

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**Identificación de *Cryptosporidium* spp en el medio ambiente en un hato lechero de vacas y borregas próximas al parto.**

**POR**

**LILEYNI DE LA CRUZ BRAVO**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Torreón, Coahuila, México**

**Septiembre de 2008**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**TESIS**

**Identificación de *Cryptosporidium* spp en el medio ambiente en un hato lechero de vacas y borregas próximas al parto.**

**APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE REVISIÓN**

**PRESIDENTE DEL JURADO**



---

**M.C.V RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



---

**M.C. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELÍAS**

Identificación de *Cryptosporidium* spp en el medio ambiente en un hato lechero de vacas y borregas próximas al parto.

TESIS ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESIDENTE DEL JURADO



M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL

M.V.Z. JOSÉ GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

VOCAL



M.V.Z. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO

VOCAL SUPLENTE

M.V.Z. LUIS JAVIER PRADO ORTÍZ

## **I DEDICATORIA**

### **A DIOS**

Por haberme dado la gran oportunidad de vivir, de conocer a mis compañeros y profesores con los que conviví por 5 años y participaron en mi formación para que yo cumpliera mis metas.

Las pruebas que puso en mi camino para darme cuenta del valor que debo de tener para enfrentarme a los obstáculos que se presentan.

### **A MIS PADRES**

Sra. Feliciano de la Cruz Vite que es mi abuelita que es como una madre para mí, por el tiempo que e convivido con ella de pequeña y por los momentos alegres cuando estoy a su lado.

Sra. Liboria Bravo Vite. Por haberme cuidado dentro y fuera de su ser, por sus consejos que me han hecho madurar y por el gran apoyo incondicional que me ha brindado en los momentos buenos y malos muchas gracias mamá.

Sr. Leonel De la Cruz Vite. Por sus consejos que me daba cada vez que podía platicar con el a cerca de la formación profesional, que debe uno de disfrutar tanto a sus compañeros como a sus maestros porque los años pasan y el tiempo no regresa, cada momento bueno o malo que pasa uno y por algo pasan las cosas.

## **A MIS HERMANOS**

Luis Felipe de la Cruz Bravo y Feliciano de la Cruz Bravo por entenderme cuando decidí dejarlos para venirme para formarme como profesional, porque cada vez que nos despedíamos se aguantaban las ganas de llorar para que yo me viniera feliz aunque por dentro ellos se sentían tristes, con la esperanza de que cuando pudiera me comunicara con ellos o llegaran las vacaciones yo fuera a verlos.

## **A MIS AMIGAS (OS)**

Brenda Guadalupe García Díaz, Gabriela Hernández Arenas, Azucena, Oriol Roríguez Borrallas, por la paciencia que me brindaron cuando los necesitaba, por su comprensión en algunas cosas que para mí eran difíciles y al pedirle sus consejos sobre las vivencias que ellos han tenido me ayudaban a encontrar la solución, sobre todo por los momentos agradables y desagradables que pasamos juntos.

## **A MIS COMPAÑEROS**

Por que me aceptaron como un miembro del grupo "B" por los momentos que pasamos dentro y fuera de la escuela.

Por las aventuras que pasamos cada vez que teníamos la oportunidad de convivir como grupo, el tiempo que pasamos juntos que fue 5 años aprendí mucho de ellos, cada uno era distinto pero todos teníamos la misma meta trazada.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por haberme brindado mi formación académica y mi estancia durante estos cinco años. Al laboratorio de parasitología de la Unidad de Diagnóstico por darme la oportunidad de realizar y analizar las pruebas para llevar a cabo mi tesis.

A mis Asesores M.C.V. Ramón Alfredo Delgado González y M.V.Z. José Guadalupe Rodríguez Martínez por su paciencia, apoyo incondicional y asesoría que me brindaron, desde que inicié y después de que finalicé esta tesis.

A mis sinodales: M.V.Z. Ma. Guadalupe de la Fuente Salcido , M.V.Z. Luis Javier Prado Ortiz, por haber aceptado ser miembros del jurado.

## RESUMEN

Se realizó esta investigación en un establo del ejido la Partida, Municipio de San Pedro de las Colonias de la Comarca Lagunera con la finalidad de Identificar el parásito *Cryptosporidium* spp en muestras de suelo y heces en una crianza de ovejas y vacas próximas al parto.

Se recolectaron 20 muestras de ovejas y 20 muestras de vacas próximas al parto.

Las muestras que se obtuvieron fueron procesadas con la técnica de Ziehl-Neelsen modificada para determinar la presencia y intensidad de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp.

En las 20 muestras tomadas en ovejas próximas al parto.

Se demostró que en 10 muestras que se tomaron del suelo de los corrales fueron negativas y 10 muestras tomadas de heces fecales todas fueron positivas a la presencia de *Cryptosporidium* spp siendo un 100% con una intensidad de eliminación de ooquistes que estuvo entre los grados leve a moderado.

También de las 20 muestras que se obtuvieron de las vacas próximas al parto en 10 muestras de heces fecales se obtuvieron resultados negativos y en 10 muestras de suelo todas fueron positivas a la presencia de *Cryptosporidium* spp siendo un 100 % Con una intensidad de eliminación de ooquistes entre grados moderado a severo.

Palabras clave: *Cryptosporidium* spp., suelo, heces, ambiente.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>DEDICATORIAS</b>	<b>i</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>iii</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>iv</b>
<b>I INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II ANTECEDENTES</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Historia</b>	<b>3</b>
<b>2.1.1 Etiología</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2 Morfología</b>	<b>6</b>
<b>2.1.3 Ciclo Biológico</b>	<b>7</b>
<b>2.2 Epidemiología</b>	<b>10</b>
<b>2.2.1 Patogenia</b>	<b>11</b>
<b>2.3 Signos y Lesiones</b>	<b>12</b>
<b>2.4 Diagnóstico</b>	<b>14</b>
<b>2.5 Prevención y Control</b>	<b>16</b>
<b>2.6 Tratamiento</b>	<b>18</b>
<b>III JUSTIFICACIÓN</b>	<b>20</b>
<b>IV OBJETIVOS</b>	<b>21</b>
<b>4.1 Objetivo General</b>	<b>21</b>
<b>4.2 Objetivos Específicos</b>	<b>21</b>
<b>V MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>22</b>
<b>5.1 Marco de Referencia</b>	<b>22</b>
<b>5.2 Estudio de Campo</b>	<b>22</b>
<b>5.3 Análisis de Laboratorio</b>	<b>23</b>
<b>5.4 Lectura</b>	<b>24</b>
<b>VI RESULTADOS</b>	<b>25</b>
<b>VII DISCUSIÓN</b>	<b>27</b>
<b>VIII CONCLUSIÓN</b>	<b>30</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>31</b>
<b>IX LITERATURA CITADA</b>	<b>32</b>

## INDICE DE CUADROS

**Cuadro 1: Clasificación taxonómica de *Cryptosporidium*. 5**

**Cuadro 2: Nombres de las especies de *Cryptosporidium*. 6**

## INDICE DE FIGURAS

**Figura 1. Ciclo biológico de *Cryptosporidium* spp. 9**

**Figura 2. Resultados de la presencia de ooquistes en las muestras de suelo y coproparasitoscópicas de ovejas y vacas próximas al parto 26**

# I INTRODUCCIÓN

El parásito *Cryptosporidium* spp es un protozoo que causa una enfermedad gastrointestinal en animales domésticos y humanos. Para los individuos inmunodeficientes, estas infecciones pueden llevar a la diarrea crónica y muerte. Los ooquistes de *Cryptosporidium* están presentes en el agua de bebida tratada y cruda, incluso se han presentado epidemias de Criptosporidiosis en países industrializados al beber agua contaminada, como el ocurrido en Milwaukee en 1993 y causaron alrededor de 400,000 casos clínicos. Los ooquistes de *Cryptosporidium* spp son resistentes a los tratamientos de agua y desinfectantes químicos, y un número bajo de ooquistes viables pueden causar la infección. (Morita y col. 2002; Xiao y col. 2004).

Las diarreas neonatales son más frecuentes durante las primeras semanas de vida de los pequeños rumiantes. Desde el punto de vista económico, originan cuantiosas pérdidas en las explotaciones debido a la mortalidad que ocasionan, el retraso del crecimiento de los animales que se recuperan y el costo económico de los medicamentos utilizados en su tratamiento o prevención (Graff y col. 1999; Amar y col. 2001). Entre las causas desencadenantes de estas patologías se incluyen diversas enfermedades infecciosas y parasitarias destacando en este grupo la Criptosporidiosis, que se manifiesta entre la primera y la tercera semana de vida de los corderos y terneros que se considera una de las causas más frecuentes del síndrome de diarrea neonatal (Riggs y col. 2002).

Estudios realizados en la Comarca Lagunera reportan infecciones severas de la enfermedad en corderos, encontrándose que los corderos de 0 a 15 días de edad son los más susceptibles a la Criptosporidiosis (Barona, 2007; Barrera, Torres 2007 ). Uno de los principales problemas para la erradicación de la Criptosporidiosis en ovinos es el desconocimiento de las fuentes de contaminación del parásito, por tal motivo la finalidad de la presente investigación es buscar al parásito en suelo y heces en una crianza de ovejas y vacas próximas al parto conocidos con prevalencia alta de Criptosporidiosis.

CRYPTO SPP SUELO, HECES AMBIENTE

## II ANTECEDENTES

### 2.1 Historia

El *Cryptosporidium* es un parásito protozoario intracelular obligado de 4 a 6 micrómetros de diámetro que pertenece al *Phylum* Apicomplexa el cual incluye a los géneros *Besnoitia*, *Caryospora*, *Eimeria*, *Frankelia*, *Isospora*, *Sarcocystis* y *Toxoplasma* (Tzipori y col. 1980).

La primera especie de este género de *Cryptosporidium* fue establecida por Ernest Edward Tyzzer en 1907. El cual fue encontrado afectando a las glándulas gástricas de un ratón, el cual nombró como *Cryptosporidium muris* y una segunda especie que denominó *C. parvum* fue encontrado en el intestino delgado de un ratón cuatro años más tarde (Xiao y col. 2004).

