

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Prevalencia de *Cryptosporidiosis* y su asociación con la calidad del calostro

POR

MARÍA CRISTINA MORÁN GARCÍA

TESIS

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE DE 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Prevalencia de *Cryptosporidiosis* y su asociación con la calidad del calostro

POR

MARÍA CRISTINA MORÁN GARCÍA

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

PRESIDENTE


M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL


M.C. JUAN LUIS MORALES CRUZ

VOCAL


M.V.Z. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

VOCAL SUPLENTE


M.C. OLIVIA GARCÍA MORALES


M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinador de la División
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE DE 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Prevalencia de *Cryptosporidiosis* y su asociación con la calidad del calostro

POR

MARÍA CRISTINA MORÁN GARCÍA

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORIA COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA


APROBADA POR

ASESOR PRINCIPAL


M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

ASESOR


M.V.Z. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ


M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE DE 2016

RESUMEN

Cryptosporidium spp es un protozooario que causa diarrea en los becerros desde el primer día de nacidos, causando retraso del crecimiento y con frecuencia la muerte. Las pérdidas ocurridas por la infección de éste parásito entérico son cuantiosas y con frecuencia insensibles, es por ello que el estudio de los factores de riesgo de la criptosporidiosis es muy importante para las explotaciones lecheras. Considerando la variabilidad en la condición de los calostros, la presente investigación analiza al calostro de baja calidad como un factor de riesgo para la infección por *Cryptosporidium spp*. Se trabajó en dieciséis hatos lecheros comerciales de la Comarca Lagunera, se revisaron los reportes de la calidad del calostro en los establos, se estudiaron 1) cuatro con buena calidad de calostro pasteurizado, 2) cuatro con buena calidad de calostro no pasteurizado, 3) cuatro con regular calidad de calostro pasteurizado y 4) cuatro con regular calidad de calostro no pasteurizado. Se tomaron 246 muestras de heces de becerras con diarrea con promedio de 23 días de edad, se trabajaron con la técnica de ZNm encontrándose 155 (63%) becerras positivas a la presencia de criptosporidias, 66 (42.58%) con grado incipiente, 14 (9.03%) con grado leve, 3 (1.94%) con grado moderado y 72 (46.45%) en grado severo. Las dieciséis crianzas fueron positivas a *Cryptosporidium spp* con prevalencias de 22.8% a 87.5%. Las becerras con infección alimentadas con calostro de buena calidad pasteurizado fueron 34/63 (53.9%), con calostro de buena calidad no pasteurizado 33/47 (70.21%), con calostro de regular calidad pasteurizado 40/50 (66.66%), y con calostro de regular calidad no pasteurizado, 48/76 (63.15%) positivas a *Cryptosporidium spp*. El calostro de buena calidad no pasteurizado presenta mayor porcentaje de criptosporidiosis, seguido por el calostro de regular calidad pasteurizado; en menor porcentaje se encuentra el calostro de regular calidad no pasteurizado y el más bajo el calostro de buena calidad pasteurizado.

Palabras clave: *Cryptosporidium spp*, becerras, calostro, pasteurización, factores de riesgo.

INDICE GENERAL

RESUMEN	i
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. Etiología	2
2.2. Epidemiología	3
2.3. Manifestaciones clínicas y lesiones	6
2.4. Diagnóstico	7
2.5. Diarrea indiferenciada de las becerras	8
2.7. Control y vacunación de la diarrea indiferenciada	12
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. OBJETIVOS	15
4.1. Objetivo General	15
4.2. Objetivos Específicos	16
5. MATERIAL Y MÉTODOS	16
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
7. CONCLUSIONES	23
8. LITERATURA CITADA	24

1. INTRODUCCIÓN

La criptosporidiosis es una enfermedad causada por *Cryptosporidium spp* encontrándose en todo el mundo, se transmite principalmente por el agua contaminada con ooquistes del parásito. Las principales especies que afectan a los bovinos son *C. parvum*, *C. bovis*, *C. andersoni* y *C. ryanae*. *Cryptosporidium* es un agente causal de la diarrea indiferenciada de las becerras lactantes produciendo depresión, debilidad, inapetencia, fiebre, deshidratación y baja condición corporal.

Las lesiones entéricas se deben a la colonización intracelular de los enterocitos de los huéspedes. Afectan una gran variedad de mamíferos, incluyendo al hombre. La infección intestinal se manifiesta con diarrea aguda y profusa, la cual puede ocasionar la muerte. Las manifestaciones patológicas de criptosporidiosis son más frecuentes en animales lactantes de 1 a 3 semanas de edad, aunque es posible que se afecten animales entre las 6 y 12 semanas de edad. La frecuencia de criptosporidiosis detectada es relativamente baja en becerras con diarrea en la primera semana pero se incrementa considerablemente en la segunda semana para disminuir hasta los 35 días de edad.

