblanco *et al.*, 2001).

Castro-Hermida (2002), refieren que la edad es un factor de riesgo, asociado con la infección de *Cryptosporidium* spp y ha señalado que los primeros 30 días de vida de los animales se corresponden con el periodo de máximo riesgo de infección con *C. parvum* (Castro-Hermida *et al.*, 2002). Ortega-Mora (2002), menciona que también hay que considerar la eliminación de los ooquistes por los adultos que actúan como portadores asintomáticos. Las pruebas realizadas en este estudio, en los establos lecheros de la Comarca Lagunera, coinciden con los resultados de Castro-Hermida (2002), ya que las becerras con edades de 1 a 30 días son más susceptibles a la infección y el rango de mayor influencia de infección es de 5 a 18 días de edad (Castro-Hermida *et al.*, 2002).

Anusz y col (1990), consideran que una de las mayores causas de diarrea neonatal en los terneros es la criptosporidiosis y se le atribuyen pérdidas económicas significativas en la industria ganadera de carne y de leche (Anusz *et al.*, 1990).

Algunas de las variaciones en la prevalencia observada en la contaminación fecal pueden ser explicadas por el uso de pruebas de diagnóstico de diferente sensibilidad y especificidad, pero muchas de las variaciones parecen ser el resultado de las diferencias en las poblaciones de ganado estudiadas, incluyendo la diferencia entre los modos de operación entre

explotaciones de leche y de carne, distribución de edades y prácticas de manejo (Atwill *et al.*, 2003).

Uga, Matsuo (2000) refiere que las fuentes potenciales de infección pueden ser muy diversas, teniendo en cuenta que *Cryptosporidium parvum* es capaz de desarrollarse en numerosas especies de mamíferos, las cuales eliminan ooquistes que pueden ser infectivos para todas ellas. Además, estos estadios de resistencia del parásito pueden estar presentes en ríos, arroyos, embalses, en aguas residuales tratadas o no, así como en agua potable. Un ambiente donde confluyen un gran número de estadios infectivos y una gran cantidad de animales susceptibles, predispone a la infección (Uga *et al.*, 2000).

Cuadro 1. Prevalencia de *Cryptosporidium* spp en becerros Holstein de la Comarca Lagunera.

Establo	n	Edades	Por hato n (+)	Por hato % (+)
1	10	3-19 días	8	80%
2	10	5-35 días	3	30%
3	10	4-25 días	8	80%
4	10	8-20 días	8	80%
5	10	1-10 días	4	40%
6	10	5-20 días	2	20%
7	15	1-8 días	6	40%
8	5	9-24 días	5	100%
9	10	1-5 días	4	40%
Total	90	13 días	48	53.3%

n= número de animales muestreados por hato

n (+)= número de animales positivos por hato

% (+) = porcentaje de positivos por hato

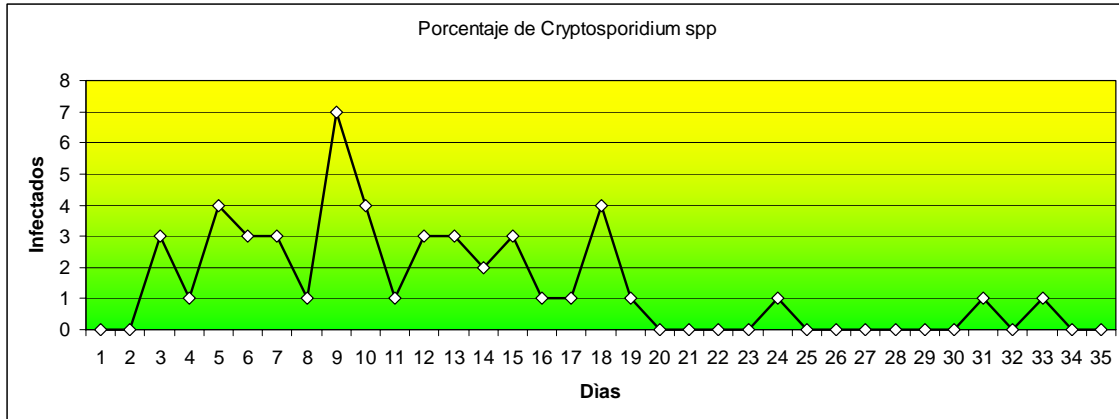


Figura 2. Edades de infección de Criptosporidiosis en becerras con diarrea de la Comarca Lagunera.

La intensidad de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en esta investigación fue la siguiente:

- Incipiente 29%
- Leve 3.3%
- Moderado 5.3%
- Severo 9%

VII. CONCLUSIONES

El presente estudio aporta información sobre la incidencia de la eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium parvum*, en becerras de 9 establos lecheros de la Comarca Lagunera muestreadas en meses fríos.

Se evidenció que todos los animales eliminaron ooquistes del parásito entre los 5 y 18 días de edad.