Los parásitos protozoarios del género *Cryptosporidium* se reproducen dentro de las células epiteliales de los órganos respiratorio y digestivo de los vertebrados (Parisi y col. 1995; Graff y col. 1999). Desde que el género fue descrito por Tyzzer en 1907 más de 20 especies de *Cryptosporidium* han sido descritas en varios hospedadores mamíferos. Actualmente de 6 a 8 especies de *Cryptosporidium* son consideradas válidas para la mayoría de los investigadores, *C. parvum*, *C. muris*, *C. urairi*, *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. baileyi*, *C. serpentis*, y *C. nasorum*.

(Morrissette y Sibley 2002). Los parásitos *Cryptosporidium* afectan a una amplia gama de mamíferos, aves, reptiles y peces (Zhu y col. 2000).

La especie de mayor interés es el *C. parvum* por la importancia que tiene desde el punto de vista sanitario, debido a su escasa especificidad de hospedador, debido a que puede ser zoonótico. Sin embargo, también se ha demostrado la transmisión de persona a persona de este parásito (Morrissette y Sibley 2002; Walker y Redelman 2004). La Criptosporidiosis es una causa importante de muerte en infantes en muchos países tropicales y a nivel mundial (Xiao y col. 2004). El *Cryptosporidium parvum* es el causante de diarreas en el ganado joven en animales neonatos y en individuos inmunodeficientes y se ha reportado en todo el mundo que la enfermedad causada por *C. parvum* es transmitida por la ingestión de agua (Qamruddin y col. 2005; Sulaiman y col. 1999).

### **2.1.1 Etiología**

Cada especie o genotipo de *Cryptosporidium* tiene una especificidad por un hospedero distinto (Lowery y col. 2000). En la actualidad la identificación de *Cryptosporidium* spp y sus genotipos es realizada por el método de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y análisis de la secuencia de antígenos y genes estructurales (Lowery y col. 2000; Spano y col. 1998). De las especies válidas actualmente están incluidas el *C. andersoni* (ganado), *C. baileyi* (pollos y algunas otras aves), *C. canis* (perros), *C. felis* (gatos), *C. galli* (aves), *C. hominis* (humanos), *C. meleagridis* (aves y humanos), *C. molnari* (peces), *C. muris* (roedores y

algunos otros mamíferos), *C. parvum* (rumiantes y humanos) *C. wrairi* (cerdos de guinea), *C. saurophilum* (lagartos y víboras). Y *C. serpentis* (víboras y lagartos). (Sulaiman y col. 1999; Xiao y col. 2004).

**Cuadro 1:** Clasificación taxonómica de *Cryptosporidium* (Current y García, 1991).

Clasificación	Nombre	Características biológicas
Phylum	Apicomplexa	Tienen un complejo apical con anillos polares, roptríos, micronemas, conoides y microtúbulos subpeculiares.
Clase	Sporozoasida	La locomoción de las formas invasivas de estos organismos se da por la flexión deslizante del cuerpo u ondulación.
Subclase	Coccidiasina	Ciclo sexual con merogonias, gametogonias y esporogonias.
Orden	Eucoccidiorida	Merogonias se encuentran presentes en hospederos vertebrados.
Suborden	Eimeriorina	Gametos masculino y femenino se desarrollan independientemente.
Familia	cryptosporidiidae	Monoxeno (Ciclo de vida en un solo hospedador) con etapas de desarrollo solo debajo de la membrana de la célula hospedadora; ooquistes con cuatro esporozoitos; microgametos sin flagelos.

**Cuadro 2:** Nombres de las especies de *Cryptosporidium* (Fayer y Ungar, 1986)

Especie	Autor	Hospedador
<i>C. agni</i>	Barrer y Carbonell, 1974	<i>Ovis aries</i> (oveja doméstica)
<i>C. ameivae</i>	Arcay de peraza y Bastardo de San José, 1969	<i>Ameiva ameiva</i> (lagartija)
<i>C. anserinum</i>	Proctor y Kemp, 1974	<i>Anser anser</i> (ganso doméstico)
<i>C. baileyi</i>	Current, Upton y Haynes, 1986	<i>Gallus gallus</i> (pollo doméstico)
<i>C. bovis</i>	Barker y Carbonell, 1974	<i>Bos taurus</i> (bovino europeo)
<i>C. crotali</i>	Triffit, 1925	<i>Crotalus confluens</i> (víbora)
<i>C. ctenosauris</i>	Duszynski, 1969	Lagartija costarricense
<i>C. cuniculus</i>	Inman y Takeuchi, 1979	<i>Oryctolagus cuniculus</i> (conejo doméstico)
<i>C. felis</i>	Iseki, 1979	<i>Felis catus</i> (gato doméstico)
<i>C. garnhami</i>	Bird, 1981	<i>Homo sapiens</i> (hombre)
<i>C. lampropeltis</i>	Anderson, Duszynski, Marquardt, 1968	<i>Lampropeltis calligaster</i> (lagartija)
<i>C. meleagridis</i>	Slavin, 1955	<i>Meleagris gallopavo</i> (pavo)
<i>C. muris</i>	Tyzzler, 1907	<i>Mus musculus</i> (ratón doméstico)
<i>C. nasorum</i>	Hoover, Hoerr, Carlton, Hinsman y Ferguson, 1981	<i>Naso literatus</i> (pez)
<i>C. parvum</i>	Tyzzler, 1912	<i>Mus musculus</i> (ratón doméstico)
<i>C. rhesi</i>	Levine, 1981	<i>Macaca mulatta</i> (mono rhesus)
<i>C. serpentis</i>	Levine, 1981	Víboras colúbridas y crotálicas
<i>C. tyzzleri</i>	Levine, 1961	<i>Gallus gallus</i> (pollo doméstico)
<i>C. vulpis</i>	Wetzel, 1938	<i>Vulpes vulpes</i> (zorra común europea)
<i>C. wrairi</i>	Vetterling, Jervis, Merrill, Sprinz, 1971	<i>Cavia porcellus</i> (cerdos de guinea)

### 2.1.2 Morfología

Entre las coccidias los ooquistes del género de *Cryptosporidium* son los más pequeños esféricos y ovoides. El *Cryptosporidium muris* tiene un promedio de 5.6 y 7.4 micrómetros y el *C. parvum* mide de 4 a 6 micrómetros. Son las más infecciosas para la mayoría de las especies. Cada uno de los ooquistes esporulados contiene 4 esporozoitos, compuesto de numerosos gránulos pequeños y limitado por una membrana globular esférica. La pared de los ooquistes es lisa y sin color de un promedio de 50 nanómetros de grosor. Se estima que aproximadamente un 80% de los ooquistes que se forman tienen una pared gruesa (doble cubierta) y cuando se eliminan con las heces son infectantes para otros animales. Los ooquistes restantes (20%) poseen una pared fina (una unidad de membrana) que se rompe tras su salida de la célula hospedadora, permitiendo la liberación de los esporozoitos que invaden nuevas células epiteliales. Este fenómeno, conocido como autoinfección (Morrissette y Sibley, 2002; Fayer y Ungar, 1986; Hodges, 1999).

### **2.1.3 Ciclo Biológico**

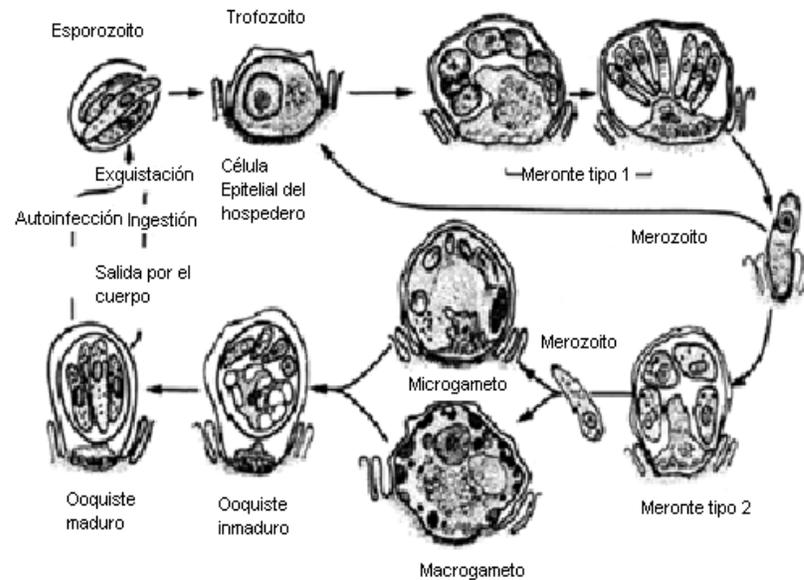
El ciclo biológico del *Cryptosporidium* spp es directo y monoxeno comprende de tres fases que se llevan acabo en el tracto digestivo del hospedador que son (merogonia, gametogonia y esporogonia). Presenta una serie de características diferenciales tal como la resistencia a los fármacos, especificidad del hospedador, y la capacidad de autoinfección ( Pickerd y Tuthill, 2005; Graff y col. 2002).

La infección ocurre cuando los nimaes ingieren ooquistes esporulados que se desenquistan en el tracto digestivo permitiendo la salida de 4 esporozoitos a través de una sutura de la pared. Los esporozoitos alcanzan las microvellosidades del intestino delgado produciendo una invaginación de la célula epitelial para formar la vacuola parasitófora en cuyo interior el parásito se transforma en un trofozoito (Kehl y col. 1995; Hommer y col. 2003).