La alta prevalencia e intensidad de infecciones por *Cryptosporidium spp* en becerras varían de 20 a 85% e indican que estos son parásitos comunes en las lecherías, siendo frecuentemente asociados a infecciones con *E. coli*, Coronavirus y Rotavirus en el síndrome de la diarrea indiferenciada de las becerras.

Dado el potencial patógeno de *Cryptosporidium spp* y a la severa manifestación de diarreas en la crianza de becerras, en la presente investigación se consideró determinar la prevalencia de criptosporidiosis y su asociación con el hacinamiento, la calidad del calostro y la edad de las becerras, como factores de riesgo para la transmisión de la enfermedad.

2. ANTECEDENTES

2.1. Etiología

Cryptosporidium spp es un parásito protozoario entérico, intracelular obligado, extracitoplasmático, pertenece al Phylum *Apicomplexa*, clase *Gregarinasina* (Leander y col., 2003; Fayer, 2010; Templeton y col., 2010), y es una importante causa de criptosporidiosis, enfermedad diarreica de distribución mundial. Es transmitida por el agua, principalmente, afectando una gran variedad de animales domésticos y silvestres, incluyendo al hombre (Husseini, 2011; Lee y col., 2011; Hashim y col., 2006). El género está compuesto de diversas especies y genotipos genéticamente distintos pero morfológicamente indistinguibles, siendo *C. parvum* la especie más común (Xiao y Feng, 2008).

Se han identificado siete especies y tres genotipos en bovinos, incluyendo *C. parvum*, *C. bovis*, *C. andersoni*, *C. ryanae*, *C. felis*, *C. hominis*, *C. suis*, genotipo *C. suis*, *Cryptosporidium* porcino genotipo II y el genotipo *Cryptosporidium deer-like* (Anusz y col., 1990; Lindsay y col., 2000; Satoh y col., 2003; Fayer y col., 2005; Fayer y col., 2008; Feng y col., 2011; Maikai y col., 2011; Šlapeta, 2011; Wang y col., 2011a; Wang y col., 2011b). *C. parvum*, *C. bovis*, *C. andersoni*, *C. ryanae* son los principales responsables de la criptosporidiosis bovina.

C. parvum coloniza el intestino delgado y es uno de los principales agentes del síndrome diarreico de los becerros recién nacidos, con frecuencia por la correlación tan significativa que se observa entre su ocurrencia y la diarrea, es probable que sea transmitida por el ganado adulto, además, de acuerdo a varios investigadores, en los adultos también se ha reportado este parásito, sin embargo causa una enfermedad que generalmente cursa de forma subclínica y presenta bajos niveles de infección (Bednarska y col., 1998; Björkman y col., 2003; Trotz-Williams y col., 2005).

C. andersoni se ha reportado en bovinos adultos asintomáticos, con niveles bajos de infección con presentación subclínica (Fayer y col., 1998; Trotz-Williams y col., 2005; Singh y col., 2006), ocasionalmente asociado a abomasitis, reducción de la producción de leche y baja ganancia de peso, y aunque presenta amplia distribución, su prevalencia es baja (Esteban y Anderson, 1995; Wang y col., 2011a).

Las otros dos especies comunes, *C. bovis* y *C. ryanae* generalmente infectan animales después del destete y hasta de un año de edad (Fayer y col., 2000; Lindsay y col., 2000; Santin y col., 2004; Fayer y col., 2006; Fayer y col., 2007; Santin y col., 2008). Además, estudios previos han sugerido que la infección del ganado con éstas dos especies no se asocian con ningún signo de enfermedad (Fayer y col., 2005; Fayer y col., 2008).

El genotipo *Cryptosporidium deer-like* es encontrado en todos los grupos de edades de bovinos de diversas áreas geográficas y son mucho más prevalentes en ganado postdestete. Se ha encontrado que *C. andersoni* es más común en vacas mientras que *C. bovis*, *C. parvum*, y el genotipo de *Cryptosporidium deer-like* son menos prevalentes (Santin y col., 2004; Fayer y col., 2006).

2.2. Epidemiología

Es conocido que las especies de *Cryptosporidium* ocasionan problemas en rumiantes neonatos y son consideradas como patógenos entéricos que causan el síndrome de la diarrea neonatal indiferenciada de los becerros en lactación, produciendo severas pérdidas económicas directa e indirectamente (Tiranti y col., 2011). Estas pérdidas asociadas con la enfermedad son debido al retardo en el crecimiento, la mortalidad que resulta de ello, al costo de los medicamentos, la

asistencia del veterinario, y el aumento del tiempo de trabajo involucrado (De Graafa y col., 1999).