Los becerros infectados con el parásito tienen mayor riesgo de manifestar diarrea, especialmente en los animales menores de 30 días de edad.

La prevalencia de *Cryptosporidium spp.* en becerras con diarrea de la Comarca Lagunera es de 53.3%.

VIII.- REFERENCIAS

- 1.-Anderson, B. C. (1981). "Patterns of shedding of cryptosporidial oocyst in idaho calves." J Am. Vet.Med.Assoc 78: 892-984.
- 2.- Angus, (1983). "Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds." J R Soc Med 76: 62-70.
- 3.- Atwill, E. R., S. M. Camargo, Sergio Maldonado, Phillips, Ralph, Alonso, Laura Herrera,Tate, Kenneth W.. Jensen, Wayne A., Bennet, Joe, Little, Scott, Salmon, Terrell P. (2001). "Quantitative Shedding of Two Genotypes of Cryptosporidium parvum in California Ground Squirrels (Spermophilus beecheyi)." Appl. Environ. Microbiol. 67(6): 2840-2843.
- 4.- Atwill, E. R. y A. Hlarp, jones, t., jardon, pw., checel, s., Zylstra, M (1998). "Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of cryptosporidium parvum for calfhood infection." Am.J.Vet.Res 59: 1116-1121.
- 5.- Atwill, E. R., E. Johnson, Klingbord, D.J.,Veserat, G,M.,Markegard, G.,Jensen,Wayne A.Pratt, D,W.,Delmas, R,E.,George, H,A.,Forero L.C.,PhilipsR.L.,Barry, S.JMc Dougald, N.K.,Gildersleeve, R.R.,Frost, W,E., (1999). "Age geographic, and temporal distribution of fecal shedding of cryptosporidium parvum oocyst in cow-calf gerds." J Am. Vet.Med.Assoc 60(420-425).
- 6.- Becher K.A., I. D., D. M. Robertson, Fraser, D.G. Palmer R.C.A. Thompson. (2004.). "Molecular epidemiology of Giardia and Cryptosporidium infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia." Vet. Parasitology, 123: 1-9. .
- 7.- Castro-Hermida J.A., A. González-Losada, E. Ares-Mazás.. (2002). "Prevalence of and risk factors involved in spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (N W Spain)." Vet. Parasitology, 106: 1-10.
- 8.- Clark, D. P. (1999). "New insights in to human cryptosporidiosis." Clin Microbiol Rev 4(3): 325-358.
- 9.- Cordero y M. R. Vasquez (1999). " Parasitología veterinaria." MacGraw - Hill Interamericana: 213 –221.
- 10.- Chacin-Bonilla (1995). "Cryptosporidiosis en humanos." Invest Clin 36: 207-50.

- 11.- Díaz de Ramírez A., L. N., Ramírez-Iglesia, O. Hernández N. Montilla. (2004). "Cryptosporidium sp. en becerros neonatos de ganadería lechera y de doble propósito del estado Trujillo, Venezuela." Zootecnia Trop., 22(2): : 125 – 132.
- 12.- Fayer, R. (1989). "Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves." J. Parasitol 75: 297-393.
- 13.- Fayer, R., C. A. Speer, Farley, C. A. Lewis, E. J. Trout, J. M. Graczyk, T. K. (1997). "Cryptosporidium and cryptosporidiosis." the general biology cryptosporidium: 41.
- 14.- Flynn y PM (1996). "Cryptosporidium parvum isospora belli cyclospora species and microsporidia." pediatric anal 25: 480-7.
- 15.- Garcia, L., D. Bruckner, Brewer, T, (1983). "Techniques for the recovery and identification of Cryptosporidium oocysts from stool specimens." 18 (1): 185-190.
- 16.- Ignatius, R., M. Lehmann, Miksits, K., Regnath, T., Arvand, M., Engelmann, E., Futh, U., Hahn, H. Wagner, J.A (1997). "New Acid-Fast Trichrome Stain for Simultaneous Detection of Cryptosporidium parvum and Microsporidial Species in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology 35(2): 446-449.
- 17.- Jellison, K. L., D. L. Distel, Hemond, Harold F. Schauer, David B. (2004). "Phylogenetic Analysis of the Hypervariable Region of the 18S rRNA Gene of Cryptosporidium Oocysts in Feces of Canada Geese (Branta canadensis): Evidence for Five Novel Genotypes." Appl. Environ. Microbiol. 70(1): 452-458.
- 18.- Kehl, K. S., H. Cicirello, Havens, P. L. (1995). "Comparison of four different methods for detection of Cryptosporidium species." J. Clin. Microbiol. 33(2): 416-418.
- 19.- Liu, C., V. Vigdorovich, Kapur, Vivek Abrahamsen, Mitchell S. (1999). "A Random Survey of the Cryptosporidium parvum Genome." Infect. Immun. 67(8): 3960-3969.
- 20.- Marshall, M. M. (1997). "Waterborne protozoan pathogens." microbiol Rev 10: 68-85.
- 21.- McLauchlin, J., S. Pedraza-Diaz, et al. (1999). "Genetic Characterization of Cryptosporidium Strains from 218 Patients with Diarrhea Diagnosed as Having Sporadic Cryptosporidiosis." J. Clin. Microbiol. 37(10): 3153-3158.
- 22.- Morgan, U., R. Weber, Xiao, Lihua Sulaiman, Irshad Thompson, R. C. Andrew, Ndiritu, Wangeci Lal, Altaf Moore, Anne Deplazes, Peter (2000). "Molecular Characterization of Cryptosporidium Isolates Obtained from Human