Los esporozoitos son diferentes porque se encuentran dentro de un trofozoito. La reproducción asexual del parásito se produce mediante dos fases de esquizogonia (o merogonia) de las cuales se forman 2 esquizontes en el interior de las células parasitadas. Los esquizontes de primera generación dan lugar a la formación de 6 a 8 merozoitos tipo 1. Cuando el merozonte es maduro cada merozoito puede invadir a una nueva célula del hospedero donde se desarrolla dentro del merozoito 1 a tipo merozoito 2 de los cuales se liberan 4 merozoitos cuando maduran los merozoitos de tipo merozonte 2 invaden a nuevas células del hospedero donde ellos comienzan la multiplicación sexual (gametogonia) diferenciándose de cualquier microgametocitos masculinos y los estados de macrogametos femeninos. En la maduración los microgametos contienen esperma que fertilizaran a los macrogametos. El macrogameto fertilizado se desarrolla dentro de los ooquistes cuando se encuentran esporulados en su sitio, en la realización de esporogonia contiene cuatro esporocistos potencialmente infectivos. Algunos ooquistes se salen del cuerpo de los animales por la vía del excremento, considerando que otros sueltan esporozoitos dentro del

cuerpo que puede repetir el ciclo de merogonia, gametogonia, y esporogonia (Fayer y Ungar, 1986; Rossi y col. 2005; Hodges 1999).

El periodo de prepatencia es entre 2 y 7 días en corderos y en torno a 4 días en cabritos, aunque puede ser superior cuando la dosis infectante es baja o conforme se incrementa la edad del animal en el momento de la primera infección. La dosis infectante media se ha estimado en tan sólo cinco ooquistes (Hodges, 1999).



**Figura 1.** Ciclo biológico de *Cryptosporidium* spp. El esporozoito se desenquista de un ooquiste y entra en las microvellosidades de una célula epitelial, donde se transforma a trofozoito. Los trofozoitos, se multiplican para formar merontes tipo 1 (esquizontes). Un merozoito tipo 1 que es producto del meronte tipo I , dan origen a un meronte tipo 2. Un merozoito tipo 2 deja el meronte tipo 2 para formar microgametos o macrogametos. El microgameto fertiliza al macrogameto, que se desarrolla en un ooquiste. Los ooquistes

esporulan en el sitio y pueden liberar esporozoitos para la autoinfección o salen del cuerpo por las heces (Fayer y Ungar 1986).

## **2.2 Epidemiología**

La infección ocurre cuando los animales ingieren los ooquistes esporulados por medio de las heces contaminadas de animales infectados, o a través del medio ambiente, alimento o agua y por ooquistes eliminados en heces de otros animales parasitados, que contaminan la cama de la explotación o las ubres de las madres. (Sonea y col. 2002).

El elevado número de ooquistes que excretan los animales enfermos durante la fase aguda hacen que constituyan la principal fuente de infección. Los corderos y cabritos parasitados pueden eliminar diariamente hasta  $2 \times 10^9$  ooquistes y en torno a  $10^{10}$  durante todo el período de patencia, y en el ganado bovino puede eliminar diariamente de  $10^6$  o  $10^7$  de ooquistes por lo que el mayor peligro que tiene un animal de contraer la enfermedad es por el contacto con otro ya enfermo. Por esta circunstancia, la prevalencia suele ser superior en explotaciones con un elevado número de corderos y terneros con condiciones higiénicas deficientes que se consideran factores de riesgo. La mayoría de los brotes se presentan en las épocas de partos, en otoño - invierno y primavera y la incidencia es superior al final de la época de partos, como consecuencia de la alta contaminación de la explotación (Tetley y col. 1998; Reed y col. 2002).

La resistencia de los ooquistes a las condiciones adversas del medio exterior es un factor importante en la epidemiología, puesto que pueden mantenerse viables durante varios meses en el suelo de las explotaciones.

Por este motivo, las condiciones higiénicas deficientes y el uso de corrales contaminados con ooquistes eliminados por animales enfermos en parideras anteriores y han sobrevivido en el suelo de las explotaciones también son el origen de numerosos brotes. Una fuente de infección la representan los animales adultos que actúan como portadores asintomáticos y posibilitan el mantenimiento de la infección en la explotación entre parideras sucesivas. Los ooquistes del *Cryptosporidium* son resistentes a los tratamientos de agua, es el enteropatógeno más frecuente tanto en corderos como en cabritos durante las primeras semanas de vida (Spano y col. 1998; Kuczynska y Shelton, 1999; Graff 1999).

### **2.2.1 Patogenia**

Los mecanismos fisiopatológicos que desencadenan el cuadro diarreico en las infecciones por *Cryptosporidium* spp no se conocen totalmente, aunque es evidente que la mucosa intestinal padece lesiones provocadas por el desarrollo de las fases de esquizogonia en los enterocitos apicales, que produce la atrofia y fusión de las vellosidades

intestinales y la pérdida de enzimas digestivas del borde luminal (Graff y col.1999).

Las microvellosidades del enterocito en condiciones normales se amplifican 20 veces la superficie de absorción, por lo que su destrucción origina una reducción acompañada de una acción reparadora de las criptas intestinales, con sustitución de los enterocitos dañados por una población celular inmadura y con baja capacidad enzimática y de absorción. Estos factores desencadenan un proceso de mala absorción y alteraciones en la actividad enzimática de las células que originan una diarrea por absorción y digestión deficiente. Los azúcares no absorbidos, en particular la lactosa, se degradan en el intestino produciendo ácidos volátiles que dan lugar a cambios en la presión osmótica y originan el flujo masivo de líquidos hacia la luz del intestino, contribuyendo al cuadro diarreico ( Millership y col. 2004; Petry y col. 1995).

### **2.3 Signos y Lesiones**

Las infecciones son subclínicas a partir del primer mes de edad, aunque resulta difícil separar los efectos dependientes de la edad de los derivados de la inmunidad adquirida. En condiciones naturales, la mayoría de los animales se infectan durante los primeros días de vida, por lo que los brotes de la enfermedad se manifiestan durante el período neonatal y entre la primera y tercera semana de vida (Morrissette y Sibley, 2002).

Los síntomas generalmente se presentan en aproximadamente 3-5 días, aunque en los casos más graves puede prolongarse entre 1 y 2 semanas (Graff y col. 1999).

La diarrea se presenta con la eliminación de un elevado número de ooquistes, que alcanza el máximo entre el día 5- 6 post-infección (pi.) y desaparece entre los días 10-15 (pi). La duración del período de patencia depende de tales factores como la edad o el estado inmune del hospedador. La mortalidad puede ser elevada si se producen infecciones concurrentes con otros enteropatógenos o en casos de deficiencias en el manejo (Hou y col. 2004).

La manifestación clínica principal de la Criptosporidiosis es un síndrome diarreico que cursa con la eliminación de heces amarillentas, de consistencia pastosa o líquida, acompañado de otros síntomas tales como apatía, dolor abdominal, deshidratación y anorexia. Este último signo es responsable del retraso del crecimiento y la pérdida de peso de los animales afectados, que algunos autores han cifrado en torno a 2 kg durante el primer mes de vida de los corderos (Graff y col. 1999; Xiao y col. 2000).

En la necropsia de corderos parasitados, las lesiones macroscópicas que se observan son una enteritis catarral aguda, con congestión y edema del intestino, que aparece distendido por la acumulación de gas y presenta un contenido amarillento y acuoso. Los nódulos linfáticos mesentéricos están tumefactos y el abomaso frecuentemente contiene coágulos de leche sin digerir (Fayer y Ungar, 1986).

El estudio histológico demuestra que el intestino delgado es la porción más afectada, especialmente la parte final del yeyuno e íleon, donde se observa atrofia de las vellosidades, y sustitución del epitelio dañado por un epitelio cúbico, con núcleos desordenados y superficie irregular (Graff y col. 1999).

Las microvellosidades de las células parasitadas aparecen destruidas, mientras que en las criptas de Lieberkühn se mantiene el epitelio cilíndrico, pero con abundantes figuras mitóticas (Graff y col. 1999).

## **2.4 Diagnóstico**

El diagnóstico de la Criptosporidiosis se debe realizar mediante la identificación del parásito en muestras de los animales afectados utilizando diversas técnicas de laboratorio, puesto que los síntomas de la enfermedad son inespecíficos y pueden ser producidos por otras patologías entéricas de origen infeccioso y/o parasitario causantes de diarrea neonatal (Graff y col. 1999).

El diagnóstico de laboratorio hasta la década de los años 80 se realizaba mediante la identificación de estados endógenos del parásito en cortes histológicos de intestino teñidos con diferentes tinciones histológicas (Current y García, 1991). En la actualidad, el diagnóstico de Criptosporidiosis se realiza mediante la detección de ooquistes en muestras de heces que deben ser llevadas al laboratorio en fresco o fijadas

con diversas soluciones (formol 10%), aunque el pequeño tamaño de los ooquistes y su similitud con diversas levaduras exige el empleo de técnicas coprológicas y tinciones específicas (Cevallos y col. 2000).

Una técnica consiste en realizar frotis fecales directos y diversas tinciones negativas (tinción de Heine) que es un método de ejecución fácil y rápida, aunque poco sensible debido a la escasa cantidad de heces que se examina (aprox. Frotis / 0,001gr. ). Las técnicas de concentración permiten examinar una mayor cantidad de heces y facilitan la identificación de los ooquistes al separar los restos fecales. En este grupo se incluyen las técnicas de flotación con diferentes soluciones (sacarosa de Sheather, sulfato de cinc, sulfato magnésico, cloruro sódico), mediante el empleo del microscopio de contraste de fases para identificar los ooquistes, así como las técnicas de sedimentación con formol - éter o formol - acetato de etilo, que ofrecen la posibilidad de identificar el parásito en visión directa o realizar tinciones diferenciales. En este último grupo se incluyen las tinciones basadas en las propiedades ácido-resistentes de los ooquistes (Ziehl-Neelsen modificada, tinciones con safranina y las tinciones con fluorocromos como la auramina, que requieren el empleo de microscopio de fluorescencia (Fayer y Nerad, 1999).