El primer reporte de la identificación de *Cryptosporidium* en ganado bovino fue en un becerro con diarrea en 1971 por Panciera y col. A partir de entonces, se han reportado una gran cantidad de casos de criptosporidiosis en diferentes países y regiones, incluyendo la transmisión de la infección a humanos (Chen y Huang, 2012).

El modo de transmisión es por vía fecal-oral, ya sea por contaminación de agua y alimentos, o por contaminación directa entre individuos infectados. Es entonces que la infección inicia cuando los esporozoitos son liberados de los ooquistes que se fijan a la pared celular e invaden a los enterocitos de la mucosa de las vellosidades intestinales (Hashim y col., 2006). Sin embargo, se conoce que la principal fuente de contaminación de los animales susceptibles es el agua, ya que se han realizado estudios que mencionan que el 10% de las infecciones pueden ser transmitidas de individuo a individuo pero la mayoría de las ocasiones es debido a la contaminación del agua potable (Eisenberg y col, 2005).

De acuerdo a ciertos estudios sobre la prevalencia de criptosporidiosis en hatos lecheros, éstos han demostrado que los bovinos son la especie primaria no humana afectada por *Cryptosporidium* (Sanford y Josephson, 1982; Hashim y col., 2004). Los becerros de 1 a 60 días de edad antes del destete, son con frecuencia infectados por *C. parvum* y contribuyen de manera significativa a la zoonosis de la criptosporidiosis (Fayer y col., 2007). Los becerros lactantes son particularmente muy susceptibles a la infección y pueden eliminar millones de ooquistes cuando desarrollan la criptosporidiosis, pudiéndola transmitir a otros individuos.

Las infecciones en los becerros pueden cursar con signos clínicos de diarreas profusas con deshidratación y con frecuencia la muerte, pero en ciertas ocasiones los animales infectados pueden ser asintomáticas (Ollivett y col., 2009). Algunas

investigaciones reportan que el ganado adulto, puede ser asintomático y llegan a eliminar en heces miles de ooquistes, siendo un gran problema ya que el total del número de ooquistes excretados puede ser considerable debido a la cantidad de heces producidas (Kuczynska y col., 2005).

Es conocido que *C. parvum* es la principal especie zoonótica de interés en salud pública y salud animal, sin embargo también se han identificado subtipos de *C. parvum*, específicos para humanos y otros específicos para animales, además de los subtipos zoonóticos, esto revela que las herramientas de diagnóstico para identificar éstos subtipos son mediante pruebas moleculares, esenciales para conocer la dinámica de la transmisión de infecciones por *Cryptosporidium* entre humanos y animales (Xiao y Feng, 2008).

La prevalencia e intensidad de las infecciones por *Cryptosporidium spp* en becerras varían de 40% a 60% e indican que estos son parásitos comunes en las lecherías, aunque otros estudios muestran prevalencias más extremas que van desde 20% hasta 84% (Lassen y col., 2009; Wang y col., 2011b).

La frecuencia de la criptosporidiosis en becerras con diarrea es relativamente baja durante la primera semana de vida y va aumentando severamente hacia la segunda semana para disminuir paulatinamente hacia los 35 días de edad. Se conoce entonces que la prevalencia más alta de la enfermedad en las becerras lecheras es de 1 a 35 días de edad, con frecuencias superiores al 65%, además son mucho más susceptibles los becerros entre los 7 y 21 días de edad (Harp y col., 1990; Delgado, 2007), esto produce un impacto económico importante en la industria lechera, debido a los costos de la actividad médica y a las pérdidas en la productividad (Xiao y col., 2004).

Se sabe que la susceptibilidad al *Cryptosporidium* varía de acuerdo con la edad y a otros factores de riesgo que causan la diseminación de la infección, pero también las infecciones mixtas con *E. coli*, Coronavirus y Rotavirus contribuyen, en

asociación con *Cryptosporidium*, a la presentación de diarrea en becerras con más severidad (Harp y col., 1989; Nussbaum y col., 1999).

2.3. Manifestaciones clínicas y lesiones

El principal signo observado en la criptosporidiosis es la diarrea profusa y acuosa, seguido por una deshidratación. El parásito protozooario *Cryptosporidium spp* coloniza el epitelio de las vellosidades de la mucosa, principalmente del intestino delgado, aunque en ocasiones también se pueden observar en ciego y colon (Björkman y col., 2003). La infección entérica que se manifiesta con diarrea aguda y severa, muy común en humanos y rumiantes, puede ocasionar la muerte en casos de diarrea persistente (Tzipori y Griffiths, 1998; Xiao y col., 2004; Shing, y col., 2011; Wang y col., 2011b).