Immunodeficiency Virus-Infected Individuals Living in Switzerland, Kenya, and the United States." J. Clin. Microbiol. 38(3): 1180-1183.

23.- Nichols, R. A. B. Campbell, B. M. Smith, H. V. (2003). "Identification of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in United Kingdom Noncarbonated Natural Mineral Waters and Drinking Waters by Using a Modified Nested PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Assay." Appl. Environ. Microbiol. 69(7): 4183-4189.

24.- Nime, F. A., J. D. P. Burek, D L , Holscher, M A & Yardley, J. H. (1976). "Acute enterocohtis in a human being infected with the protozoon cryptospondium Gastroenterology." 70: 592-8.

25.- Power, M., N. Sangster, et al. (2005). "Patterns of *Cryptosporidium* oocyst shedding by eastern grey kangaroos inhabiting an australian watershed." Appl. Environ. Microbiol. 71 (10): 6159-6164.

26.- Pieniazek N.J., Bomay-Ilinaris F.J., Slemenda S.B., Da silva A.J. Moura I.N., Arrowood M.J., Ditrich O., Addiss D.G. : (1999). "New *Cryptosporidium* genotypes in HIV infected persons. ." Emerg Infect Dis 5: 444-449.

27.- Smith, H. V., S. Cron, Valdez, L.M., (1998). "cOMBINATION DRUG THERAPY FOR CRYPTOSPORIDIOSIS IN aids." J Infect Dis 178: 900-903.

28.- Spano, F., L. Putingnani, Crisanti, A.. Sallicandro, P.,Morgan U.M. Blancq, S Tchack, L,Tzipori, S, Widmer, Giovanni (1998). "Multilocus genotypic analysis of *cryptosporidium parvum* isolates from different host and geographical origins." J Clin Microbiol 36(11): 3255-3259.

29.- Stuart, W. (2000). "Microbiologia." 1^a Ed. Mc-Graw. Hill Interamericana, Mexico.

30.- Sturbaum, G. D., C. Reed, Hoover, Paul J.Jost, B. Helen, Marshall, Marilyn M. Sterling, Charles R. (2001). "Species-Specific, Nested PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Detection of Single *Cryptosporidium parvum* Oocysts." Appl. Environ. Microbiol. 67(6): 2665-2668.

31.- Tzipori S. and G. J.K (1998). " Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum*." Adv Parasitol 40: 5-36.

32.- Uga, S., J. Matsuo, Kono, E. (2000). "Prevalence of *cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocysts shedding in calves in japan." vet parasitol 94: 27-32

33.- Umejiego, Nwakaso N. Li, Catherine, Riera, Thomas, Hedstrom, Lizbeth, Striepen, Boris (2004). "Cryptosporidium parvum IMP Dehydrogenase: identification of functional, structural, and dynamic properties that can be exploited for drug design." J. Biol. Chem. 279(39): 40320-40327.

34.- White, Chappell, Cynthia L. Hayat, Chappell, Cynthia L., Hayat, C.S., (1994). "Paromomycin for cryptosporidiosis in AIDS: a prospective, double-blind trial." J Infect Dis 170: 419-424.

35.- Xiao L., Bern C., Singh, Ajaib, Limor, Josef, Graczyk, Thaddeus K. Gradus, Steve Lal, Altaf (2001). "Identification of 5 types of Cryptosporidium parasites in children in Lima, Perú." J Infect Dis 183: 492-497.

36.- Xiao L., Morgan U.M., Limor, Josef Escalante, Ananias, Arrowood, Michael, Shulaw, William Thompson, R. C. A. Fayer, Ronald, Lal, Altaf A. (2000). "Cryptosporidium systematics and implications for Public Health." Parasitol Today 16: 287-292.

Chacin-Bonilla (1995). "Cryptosporidiosis en humanos." invest clin 36: 207-50.

Fayer, R. (1989). "Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves." j: parasitol 75: 297-393.

Stuart, W. (2000). "Microbiologia." 1ª Ed. Mc-Graw. Hill Interamericana, Mexico.