Las técnicas inmunológicas permiten identificar los ooquistes en frotis fecales directos o concentrados mediante técnicas de inmunofluorescencia o ELISA utilizando anticuerpos monoclonales o policlonales frente a componentes de la pared. Este tipo de técnicas, especialmente las de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales resultan especialmente sensibles, por lo que son las más aconsejables

para procesar muestras con escaso número de ooquistes. Se debe de tener en cuenta que la detección de ooquistes en las muestras de heces es variable dependiendo de la técnica utilizada. En pequeños rumiantes, el número mínimo de ooquistes se puede detectar mediante las técnicas de Ziehl- Neelsen modificada y de inmunofluorescencia aplicadas sobre muestras concentradas se ha estimado en 100 y 1000 ooquistes/gr (Quílez y col. 2003).

Las técnicas de PCR también se utilizan para detectar la presencia de ooquistes del parásito en diversos tipos de muestras, que poseen como principal ventaja una sensibilidad elevada y resultan especialmente idóneas para el procesado de muestras con escaso número de ooquistes o para caracterizar el genotipo de diversos aislados de *C. parvum*. La desventaja que tienen es que, son técnicas laboriosas que requieren una infraestructura costosa, por lo que su empleo está restringido a algunos laboratorios y no se utilizan para realizar el diagnóstico de la infección en los animales (Reed y col. 2002; Quílez y col. 2003).

## **2.5 Prevención y Control**

Debido a la ausencia de fármacos eficaces en el tratamiento de Criptosporidiosis, juegan un papel importante las medidas higiénicas y de manejo que constituyen la herramienta más eficaz en el control de la enfermedad, con el fin de destruir los ooquistes presentes en el medio y reducir la transmisión de la enfermedad a los animales durante las primeras semanas de vida (Graff y col. 2002).

La limpieza y desinfección de los sitios que se utilizan para los partos y jaulas donde se alojan o se han alojado animales, mediante la utilización de desinfectantes químicos o calor húmedo. Aunque los ooquistes son extremadamente resistentes a muchos desinfectantes, las soluciones de amonio (5%) y el formaldehído (10%) los destruyen . El peróxido de hidrógeno y el "Oocide" (mezcla de amonio e hidróxido sódico) también reducen notablemente la infectividad de los ooquistes, separar los animales enfermos de los sanos y utilizando distinto calzado en el cuidado de ambos para evitar la diseminación de la enfermedad (Quílez y col. 2003).

Otras medidas sanitarias es renovar periódicamente la cama para evitar la acumulación de materia fecal contaminada (Piper y col.1998).

Evitar el hacinamiento, reduciendo la densidad de los animales recién nacidos en las zonas de partos y separando los animales por lotes y asegurarse de que los animales recién nacidos tomen calostro de buena calidad y en cantidad suficiente, los anticuerpos calostrales no protegen frente a la infección, pero reducen la gravedad de los síntomas e incrementan la resistencia de los animales a otros patógenos entéricos. Por lo que se recomienda que los animales ingieran calostro durante las primeras 6 horas de vida, proporcionando a los animales nacidos de madres primerizas un suplemento de calostro de vacas o ovejas más viejas. Debido a que han tenido más contacto con agentes patógenos (Quílez y col. 2003; Slifko y col. 1997).

## **2.6 Tratamiento**

La Criptosporidiosis es una enfermedad que actualmente no tiene tratamiento satisfactorio a pesar del elevado número de antibióticos o antiprotozoarios que se han evaluado. Por lo que sugieren la prevención mediante medidas sanitarias como el mejor método para el control de este parásito (Tzipori y col. 1981).

Los fármacos que han resultado parcialmente eficaces en el tratamiento de la enfermedad son el Lactato de Haluginona, que se utiliza en dosis de 0.5 mg/kg al día durante un periodo de administración 1- 5 días en corderos y de 3 – 14 días en becerros (Theodos y col. 1998). Se ha sugerido el uso del Sulfato de Paromomicina, en dosis de 100 mg / kg cada 24 horas durante un periodo de 2 – 3 días en corderos, y 11 días en becerros. La ciclodextrin se utiliza en una dosis de 500 mg /kg por día durante 3 días.

El Decoquinato la dosis es 2,5 mg/ kg cada 24 horas en un periodo de 21 días para corderos y 8 semanas para becerros. Recientes estudios demostraron un beneficio en la utilización de Decoquinato como tratamiento de prevención para la Criptosporidiosis (Quílez y col. 2003; Graff 2002).

El calostro hiperinmune administrado a becerros durante los primeros 7 días de vida no los protege contra esta enfermedad, debido a que este parásito es intracelular. Por lo que respecta a la vacunación, los estudios realizados en becerros utilizando ooquistes de *C. parvum* liofilizados no han proporcionado resultados satisfactorios en condiciones de campo, probablemente porque las infecciones naturales se producen durante los primeros días de vida, antes de que se desarrolle una respuesta inmune suficiente a nivel intestinal (Quílez y col. 2003).

Sin embargo, para contrarrestar la deshidratación debido al cuadro diarreico que presenta la enfermedad es necesaria una terapia de fluidos mediante soluciones isotónicas de electrolitos (sodio, potasio, cloruros, glucosa, aminoácidos). A dado resultados satisfactorios la utilización de probióticos que son microorganismos vivos no patógenos que cuando son ingeridos provocan un beneficio en la prevención o tratamiento de la enfermedad. Con diversos microorganismos vivos (*Lactobacillus* spp., *Bacillus subtilis*.) que permiten reponer la flora intestinal y son antagonistas de otros microorganismos patógenos. También se pueden utilizar adsorbentes y astringentes como el caolín y pectina (Graff y col. 2002; Dann y col. 2000; Quílez y col. 2003).

### **III JUSTIFICACIÓN**

En algunas zonas de nuestro país, la Criptosporidiosis es señalada como un grave problema de mortalidad neonatal tanto en corderos, terneros y cabritos, con un número de bajas que puede alcanzar el 50% de los animales en explotaciones con condiciones higiénicas deficientes (Pérez – Cordón y col. 2005).

El porcentaje de animales afectados por brotes de diarrea es variable, aunque suele incrementarse a lo largo del período de partos otoño – invierno y primavera donde la morbilidad puede alcanzar el 100% al final de la paridera, cuando el medio se encuentra altamente contaminado.

De acuerdo a estos antecedentes, la finalidad del presente trabajo es analizar en una crianza de ovejas y vacas, que conviven en corrales contiguos, las posibles fuentes de contaminación que puedan estar involucradas con la presentación de la enfermedad, realizando análisis de muestras de suelo y heces en corrales de ovejas y vacas próximas al parto,

para detectar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp, utilizando la técnica de Ziehl- Neelsen modificada.

## IV OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Determinar la frecuencia del parásito *Cryptosporidium* spp analizando muestras de suelo y heces en una crianza de ovejas y vacas próximas al parto en un establo de la Comarca Lagunera.

### 4.2 Objetivos Específicos

Identificar el parásito *Cryptosporidium* spp en muestras de suelo y heces en una crianza de ovejas y vacas próximas al parto.

Determinar la intensidad de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en vacas y ovejas.

Determinar la fuente de infección de *Cryptosporidium* spp en vacas y ovejas próximas al parto.

## **V MATERIAL Y MÉTODOS**

### **5.1 Marco de Referencia:**

La Comarca Lagunera esta localizada en la parte central de la porción norte de los Estados Unidos Mexicanos, ubicada en los meridianos de 102° 22´ y 104° 47´ longitud oeste, y los paralelos 24° 22´ y 26° 23´ latitud norte, la altura media sobre el nivel del mar es de 1139 metros. Esta formada por parte de los estados de Coahuila y Durango y debe su nombre a los cuerpos de agua que se formaban alimentados por dos ríos el Nazas y Aguanaval. La integran 16 municipios, 11 del estado de Durango y 5 del estado de Coahuila.

Este estudio se llevó acabo en un establo de producción lechera, ubicado en el ejido la Partida del municipio de San Pedro de las Colonias de la Comarca Lagunera en el Estado de Coahuila.

### **5.2 Estudio de Campo:**

Se recolectaron 40 muestras, 20 de corrales de ovejas y 20 de corrales de vacas próximas al parto. Se tomaron 10 muestras de heces fecales que se obtuvieron directamente del recto de los animales, y 10 muestras de suelo que se tomaron de los corrales de ovejas próximas al parto. También se recolectaron 10 muestras de heces fecales directamente del recto de los animales y 10 muestras de suelo que se obtuvieron en los corrales de las vacas próximas al parto. Las muestras que se obtuvieron se almacenaron y se transportaron manteniéndolas en refrigeración hasta su procesamiento en el laboratorio.

### **5.3 Análisis de Laboratorio:**

Posteriormente las muestras de heces y suelo fueron procesadas en el laboratorio de parasitología de la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, mediante la utilización de la técnica de Ziehl - Neelsen modificada para determinar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp.

Se realizaron los frotis en portaobjetos de las muestras de heces y suelo se dejaron secar al aire, se enjuagaron con agua, para posteriormente ser teñidas. Los pasos que se llevaron a cabo para la tinción fueron los siguientes; se sumergieron por 30 minutos en Carbol Fuchina, posteriormente se utilizó agua corriente para quitar exceso de colorante, se decoloraron en alcohol ácido hasta obtener un color rosa en la tinción, se procedió nuevamente en sumergir las muestras en agua corriente para quitar residuos de alcohol ácido así como el exceso de

colorante, se realizó la tinción por 5 minutos con azul de metileno, después se lavaron las muestras con agua corriente hasta quitar el exceso de colorante, se enjuagaron en alcohol etílico al 96 % , y en alcohol absoluto, se clarificaron con xilol y se montaron con resina sintética y se cubrieron con cubreobjetos, para observarlas e interpretarlas mediante la ayuda de un microscopio óptico.

#### **5.4 Lectura:**

La interpretación se realizó por medio de la observación directa con un microscopio óptico se observaron con el objetivo 40X, observando en las muestras estructuras redondas de 4 – 6 micrómetros de color rojo brillante, se contaron 40 campos ópticos antes de considerar un caso positivo o negativo. Para medir la intensidad de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp se utilizó el siguiente procedimiento: (-) negativo, de 1 - 5 ooquistes (+), de 6 – 20 ooquistes (++) , de 21-80 ooquistes (+ + + +) y más de 81 ooquistes.