Cuando penetra *Cryptosporidium* en los enterocitos, se produce necrosis superficial del epitelio de las vellosidades, con fusión de las mismas, y a su vez se atrofian debido a que las criptas se observan dilatadas con detritos celulares, ooquistes de criptosporidias en la superficie del epitelio e infiltración de neutrófilos desde la lámina propia (Angus y col., 1982).

Otros signos que comúnmente se observan en la infección por *Cryptosporidium spp*, son depresión, debilidad, postración, inapetencia, fiebre, deshidratación y baja condición corporal (Björkman y col., 2003). Sin embargo, también se han reportado casos en bovinos infectados naturalmente o en forma experimental, donde se eliminan grandes cantidades de ooquistes en las heces, sin mostrar signos clínicos (Iseki y col., 1989, Atwill y col., 1999). *C. andersoni* se puede manifestar con abomasitis en bovinos adultos, produciendo hiperplasia epitelial leve e infiltración de linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos en lámina propia (Masuno y col., 2006), pero también puede ser una infección asintomática.

2.4. Diagnóstico

Los beneficios que se logran con la prevención y el control de la criptosporidiosis repercuten tanto en la sanidad animal como en la salud pública. Con un buen programa de control, la efectividad va a depender de la sensibilidad y especificidad de las pruebas utilizadas para identificar animales asintomáticos y clínicamente infectados (Kehl y col., 1995; De Waele y col., 2011).

Es importante conocer la intensidad de excreción de ooquistes de criptosporidias que estén eliminado los animales, para ello se han publicado varios criterios para medir la intensidad de eliminación de *Cryptosporidium spp* en heces (Bednarska y col., 1998; Ortolani y Castro, 2003; Emre y col., 1998; Espinoza, 2007). Al respecto, la literatura está muy limitada sobre estas comparaciones de excreción, lo importante en este caso es encontrar una relación entre los grados de intensidad de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium spp*, y los grados de infección.

Existe una extensa variación genética dentro del género *Cryptosporidium*, con al menos 23 especies de *Cryptosporidium* consideradas como válidos por la mayoría de los investigadores, éstas especies son frecuentemente encontradas en humano, ratón, bovino, cerdo, borrego, caballo, cabra, gato, perro, canguro, pollo, pavo, peces, hurón, lagartos, tortuga, mono y venado (Fayer, 2010; Traversa, 2010).

La identificación presuntiva de *Cryptosporidium* puede llevarse a cabo mediante distintas técnicas de tinción como Kinyoun (Harrington, 2009; Kuzehkanan y col., 2011), Auramina, (Luján y Garbossa, 2008), además, para la identificación de género se pueden utilizar técnicas de detección de antígenos como Inmunofluorescencia (Xiao y Herd, 1993) o inmunoensayos enzimáticos (Polage y col., 2011). Sin embargo, la identificación de especie requiere del uso de técnicas

moleculares de amplificación por PCR (Wang y col., 2011b), debido a que hay diferencias morfométricas de los ooquistes y una baja especificidad de hospedador de las especies del género *Cryptosporidium* (Chen y Huang, 2012).

2.5. Diarrea indiferenciada de las becerras

Se ha demostrado que la diarrea de las becerras es de etiología múltiple y su manifestación frecuente se caracteriza por heces líquidas y profusas, deshidratación, emaciación, postración (Delgado, 2000), además de que alrededor del 4% de las terneras mueren antes del destete (Losinger y Heinrichs 1997). Entre los principales agentes causantes de diarrea están las bacterias como *Escherichia coli* (Stuart y col., 2007), *Salmonella* spp (Yeruham y col., 2005), y *Clostridium perfringes* (Fleming, 1985), los virus Rotavirus, Coronavirus (Aich y col., 2007), y Torovirus (Kuwabara y col., 2007) y protozoarios coccidias del género *Eimeria* spp (Sanchez y col., 2008) y *Cryptosporidium* spp (Brook y col., 2008). Los becerros recién nacidos menores de 60 días son los más susceptibles a las infecciones que causan diarrea. Todos estos patógenos pueden causar infecciones como agentes primarios sin embargo las infecciones mixtas son más comunes que las simples (Tzipori y col., 1981). Por tal motivo, el cuadro clínico que afecta a las becerras lactantes es un complejo denominado Diarrea Indiferenciada de las becerras.