Se interpretó de acuerdo al siguiente criterio ( Castro y col. 2003).

Intensidad de eliminación	Grado
( - )	Negativo
Grado 1 (+)	Incipiente

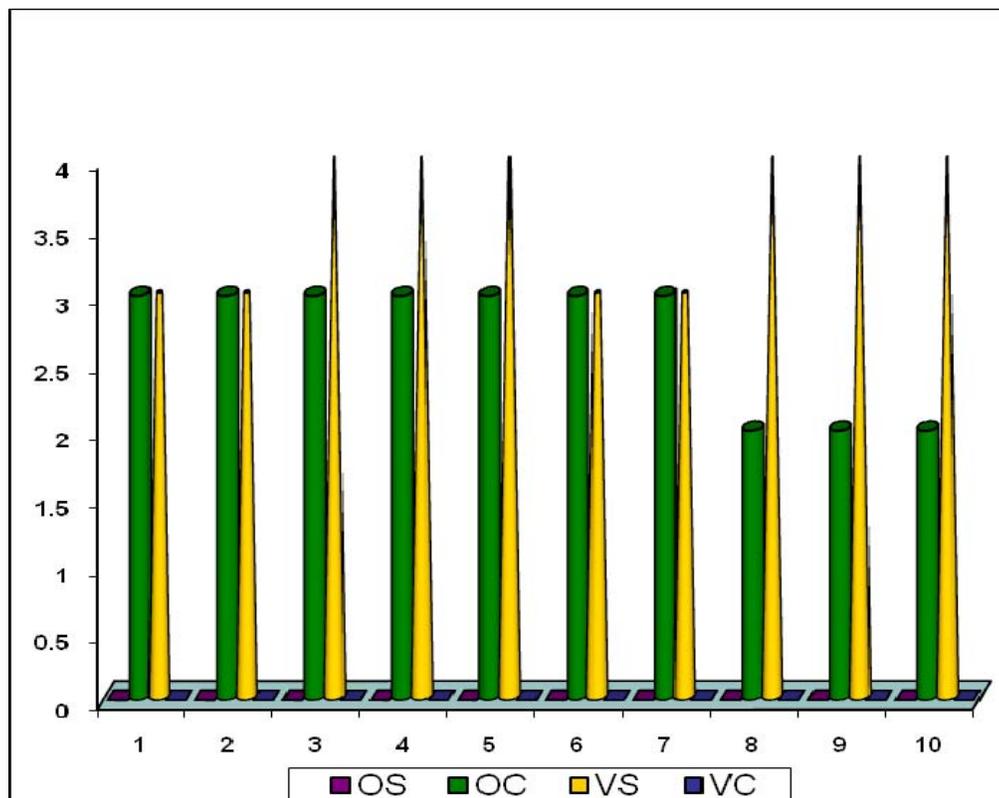
Grado 2 (+ +)	Leve
Grado 3 (+ + +)	Moderado
Grado 4 (+ + + +)	Severo

## **VII RESULTADOS**

Los resultados indican que de 10 muestras que se tomaron del suelo de los corrales de vacas, todas fueron positivas a la presencia de *Cryptosporidium* spp, siendo un 100%, con una intensidad de eliminación de ooquistes que estuvo entre los grados moderado y severo. En los corrales de ovejas, en las 10 muestras de suelo no se observaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Por lo tanto, las 10 muestras de suelo, en ovejas fueron negativas y en vacas fueron positivas

Con respecto a los resultados de las 10 muestras de heces fecales, tomadas directamente del recto de ovejas, todas fueron positivas a la presencia de *Cryptosporidium* spp siendo un 100%. Con una intensidad de eliminación de ooquistes que estuvo entre los grados de leve a moderado. En las heces fecales de vacas, en las 10 muestras no se

Observaron ooquistes de *Cryptosporidium spp.* Por lo tanto 10 muestras de heces fecales en ovejas fueron positivas y en vacas fueron negativas. Los datos se interpretan en la figura 2.



**Figura 2.** Resultados de la presencia de ooquistes en las muestras de suelo y heces fecales de ovejas y vacas próximas al parto.

## VII.- DISCUSIÓN

La prevalencia de la enfermedad de Criptosporidiosis suele ser superior en explotaciones con un elevado número de corderos. La incidencia de nuevos casos es superior al final de la época de partos, como consecuencia de la contaminación progresiva de la explotación a lo largo de la paridera (Tarver y col. 1998).

La presentación clínica de la enfermedad está asociada con la época de partos, en las explotaciones donde la mayoría de los brotes se presentan en las épocas de partos en otoño-invierno y primavera. Sin embargo no se observa una clara estacionalidad en explotaciones donde se producen partos a lo largo de todo el año y en las que la dificultad de realizar un vacío sanitario al incrementar el riesgo de transmisión al favorecer la acumulación de materia fecal contaminada (Graff y col. 1999).

La gran resistencia de los ooquistes a las condiciones adversas del medio exterior es un factor importante en la epidemiología, debido a que

pueden mantenerse viables durante varios meses en el suelo de las explotaciones. Estudios realizados han demostrado que muchos ooquistes se mantienen viables en soluciones acuosas entre 3 y 6 meses a temperatura ambiente (15 -20°C), se necesitan temperaturas extremas para inactivarlos, son inactivados a 70°C . La pasteurización de la leche (71,7°C ) también asegura su destrucción, al igual que la desecación durante 4 horas. (Fayer y Nerad. 1996).

Las condiciones higiénicas deficientes y especialmente el uso de corrales altamente contaminados con ooquistes eliminados por animales enfermos y han sobrevivido en el suelo de las explotaciones también es el origen de numerosos brotes. (Butkus y col. 2003).

Según un estudio realizado en explotaciones del noroeste de España, *C. Parvum* fue identificado en el 65% de los brotes de diarrea neonatal en corderos, la cantidad de ooquistes que eliminan los animales portadores asintomáticos posibilitan el mantenimiento de la infección en la explotación entre parideras sucesivas (Walker y Redelman, 2004).

La cantidad de ooquistes que eliminan estos animales al medio es generalmente baja, y es suficiente para infectar a los corderos y terneros recién nacidos, que son los que posteriormente diseminan la infección. Además, en las ovejas, se ha demostrado que la eliminación de ooquistes es significativamente mayor durante el parto , como consecuencia de la inmunodepresión que origina los cambios hormonales durante el parto y la lactación. (Widmer y col. 1999).

Los niveles de cloración utilizados no destruyen los ooquistes de *C. parvum*, cuya supervivencia en las heces o en el agua de bebida se ha

estimado en torno a 175 días, por lo que se considera uno de los microorganismos de transmisión hídrica más resistentes (Graff y col. 1999).

En comparación con los ooquistes de otros enteropatógenos como *Giardia duodenalis*, la resistencia de los ooquistes de *C. parvum* es hasta 14 y 30 veces superior a desinfectantes como el cloro o el ozono. La extracción física de los ooquistes durante el proceso de potabilización del agua puede conseguirse mediante filtros de arena y la ayuda de coagulantes, aunque el elevado número de brotes de Criptosporidiosis humana que se transmite por el agua que se han descrito hasta el momento permite concluir que estos métodos no son completamente fiables. (Guy y col. 2003; Johnston y col. 2003).

La infección en animales adultos son menos numerosas. En general se considera que la prevalencia en este grupo de edad es inferior a la observada en animales jóvenes y la infección cursa de forma asintomática. Algunos autores consideran que se puede estar subestimando la prevalencia real, debido a que los animales adultos eliminan menos ooquistes y la sensibilidad de las técnicas utilizadas rutinariamente en el diagnóstico es escasa. En nuestro país, algunos estudios epidemiológicos señalan una prevalencia en ovejas próxima al 8% (Quílez y col. 2003).

## VIII CONCLUSIÓN

Los estudios de la presente investigación indican que la prevalencia de la infección en ovinos es muy elevada y algunos estudios comparativos sobre la etiología de la diarrea neonatal permiten concluir que *Cryptosporidium* spp es el enteropatógeno más frecuente tanto en corderos y en terneros durante las primeras semanas de vida.

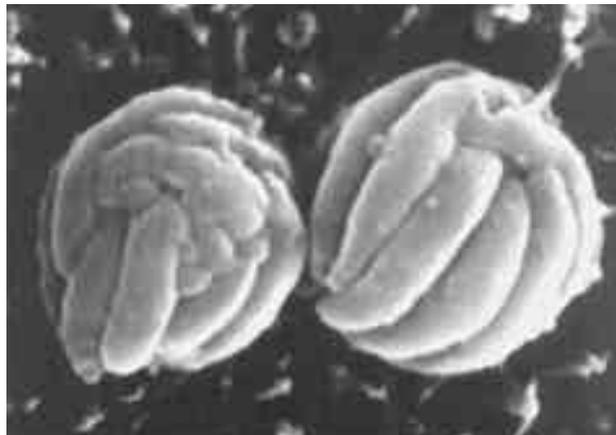
Los resultados sugieren que en el establo, en el cual se llevó a cabo el estudio de investigación, tiene una leve y moderada presencia de *Cryptosporidium* spp en muestras de heces fecales de ovejas próximas al parto, y una moderada y severa presencia de *Cryptosporidium* spp en las muestras de suelo en vacas próximas al parto.

Esto se puede controlar para evitar la propagación de la infección mediante la ayuda de las medidas sanitarias.

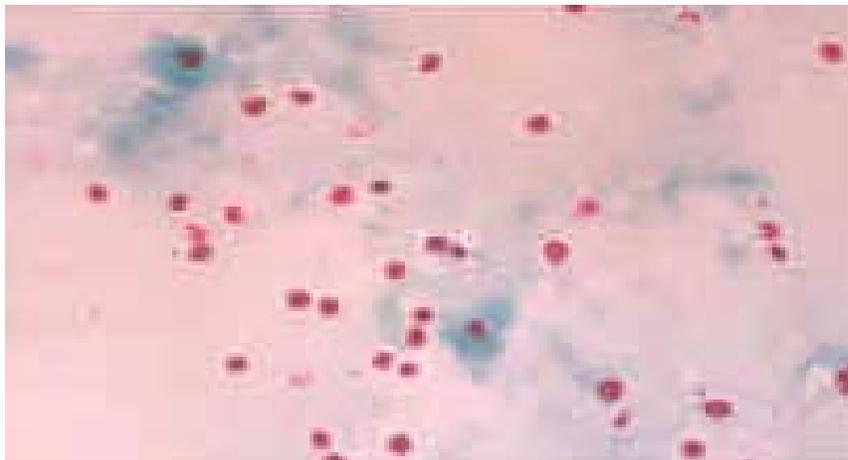
Se recomienda mantener los corrales limpios, sin exceso de humedad para evitar que se presente una enfermedad de Criptosporidiosis.

Se debe establecer un control sanitario en el lugar de las parideras de las vacas y ovejas próximas al parto.

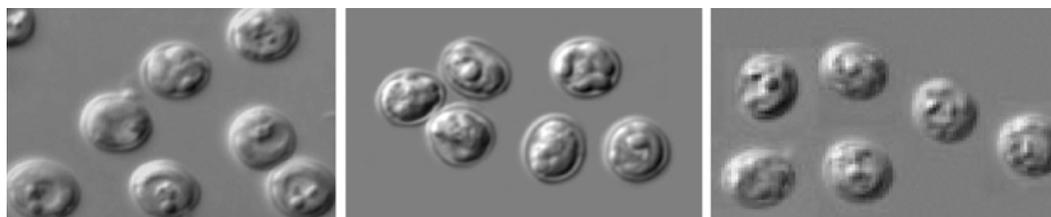
## ANEXOS



**Figura 1.** En los esquizontes de primera generación se desarrollan entre 6 y 8 merozoitos tipo I. Microscopía electrónica de barrido (Quílez y col. 2003).



**Figura 2.** Ooquistes de *C. parvum*. Tinción de Ziehl-Neelsen modificada (Quílez y col. 2003).



*C. parvum*

*C. hominis*

*C. meleagridis*

**Figura 3.** Diferentes tipos de ooquistes de *Cryptosporidium spp* (Xia y col. 2004).

## IX LITERATURA CITADA

Aleksandersen, M., K. I. Lie, et al. (2002). "Lymphocyte Depletion in Ileal Peyer's Patch Follicles in Lambs Infected with *Eimeria ovinoidalis*." *American Society for Microbiology* 9: 83 - 91.

Amar, C., S. Pedraza-Díaz, et al. (2001). "Extraction and Genotyping of *Cryptosporidium parvum* DNA from Fecal Smears on Glass Slides Stained Conventionally for Direct Microscope Examination." *American Society for Microbiology* 39: 401 - 403.

Anguish, L. J. and W. C. Ghiorse (1997). "Computer-Assisted Laser Scanning and Video Microscopy for Analysis of *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Soil, Sediment, and Feces." *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* 63: 724 - 733.

Arrowood, M. J. (2002). "In Vitro Cultivation of *Cryptosporidium* Species." *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS* 15: 390 - 400.

Avery, B. K., A. Lemley, et al. (1996). "*Cryptosporidium*: Un Patógeno Transmitido por el Agua." *Institute of Food and Agricultural Sciences* 14: 1 - 6.

Avery, B. K., A. Lemley, et al. (2000). "*Cryptosporidium*: Un Patógeno Transmitido por el Agua." *American Dairy Science Association* 15:1 - 6.

Barrera. Torres , Jafet Abisai, et al. (2007). "Criptosporidiosis en un Hato de Ovinos en Diferentes Etapas Productivas". *Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Torreón Coahuila*:1-31.

Barona, S. M. et al. (2007). "Determinación de Criptosporidiosis en Corderos y Cabritos. *Tesis de Licenciatura Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Torreón Coahuila*: 1 -27.

B.Llinares, F. J., A. J. D. Silva, et al. (1999). "Identification of *Cryptosporidium felis* in a Cow by Morphologic and Molecular Methods." *American Society for Microbiology* 65: 1455-1458.

Benbow, J. W., E. L. Bernberg, et al. (1998). "Synthesis and Evaluation of Dinitroanilines for Treatment of Cryptosporidiosis." *American Society for Microbiology* 42: 339 - 343.

Blikslager, A., E. Hunt, et al. (2001). "Glutamine transporter in crypts compensates for loss of villus absorption in bovine Cryptosporidiosis." *American of Physiology Gastrointestinal Liver Physiology* 281: 645 - 653.

Boll, X. D. a. J. (2003). "Evaluation of Attachment of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* to Soil Particles." *ENVIRON QUALITY* 32: 296 - 304.

Bukhari, Z., M. M. Marshall, et al. (2000). "Comparison of *Cryptosporidium parvum* Viability and Infectivity Assays following Ozone Treatment of Oocysts." *American Society for Microbiology*; 66: 2972 - 2980.

Butkus, M. A., J. T. Bays, et al. (2003). "Influence of Surface Characteristics on the Stability of *Cryptosporidium parvum* Oocysts." *Animal Science* 69: 3819 - 3825.

C.Foster, J., M. D.Glass, et al. (2003). "Effect of Lactobacillus and Bifidobacterium on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability." *Food Microbiology* 20: 351 - 357

Cai, X., C. A. Lancto, et al. (2004). "Intron-containing b-tubulin transcripts in *Cryptosporidium parvum* cultured in vitro." *American Society for Microbiology* 150: 1191-1195.

Cevallos, A. M., N. Bhat, et al. (2000). "Mediation of *Cryptosporidium parvum* Infection In Vitro by Mucin-Like Glycoproteins Defined by a Neutralizing Monoclonal Antibody." *American Society for Microbiology* 68: 5167 - 5175.

Champlaud, D., P. Gobet, et al. (1998). "Failure To Differentiate *Cryptosporidium parvum* from *C. meleagridis* Based on PCR Amplification of Eight DNA Sequences." *American Society for Microbiology* 64: 1454 - 1458.

Current, W. and L. S. García (1991). "Criptosporidiosis." *Microbiology Rev* 4: 325 - 358.

Dann, S. M., P. C. Okhuysen, et al. (2000). "Fecal Antibodies to *Cryptosporidium parvum* in Healthy Volunteers." *American Society for Microbiology* 68: 5068 – 5074.

Díaz, S. p., C. Amar, et al. (2001). "Unusual *Cryptosporidium* Species recovered from human faeces: first description of *cryptosporidium felis* and *Cryptosporidium dog* type from patients in England." *The Pathological Society of Great Britain and Ireland* 50: 293 - 296.

Dietz, V., D. Vugia, et al. (2000). "Active, Multisite, Laboratory-based Surveillance for *Cryptosporidium parvum*." *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 62: 368 - 372.

Doing, K. M., J. L. Hamm, et al. (1999). "False-Positive Results Obtained with the Alexon ProSpecT *Cryptosporidium* Enzyme Immunoassay." *American Society for Microbiology* 37: 1582 – 1583.

Drozd, C. and J. Schwartzbrod (1996). "Hydrophobic and Electrostatic Cell Surface Properties of *Cryptosporidium parvum*." *American Society for Microbiology* 62: 1227–1232.

Elliott, D. A. and D. P. Clark (2003). "Host Cell Fate on *Cryptosporidium parvum* Egress from MDCK Cells." *American Society for Microbiology* 71: 5422 – 5426.

Fayer, R., T. K. Graczyk, et al. (1996). "Gaseous Disinfection of *Cryptosporidium parvum* Oocysts." *American Society for Microbiology* 62: 3908– 3909.

Fayer, R. and T. Nerad (1996). "Effects of Low Temperatures on Viability of *Cryptosporidium parvum* Oocysts." *American Society for Microbiology* 62: 1431- 1433.

Fayer, R. and B. L. P. Ungar (1986). "*Cryptosporidium* spp. and Cryptosporidiosis." *American Society for Microbiology* 50: 458 - 483.

Feng, X., S. M. Rich, et al. (2000). "Extensive Polymorphism in *Cryptosporidium parvum* Identified by Multilocus Microsatellite Analysis." *American Society for Microbiology* 66: 3344–3349.

Feng, X., S. M. Rich, et al. (2003). "Effect of Particles on the Recovery of *Cryptosporidium* Oocysts from Source Water Samples of Various Turbidities." *American Society for Microbiology* 69: 1898 – 1903.

Forney, J. R., D. B. Dewald, et al. (1999). "A Role for Host Phosphoinositide 3-Kinase and Cytoskeletal Remodeling during *Cryptosporidium parvum* Infection." *American Society for Microbiology* 67: 844 - 856.

Gargala, G., A. Delaunay, et al. (2000). "Efficacy of nitazoxanide, nixoxanide and tizoxanide glucuronide against *Cryptosporidium parvum* development in sporozoite - infected HCT-8 enterocytic cells." *Antimicrobial Chemotherapy* 46: 57 - 60.

Gennaccaro, A. L., M. R. McLaughlin, et al. (2003). "Infectious *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Final Reclaimed Effluent." *American of Physiology* 69: 4983 - 4984.

Giacometti, A., O. cirioni, et al. (2000). "Activity of nitazoxanide alone and in combination with azithromycin and rifabutin against *Cryptosporidium Parvum* in cell culture." *Antimicrobial Chemotherapy* 45: 453 - 456.

Giacometti, A., O. Cirioni, et al. (2000). "Short-Term Exposure to Membrane-Active Antibiotics Inhibits *Cryptosporidium parvum* Infection in Cell Culture." *American Society for Microbiology* 44: 3473 - 3475.

Giovanni, G. D. D. and M. W. LeChevallier (2005). "Quantitative-PCR Assessment of *Cryptosporidium parvum* Cell Culture Infection." *American Society for Microbiology* 71: 1495 - 1500.

Graaf, D. C. D., H. D. Coninck, et al. (2002). "Specific bovine antibody response against a new recombinant *Cryptosporidium parvum* antigen containing 4 zinc-finger motifs." *The Korean Journal of Parasitology* Vol. 40: 59-64.