De los virus, el rotavirus bovino, produce una infección económicamente importante que afecta a las terneras de todo el mundo. Este virus destruye los enterocitos del intestino delgado resultando en diarrea la cual es acompañada de una profusa eliminación fecal del virus (Mebus y col., 1971). Los Coronavirus causan una variedad de diferentes síndromes clínicos (infección respiratoria, enteritis, hepatitis y desórdenes neurológicos, y nefritis) en un amplio rango de especies (humanos, vacas, cerdos, perros, gatos, caballos, ratones y pollos). El

Coronavirus bovino pertenece al grupo 2 y son virus neuromotéricos que causan diarrea neonatal de las beceras, disentería de invierno y enfermedad respiratoria en ganado (Han y col., 2006). Además se reportan también los Torovirus, los cuales son miembros de la familia Coronaviridae que causan enfermedades entéricas en animales y humanos, y bajo condiciones de campo infectan los enterocitos de las vellosidades y de las criptas del yeyuno medio, íleon, colon y ciego, induciendo atrofia de vellosidades y necrosis de las criptas en beceros (Kuwabara y col., 2007).

De las bacterias, la cepa de *Escherichia coli* enterotoxigénica es una causa común de diarrea en beceros recién nacidos. La colonización del tracto intestinal es debido a la adherencia de los pilis de la bacteria al intestino delgado. El pili K99 está asociado con la producción de una toxina estable, la cual produce la diarrea (Mills y Tietze, 1984). Sin embargo, la cepa de *E. coli* enterohemorrágica produce diarrea sanguinolenta y secuelas sistémicas fatales debido a la actividad de una Shiga toxina. La mayoría de estas infecciones son causadas por *E. coli* O157:H7, serotipo frecuentemente aislado de heces de ganado (Naylor y col., 2007). La salmonelosis tiene un significativo impacto sobre la salud animal. Aunque el ganado puede ser infectado con muchos diferentes serotipos, la salmonelosis bovina es causada principalmente por *Salmonella enteritidis* serovar *Typhimurium* y la serovar *Dublin*. *S. Typhimurium* afecta al ganado joven y puede causar varias manifestaciones clínicas que pueden tener rangos de curso hiperagudo con muerte en 24 horas después de la infección a una infección crónica asintomática. Sin embargo las manifestaciones clínicas más comunes de la infección es una enfermedad diarreica aguda (Santos y col., 2002).

Estos agentes afectan a bovinos de todas las edades, siendo las beceras recién nacidas y menores de 2 meses las que presentan la enfermedad entérica en forma más manifiesta. Es importante resaltar que aunque todos estos agentes patógenos pueden ser primarios, estudios epidemiológicos y de laboratorio han demostrado que las infecciones mixtas son más comunes que las infecciones simples, en su

asociación con la presentación clínica de la enfermedad. Es por ello que en la actualidad se describe a este cuadro clínico como Complejo Diarreico Bovino (CDB) y cuando afecta al becerro recién nacido recibe el nombre de Diarrea Indiferenciada del Ternero.

2.6. Importancia del calostro y la leche en la inmunidad

El calostro es el primer alimento del becerro recién nacido. Es secretado durante los primeros días después del parto. Se sabe desde hace muchos años que el calostro es muy importante para la salud del recién nacido, ya que contiene nutrientes tales como proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales, además, contiene varias moléculas biológicamente activas las cuales son esenciales para funciones específicas. Los más importantes componentes bioactivos en el calostro incluyen factores del crecimiento y factores antimicrobianos. Los factores del crecimiento promueven el crecimiento y desarrollo del becerro recién nacido, mientras que los factores antimicrobianos proveen de una inmunidad pasiva y protegen contra infecciones que ocurren durante la primera semana de vida. La actividad antimicrobiana del calostro es debido principalmente a las inmunoglobulinas, aunque el calostro también contiene otros factores antimicrobianos tales como la lactoferrina, lisosimas y lactoperoxidasas (Pakkanen y Aalto, 1997).

Las inmunoglobulinas maternas no son transferidas a través de la placenta al feto en los bovinos y los becerros nacen con muy bajas concentraciones de inmunoglobulinas séricas. A su vez el calostro bovino es una fuente muy rica de inmunoglobulinas y su absorción es esencial para proveer inmunidad pasiva después del nacimiento. Estos anticuerpos protegen al becerro recién nacido contra agentes infecciosos entéricos y enfermedades respiratorias, las cuales son la principal razón de mortalidad en becerros. Becerros con altas concentraciones

de inmunoglobulinas en suero tienen más bajas tasas de mortalidad que los becerros con bajas concentraciones (Besser y Gay, 1994).

La IgG, es el principal tipo de inmunoglobulina en el calostro mientras que IgM, IgA e IgG2 están presentes a considerables bajas concentraciones. Las concentraciones de inmunoglobulinas en el calostro son casi cien veces más altas que en la leche. Durante la transferencia de las inmunoglobulinas de la vaca al becerro, primero, las inmunoglobulinas maternas son absorbidas de la circulación sanguínea y concentradas en el calostro, después las inmunoglobulinas del calostro son transferidas de la luz del intestino a la circulación del becerro recién nacido. La transferencia de la IgG al calostro inicia varias semanas antes y continúa hasta el tiempo de la lactancia. La concentración de IgG en el calostro llega a ser más alta que la del suero materno (Bourne, 1977; Butler, 1983).

En el becerro recién nacido, las inmunoglobulinas son absorbidas del calostro hacia la circulación vía por el sistema de transporte macromolecular no selectivo a través del epitelio del intestino delgado. Los receptores de inmunoglobulinas no específicos son encontrados asociados con estos procesos, los cuales también transfieren otras moléculas. Sin embargo esta absorción no selectiva ocurre solo entre 24 a 36 horas después del nacimiento y provee la transmisión de la inmunidad pasiva de la vaca a sus becerros (Bush y Stanley, 1980).

La forma natural de alimentar al becerro provee suficientes inmunoglobulinas. Sin embargo, en casos donde hay falla en la administración del calostro, o éste es restringido, se le pueden agregar cantidades adecuadas de inmunoglobulinas. Los factores más importantes que influyen en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas son la edad del becerro y la cantidad de anticuerpos consumidos (Stott y col., 1979; Stott y Fellah, 1983). Los requerimientos de inmunoglobulina calostrada se estiman que son de 80-100 g (Petrie, 1984) y la concentración de las inmunoglobulinas podrían ser de hasta 20 g/L (Stott y Fellah, 1983).

Por otra parte, se ha demostrado que el calostro bovino hiperinmune produce anticuerpos contra *Cryptosporidium* para inhibir efectivamente la infección por el parásito *in vitro* (Flanigan y col., 1991) en ratones recién nacidos (Fayer y col., 1990), y en adultos con una severa inmunodeficiencia combinada del ratón (Riggs y col., 1994), además de corderos recién nacidos (Naciri y col., 1994).

2.7. Control y vacunación de la diarrea indiferenciada

Desde la década de los 80's, se han desarrollado vacunas inactivadas polivalentes para la prevención de infecciones entéricas que contienen rotavirus bovino, coronavirus bovino y tres serotipos de *E. coli* enterotoxigénica con antígeno K99, para ser utilizadas en la inmunización de vacas preñadas y terneras, encontrándose respuestas de anticuerpos específicos frente a todos los antígenos contenidos en la vacuna (Stěpánek, 1987). La vacunación 30 días antes del parto se asocia con el aumento de los niveles de anticuerpos protectores contra rotavirus, coronavirus y *E. coli* F5 (K99) en el calostro y la leche durante al menos 28 días (Crouch y col., 2001).

La inmunización de las madres proporciona protección pasiva en terneros neonatos; los anticuerpos son transferidos a través del calostro, previniendo así enfermedades. Las vacas y vaquillas sanas han sido vacunadas con vacunas polivalentes hasta con tres meses de gestación con antígenos de Rotavirus, Coronavirus inactivados, *E. coli* (K99) y toxoide de *Clostridium perfringes*. La vacunación de vaquillas preñadas a los 3 meses de gestación (6 meses antes del parto) proporciona una adecuada protección pasiva en terneros recién nacidos (Jayappa y col., 2008).

El mayor desafío para el desarrollo de vacunas es la interferencia de la inmunidad materna. Se han desarrollado diferentes tipos de vacunas para la protección de los

datos, aplicándolas a las madres, lo que garantiza una adecuada protección (Takamura y col, 2002). La vacunación a vacas preñadas 6 meses antes del parto o en el período final de 3 a 6 semanas antes del parto, resulta en un incremento en las concentraciones de anticuerpos calostrales protectores y títulos de anticuerpos pasivos en terneros (Jayappa y col., 2008).

Una comprensión profunda de los mecanismos de la inmunidad intestinal y su correlación con la protección de los recién nacidos es crítico para desarrollar vacunas eficaces y estrategias complementarias o alternativas de inmunidad pasiva. La inmunización pasiva mediante la administración oral de anticuerpos específicos de diferentes fuentes tales como el calostro inmune o utilizando la tecnología IgY, representan estrategias efectivas y económicas para prevenir las infecciones gastrointestinales en animales destinados al consumo (Vega y col., 2011).