Graaf, D. C. d., E. Vanopdenbosch, et al. (1999). "A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals." *International for Parasitology* 29: 1269 - 1287.

Graczyk, T. K., M. R. Cranfield, et al. (1999). "House Flies (*Musca Domestica*) As Transport Hosts of *Cryptosporidium parvum*." *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 61: 500 - 5004.

Graczyk, T. K., R. Fayer, et al. (2000). "Mechanical Transport and Transmission of *Cryptosporidium parvum* Oocysts by wild Filth Flies." *American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 63: 178 - 183.

Guy, R. A., P. Payment, et al. (2003). "Real-Time PCR for Quantification of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Environmental Water Samples and Sewage." *American Society for Microbiology*. 69: 5178 - 5185.

Guyot, K., A. Follet-Dumoulin, et al. (2002). "PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of a Diagnostic 452-Base-Pair DNA Fragment Discriminates between *Cryptosporidium parvum* and *C. meleagridis* and between *C. parvum* Isolates of Human and Animal Origin." *American Society for Microbiology* 68: 2071 - 2076.

Harp, J. A. and J. P. Goff (1998). "Strategies for the Control of *Cryptosporidium parvum* Infection in Calves." *Dairy science* 81: 289 -294.

Heiges, M., H. Wang, et al. (2006). "CryptoDB: a *Cryptosporidium* bioinformatics resource update." *Dairy science* 34: 419 - 422.

Hellard, M., J. Hocking, et al. (2003). "Risk factors leading to *Cryptosporidium* infection in men who have sex with men." *American Medical Association* 79: 412 - 414.

Ho"rman, A., R. Rimhanen-Finne, et al. (2004). "Campylobacter spp., Giardia spp., Cryptosporidium spp., Noroviruses, and Indicator Organisms in Surface Water in Southwestern Finland, 2000-2001." *Applied and Enviromental Microbiology* 70: 87 - 95.

Hodges, R. (1999). "Cryptosporidiosis in Calves." *American Dairy Science Association* 8: 1 - 6.

Hommer, V., J. Eichholz, et al. (2003). "Effect of antiretroviral protease inhibitors alone, and in combination with paromomycin, on the excystation, invasion and in vitro development of *Cryptosporidium parvum*." *of Antimicrobial Chemotherapy* 52: 359 - 364.

Hou, L., X. Li, et al. (2004). "Neonatal-Mouse Infectivity of Intact *Cryptosporidium parvum* Oocysts Isolated after Optimized In Vitro Excystation." *American Society for Microbiology* 70: 642 - 646.

Ignatius, R., M. Lehmann, et al. (1997). "A New Acid-Fast Trichrome Stain for Simultaneous Detection of *Cryptosporidium parvum* and Microsporidial Species in Stool Specimens." *American Society for Microbiology* 35: 446 - 449.

Isaac-Renton, J., J. Blatherwick, et al. (1999). "Epidemic and Endemic Seroprevalence of Antibodies to *Cryptosporidium* and *Giardia* in Residents of Three Communities with Different Drinking Water Supplies." *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 60: 578 - 583.

Jarvier, B. D., L. A. Trotz-Williams, et al. (2005). "Effect of Halofuginone Lactate on the Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and Growth of Neonatal Dairy Calves." *American Dairy Science Association* 88: 1801 - 1806.

Jelinek, T., M. Lotze, et al. (1997). "Prevalence of infection with *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* among international travellers." *Animal Science* 41: 801 - 804

Jellison, K. L., H. F. Hemond, et al. (2002). "Sources and Species of *Cryptosporidium* Oocysts in the Wachusett Reservoir Watershed." *American Society for Microbiology* 68: 569 - 575.

Jenkins, M. B., D. D. Bowman, et al. (1998). "Inactivation of *Cryptosporidium parvum* Oocysts by Ammonia." *American Society for Microbiology* 64: 784 - 788.

Jenkins, M. B., M. J. Walker, et al. (1998). "Use of a Sentinel System for Field Measurements of *Cryptosporidium parvum* Oocyst Inactivation in Soil and Animal Waste." *American Dairy Science Association* 65: 1998 - 2005.

Jenkins, M. C., J. Trout, et al. (1999). "Cloning and Expression of a DNA Sequence Encoding a 41-Kilodalton *Cryptosporidium parvum* Oocyst Wall Protein." *CLINICAL AND DIAGNOSTIC LABORATORY IMMUNOLOGY* 6: 912 - 920.

Jiang, J., K. A. Alderisio, et al. (2005). "Development of Procedures for Direct Extraction of *Cryptosporidium* DNA from Water Concentrates and for Relief of PCR Inhibitors." *American Society for Microbiology* 71: 1135 - 1141.

Johnston, S. P., M. M. Ballard, et al. (2003). "Evaluation of Three Commercial Assays for Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* Organisms in Fecal Specimens." *CLINICAL MICROBIOLOGY* 41: 623 - 626.

Kasper, L. H. and D. Buzoni-Gatel (2001). "Ups and Downs of Mucosal Cellular Immunity against Protozoan Parasites." *American Society for Microbiology* 69: 1 - 8.

Kaucner, C. and T. Stinear (1998). "Sensitive and Rapid Detection of Viable *Giardia* Cysts and *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Large-Volume Water Samples with Wound Fiberglass Cartridge Filters and Reverse Transcription PCR." *American Society for Microbiology* 64: 1743 - 1749.

Kayser, O., W. R. Waters, et al. (2002). "Evaluation of in vitro and in vivo activity of benzindazole-4,9-quinones against *Cryptosporidium parvum*." *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 50: 975 - 980.

Kehl, K. S. C., H. Cicirello, et al. (1995). "Comparison of Four Different Methods for Detection of *Cryptosporidium* Species." *American Society for Microbiology* 33: 416 - 418.

Kjos, S. A., M. Jenkins, et al. (2005). "Evaluation of Recombinant Oocyst Protein CP41 for Detection of *Cryptosporidium*-Specific Antibodies." *American Society for Microbiology* 12: 268 - 272.

Kozwicz, D., K. A. Johansen, et al. (2000). "Development of a Novel, Rapid Integrated *Cryptosporidium parvum* Detection Assay." *American Society for Microbiology* 66: 2711 - 2717.

Kuczynska, E. and D. R. Shelton (1999). "Method for Detection and Enumeration of *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Feces, Manures, and Soils." *American Dairy Science Association* 65: 2820 - 2826.

Kuhn, R. C., C. M. Rock, et al. (2002). "Effects of pH and Magnetic Material on Immunomagnetic Separation of *Cryptosporidium* Oocysts from Concentrated Water Samples." *American Society for Microbiology* 68: 2066 -2070.

Langer, R. C. and M. W. Riggs (1999). "Cryptosporidium parvum Apical Complex Glycoprotein CSL Contains a Sporozoite Ligand for Intestinal Epithelial Cells." *American of Physiology* 67: 5282 - 5291.

Langer, R. C., D. A. Schaefer, et al. (2001). "Characterization of an Intestinal Epithelial Cell Receptor Recognized by the *Cryptosporidium parvum* Sporozoite." *American Society for Microbiology* 69: 1661 - 1670.

Lechevallier, M. W., G. D. D. Giovanni, et al. (2003). "Comparison of Method 1623 and Cell Culture-PCR for Detection of *Cryptosporidium* spp. in Source Waters." *American Society for Microbiology* 69: 971 - 979.

Lee, L. Y., S. L. Ong, et al. (2004). "Use of Semiconductor Quantum Dots for Photostable Immunofluorescence Labeling of *Cryptosporidium parvum*." *American Society for Microbiology* 70: 5732 - 5736.

Lee, Y.-M., P. W. Johnson, et al. (2001). "Development and Application of a Quantitative, Specific Assay For *Cryptosporidium parvum* Oocyst Detection In High-Turbidity Environmental Water Samples." *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 65: 1 - 9.

Leng, X., D. A. Mosier, et al. (1996). "Simplified Method for Recovery and PCR Detection of *Cryptosporidium* DNA from Bovine Feces." *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* 62: 643 - 647.

Lowery, C. J., J. E. Moore, et al. (2000). "Detection and Speciation of *Cryptosporidium* spp. in enviromental water samples by inmuno-magnetic separation, PCR an endonuclease restriction." *Medical Microbiology* 49: 779 - 785.

Mancassola, R., J.-M. Reperant, et al. (1995). "Chemoprophylaxis of *Cryptosporidium parvum* Infection with Paromomycin in Kids and Immunological Study." *American Society for Microbiology* 39: 75 - 78.

Matt, D. S., P. C. Okhuysen, et al. (2001). "Serological Responses to *Cryptosporidium* Infection." *American Dairy Science Association* 69: 1974 - 1976.

Mccole, D. F., L. Eckmann, et al. (2000). "Intestinal Epithelial Cell Apoptosis following *Cryptosporidium parvum* Infection." *American Society for Microbiology* 68: 1710 - 1713.

Mclauchlin, J., S. Pedraza-Diaz, et al. (1999). "Genetic Characterization of *Cryptosporidium* Strains from 218 Patients with Diarrhea Diagnosed as Having Sporadic Cryptosporidiosis." *CLINICAL MICROBIOLOGY* 37: 3153 - 3158.

Millership, J. J., X. Cai, et al. (2004). "Functional characterization of replication protein A2 (RPA2) from *Cryptosporidium parvum*." *Animal Science* 150: 1197 - 1205.

Morgan, U. M., L. Xiao, et al. (2000). "*Cryptosporidium* spp. in Domestic Dogs: the "Dog" Genotype." *American Society for Microbiology* 66: 2220 - 2223.

Morita, S., A. Namikoshi, et al. (2002). "Efficacy of UV Irradiation in Inactivating *Cryptosporidium parvum* Oocysts." *American Society for Microbiology* 68: 5387 - 5393.

Morrisette, N. S. and L. D. Sibley (2002). "Cytoskeleton of Apicomplexan Parasites " *American Society for Microbiology* 66:21 - 38.

Muthusamy, D., S. S. Rao, et al. (2006). "Multilocus Genotyping of *Cryptosporidium* spp. Isolates from Human Immunodeficiency Virus-Infected Individuals in South India." *CLINICAL MICROBIOLOGY* 34: 632 - 634.

Nanduri, J., S. Williams, et al. (1999). "Characterization of an Immunogenic Glycocalyx on the Surfaces of *Cryptosporidium parvum* Oocysts and Sporozoites." *American Society for Microbiology* 67: 2022 - 2024.

Neumann, N. F., L. L. G. Rek, et al. (2000). "Comparison of Animal Infectivity and Nucleic Acid Staining for Assessment of *Cryptosporidium parvum* Viability in Water." *American Society for Microbiology* 66: 406 - 412.

Parisi, M. T. and P. M. Tierno (1995). "Evaluation of New Rapid Commercial Enzyme Immunoassay for Detection of *Cryptosporidium* Oocysts in Untreated Stool Specimens." *CLINICAL MICROBIOLOGY* 33: 1963 - 1965.

Pérez-Cordón, G., M. J. Rosales-Lombardo, et al. (2005). "Procesamiento de muestras fecales en el estudio de *Cryptosporidium spp.* Mediante PCR." *Biología* 12: 158 - 160.

Perz, J. F. and S. M. L. BLANCQ (2001). "*Cryptosporidium parvum* Infection Involving Novel Genotypes in Wildlife from Lower New York State." *American Society for Microbiology* 67: 1154–1162.

Petry, F., H. A. Robinson, et al. (1995). "Murine Infection Model for Maintenance and Amplification of *Cryptosporidium parvum* Oocysts." *American Society for Microbiology* 33: 1922 - 1924.

Pickerd, N. and D. Tuthill (2005). "Resolution of cryptosporidiosis with probiotic treatment." *American Dairy Science Association* 80: 112 - 113.

Piper, M. B., A. T. Bankier, et al. (1998). "A HAPPY Map of *Cryptosporidium parvum*." *Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology* 8: 1299–1307.

Priest, J. W., C. Bern, et al. (2006). "Longitudinal Analysis of *Cryptosporidium* Species-Specific Immunoglobulin G Antibody Responses in Peruvian Children." *American Society for Microbiology* 13: 123 - 131.

Priest, J. W., J. P. Kwon, et al. (1999). "Detection by Enzyme Immunoassay of Serum Immunoglobulin G Antibodies That Recognize Specific *Cryptosporidium parvum* Antigens." *CLINICAL MICROBIOLOGY* 37: 1385 - 1392.

Qamruddin, A. O., M. G. L. Keaney, et al. (2005). "Increased stool sampling during a waterborne outbreak of cryptosporidiosis does not increase the detection of other faecal pathogens." *Clinical Pathology* 55: 271 - 274.

Quílez, J., C. Sánchez-Acedo, et al. (2003). "Criptosporidiosis de los pequeños rumiantes." *Artículos Técnicos* 4: 1 - 7.

Reed, C., G. D. Sturbaum, et al. (2002). "*Cryptosporidium parvum* Mixed Genotypes Detected by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis." *American Society for Microbiology* 68: 427 - 429.

Reijasse, D., N. P.-M. d. Serre, et al. (2001). "Cytotoxic T cells in AIDS colonic cryptosporidiosis." *American Society for Microbiology* 54: 298 - 303.

Riggs, M. W., D. A. Schaefer, et al. (2002). "Efficacy of Monoclonal Antibodies against Defined Antigens for Passive Immunotherapy of Chronic Gastrointestinal Cryptosporidiosis." *American Society for Microbiology* 46: 275 - 282.

Rochelle, P. A., D. M. Ferguson, et al. (1997). "An Assay Combining Cell Culture with Reverse Transcriptase PCR To Detect and Determine the Infectivity of Waterborne *Cryptosporidium parvum*." *American Society for Microbiology* 63: 2029 – 2037.

Rochelle, P. A., R. D. Leon, et al. (1997). "Comparison of Primers and Optimization of PCR Conditions for Detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* in Water." *American Society for Microbiology* 63: 106 - 114.

Rossi, P., M. C. F. Rivasi, et al. (2005). "Gastric involvement in AIDS associated cryptosporidiosis." *American Dairy Science Association* 43: 476 - 479.

S`lapeta, J. and J. S. Keithly (2004). "*Cryptosporidium parvum* Mitochondrial-Type HSP70 Targets Homologous and Heterologous Mitochondria." *American Society for Microbiology* 3: 483 - 494.

Simmons, O. D., M. D. Sobsey, et al. (2001). "Concentration and Detection of *Cryptosporidium* Oocysts in Surface Water Samples by Method 1622 Using Ultrafiltration and Capsule Filtration." *American Society for Microbiology* 67: 1123 – 1127.

Slifko, T. R., D. Friedman, et al. (1997). "An In Vitro Method for Detecting Infectious *Cryptosporidium* Oocysts with Cell Culture." *American of Physiology* 63: 3669–3675.

Smith, H. V., B. M. Campbell, et al. (2002). "Significance of Enhanced Morphological Detection of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in Water Concentrates Determined by Using 4-,6-Diamidino-2-Phenylindole and Immunofluorescence Microscopy." *American Society for Microbiology* 68: 5198 – 5201.

Sonea, I. M., M. V. Palmer, et al. (2002). "Treatment with Neurokinin-1 Receptor Antagonist Reduces Severity of Inflammatory Bowel Disease Induced by *Cryptosporidium parvum*." *American Society for Microbiology* 9: 333 - 340.

Spano, F., L. Putignani, et al. (1998). "Multilocus Genotypic Analysis of *Cryptosporidium parvum* Isolates from Different Hosts and Geographical Origins." *Animal Science* 36: 3255 - 3259.

Sprinza, E., R. Mallmana, et al. (1998). "AIDS-related cryptosporidial diarrhoea: an open study with roxithromycin." *Antimicrobial Chemotherapy* 41: 85 - 91.

Sulaiman, I. M., L. Xiao, et al. (1999). "Evaluation of *Cryptosporidium parvum* Genotyping Techniques." *American Society for Microbiology* 65: 4431 – 4435.

Tanriverdi, S., A. Tanyeli, et al. (2002). "Detection and Genotyping of Oocysts of *Cryptosporidium parvum* by Real-Time PCR and Melting Curve Analysis." *American Society for Microbiology* 40: 3237 – 3244.

Tarver, A. P., D. P. Clark, et al. (1998). "Enteric b-Defensin: Molecular Cloning and Characterization of a Gene with Inducible Intestinal Epithelial Cell Expression Associated with *Cryptosporidium parvum* Infection." *American Society for Microbiology* 66: 1045 - 1056.

Tetley, L., S. M. A. Brown, et al. (1998). "Ultrastructural analysis of the sporozoite of *Cryptosporidium parvum*." *American Dairy Science Association* 144: 3249 - 3255.

Theodos, C. M., J. K. Griffiths, et al. (1998). "Efficacy of Nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in Cell Culture and in Animal Models." *American Society for Microbiology* 42: 1959 - 1965.

Tzipori, S., K. W. Angus, et al. (1980). "*Cryptosporidium*: Evidence for a Single-Species Genus." *American Society for Microbiology* 30: 884-886.

Tzipori, S., I. D. Sherwoodl, et al. (1981). "Diarrhea in Lambs: Experimental Infections with Enterotoxigenic *Escherichia coli*, Rotavirus, and *Cryptosporidium spp.*" *Animal Science* 33: 401 - 406.

Walker, M. and D. Redelman (2004). "Detection of *Cryptosporidium parvum* in Soil Extracts." *American Society for Microbiology* 70: 1827 -1829.

Ward j, L., A. WG, et al. (1999). "Progress Toward Eliminating Haemophylus influenzae Type b Disease Among infants and Children United States, 1987- 1997." *American Medical Association* 281:408 412.

Widmer, G., E. A. Orbach, et al. (1999). "b-Tubulin mRNA as a Marker of *Cryptosporidium parvum* Oocyst Viability." *American Society for Microbiology* 65: 1584–1588.

Xiao, L., K. Alderisio, et al. (2000). "Identification of Species and Sources of *Cryptosporidium* Oocysts in Storm Waters with a Small-Subunit rRNA-Based Diagnostic and Genotyping Tool." *American Society for Microbiology* 66: 5492 – 5498.

Xiao, L., R. Fayer, et al. (2004). "*Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health." *American Society for Microbiology* 17: 72 – 97.

XIAO, L., J. Limor, et al. (2000). "Sequence Differences in the Diagnostic Target Region of the Oocyst Wall Protein Gene of *Cryptosporidium* Parasites." *American Society for Microbiology* 66: 5499 – 5502.

Xiao, L., U. M. Morgan, et al. (1999). "Genetic Diversity within *Cryptosporidium parvum* and Related *Cryptosporidium* Species." *American Society for Microbiology* 65: 3386–3391.

XIAO, L., A. SINGH, et al. (2001). "Molecular Characterization of *Cryptosporidium* Oocysts in Samples of Raw Surface Water and Wastewater." *American Society for Microbiology*, 67: 1097 - 1101.

YANG, S., M. C. HEALEY, et al. (1996). "Complete Development of *Cryptosporidium parvum* in Bovine Fallopian Tube Epithelial Cells†." *American Society for Microbiology* 64: 349 - 354.

Zhou, L., A. Singh, et al. (2003). "Molecular Surveillance of *Cryptosporidium* spp. in Raw Wastewater in Milwaukee: Implications for Understanding Outbreak Occurrence and Transmission Dynamics." *American Society for Microbiology* 41: 5254 – 5257.

Zhu, G., J. S. Keithly, et al. (2000). "What is the phylogenetic position of *Cryptosporidium*." *Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 1673 – 1681.

Zhu, G., M. J. Marchewka, et al. (2000). "*Cryptosporidium parvum* appears to lack a plastid genome." *Animal Science* 146: 315 - 321.