Con respecto a *Cryptosporidium*, varias estructuras de los esporozoitos han sido identificados como candidatos a potenciales vacunas utilizando métodos tradicionales. Sin embargo, a pesar de la considerable cantidad de datos estructurales e inmunológicos obtenidos de las características de múltiples antígenos de superficie de esporozoitos aún no hay disponible una vacuna (Ehigiator y col., 2007)

Opciones futuras para la prevención o tratamiento de criptosporidiosis pudiera incluir vacunas o moléculas inmunológicas recombinantes (McDonald, 2011). La proteína ácido ribosomal P2 de *Cryptosporidium parvum* (CpP2) es un importante marcador inmunodominante en la infección por *C. parvum*, la vacuna de ADN que codifica el antígeno P2 de *C. parvum* es capaz de proporcionar un medio eficaz para provocar respuestas humorales y celulares y tiene el potencial de generar inmunidad protectora contra la infección por *C. parvum* (Benitez y col., 2011).

Además, con el nuevo enfoque de "vacunología inversa", se han identificado varios nuevos posibles candidatos vacunales, de *Cryptosporidium*, éstos antígenos son fusionados con citolisinas en un vector de vacuna viva de *Salmonella* como antígenos purificados recombinantes, para inducir una potente respuesta inmune celular y humoral específica, sugiriendo su potencial como nueva vacuna contra la infección por *Cryptosporidium* (Manque y col., 2011).

Otra estrategia de "vacunología inversa" usando análisis *in silice* basado en la información de la secuencia del genoma del organismo representa un nuevo enfoque para la identificación de vacunógenos. Este enfoque es particularmente útil en los organismos que, como *Cryptosporidium*, son difíciles de cultivar de forma continua en el laboratorio. La estrategia se basa en la capacidad de predecir las proteínas que se asocian con la superficie del parásito, y por lo tanto tienen el potencial para la interacción con los mecanismos inmunes del huésped. Recientemente se completaron los genomas de *C. hominis*, que es principalmente un patógeno humano, y *C. parvum*, que exhibe una relativamente amplia gama de huéspedes mamíferos (Abrahamsen y col., 2004).

En ratones la aplicación de vacuna de ADN que exprese proteínas de la pared del ooquistes de *C. andersoni*, plásmidos recombinantes pueden inducir una respuesta inmune correspondiente al anticuerpo específico, simultáneamente influye en la respuesta inmune celular, y provee una alta protección (Zheng y col., 2011).

3. JUSTIFICACIÓN

Cryptosporidium spp es un protozooario que produce diarrea en los becerros desde el primer día de nacidos, causa retraso del crecimiento y con frecuencia la muerte. Las pérdidas ocurridas por la infección de éste parásito entérico son cuantiosas y con frecuencia insensibles, es por ello que el estudio de los factores de riesgo de la criptosporidiosis es muy importante para las explotaciones lecheras. De acuerdo a los antecedentes descritos en este documento y considerando la variabilidad en la condición de los calostros en las explotaciones lecheras de la Comarca Lagunera, la presente investigación relaciona la calidad del calostro como un factor de riesgo para la infección por *Cryptosporidium spp.*, para ello se realizó éste estudio preliminar analizando lo reportado por los establos sobre la calidad del calostro que se le administrará al recién nacido, tomando en cuenta también la edad y la intensidad de excreción de ooquistes del protozooario.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

- 4.1.1. Analizar la relación de criptosporidiosis en becerras lecheras lactantes con la calidad del calostro.

4.2. Objetivos Específicos

- 4.2.1. Analizar heces de becerras con diarrea para la identificación de ooquistes de *Cryptosporidium spp* utilizando la técnica de ZNm.
- 4.2.2. Cuantificar la cantidad de ooquistes de *Cryptosporidium spp* eliminados en las heces de cada becerro analizado con ZNm.
- 4.2.3. Revisar la calidad del calostro y su relación con infección por *Cryptosporidium spp*.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Marco de referencia: La presente investigación se realizó con becerros Holstein de la Comarca Lagunera de los Estados de Coahuila y Durango, México, localizada en la parte central de la porción norte de los Estados Unidos Mexicanos, en el subtrópico mexicano, en los meridianos 102° 22' y 104° 47' longitud Oeste, y los paralelos 24° 22' y 26° 23' latitud Norte. La región presenta un clima semidesértico con temperatura promedio anual de 21°C, con variaciones de 40°C (Mayo-Agosto) a 6°C (Diciembre-Enero) que se registran en el mes de junio y diciembre, respectivamente. La precipitación promedio anual es de 266 mm con un rango de 163 a 504 mm, con época de sequía de noviembre a mayo (INEGI, 2013).

Establos estudiados. Se trabajó en dieciséis hatos lecheros comerciales de los municipios de Francisco I. Madero, Matamoros, Torreón y Viesca del Estado de Coahuila, y de Gómez Palacio y Lerdo del Estado de Durango. Se consideraron cuatro grupos de acuerdo a la calidad del calostro: 1) Cuatro hatos lecheros con buena calidad de calostro pasteurizado; 2) Cuatro hatos lecheros con buena calidad de calostro no pasteurizado; 3) Cuatro hatos lecheros con regular calidad de calostro pasteurizado; 4) Cuatro hatos lecheros con regular calidad de calostro

no pasteurizado. La calidad del calostro se midió con un calostrómetro (Quigley, 1998) y fue reportada por los establos clasificada de la siguiente manera: Calostro de buena calidad con concentración de IgG de 101 a 125 g/L; calostro de regular calidad con concentraciones de IgG de 51 a 100 g/L; calostro de mala calidad con concentraciones de IgG menores a 50 g/L. Los hatos lecheros se visitaron en una sola ocasión en el mes de julio de 2014 (Casas y Canto, 2015).

Toma de muestras. Se revisaron todas las becerras clínicamente y las muestras se colectaron del 100% de las becerras con signos clínicos de diarrea, por masaje directamente del recto, con el uso de guantes desechables. Se transportaron en refrigeración en recipientes de plástico, a la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna para su procesamiento.

Procesamiento de las muestras. Al arribo al laboratorio se conservaron con Dicromato de Potasio al 2.5% (Relación 1:1) y se refrigeraron hasta su análisis, en las próximas 24 horas después de la colecta. Posteriormente las muestras se agitaron vigorosamente en los recipientes, se filtraron por un Tamiz de 35 μm y se colocaron en tubos de centrífuga con fondo cónico. Las muestras se agitaron vigorosamente y se tomaron 60 μL (2 gotas) de heces de los tubos, se colocaron en un portaobjetos, se distribuyeron homogéneamente en la mitad de la laminilla y se dejaron secar al aire.

Técnica de Ziehl Neelsen modificada (ZNm). Después de que se secaron totalmente se tiñeron con Fucsina fenicada (1 g fucsina, 10 mL de etanol 96%, 5 g fenol, 95 mL de agua destilada) por 30 minutos, se lavaron con agua corriente, se decoloraron con una solución alcohólica ácida (Alcohol al 70% y ácido clorhídrico al 1%) hasta perder el color rojo intenso, se lavaron con agua corriente y se contra tiñeron con azul de metileno al 1% durante 5 minutos (Casemore y col., 1985; Casemore, 1991). Con ésta coloración los ooquistes de *Cryptosporidium spp* se tiñeron de color rojo intenso, con bordes bien definidos y un fondo azul oscuro

para contrastar. Las muestras problema se tiñeron junto con controles positivos de *Cryptosporidium spp.*

Observación al microscopio: Las muestras control y problema de los extendidos de heces en las laminillas y teñidas con ZNm, fueron observadas al microscopio de luz visible con el objetivo de 40X. De acuerdo a su reacción tintorial rojo intenso, se realizó el conteo de los ooquistes, se revisaron hasta 40 campos cuando no se observaron ooquistes y 25 campos cuando al menos se observó un ooquiste y se evaluaron de la siguiente manera: Cero ooquistes (-) se consideró negativo, y desde un ooquiste se consideró positivo, 1 a 10 ooquistes (+) incipiente, 11 a 20 ooquistes (++) leve, 21 a 40 ooquistes (+++) moderado, más de 40 ooquistes (++++) severo.

Análisis estadístico. Los datos de la calidad del calostro fueron obtenidos de los establos estudiados, las fechas que se tomaron las muestras y se registraron como calostros de regula y buena calidad, pasteurizados y no pasteurizados y se relacionaron con el porcentaje de heces positivas a *Cryptosporidium spp.*

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se revisaron clínicamente 3247 becerras Holstein de 1 a 73 días de edad y se detectaron 246 (7.57%) con signos clínicos de diarrea, con promedio de 22.8 días de edad, las características de las heces fueron variables y mostraron color amarillenta a color café oscura, desde pastosa hasta acuosa y profusa, con o sin residuos de moco, detritos y sangre. El estudio de ZNm mostró que 155 (63%) becerras con un promedio de 18.9 días de edad, fueron positivas a la presencia de criptosporidias, 66 (42.58%) en grado incipiente, 14 (9.03%) leves, 3 (1.94%) moderados y 72 (46.45%) severos. Las becerras con severa infección de criptosporidiosis (++++) tuvieron un promedio de 13 días de edad y un rango de 7 a 21 días de edad.

Las dieciséis crianzas (100%) fueron positivas a *Cryptosporidium spp* con prevalencias desde 22.85% hasta 87.5%. Las becerras alimentadas con calostro de buena calidad presentaron 34/63 (53.96%) y 33/47 (70.21%) becerras positivas a *Cryptosporidium spp* utilizando calostro pasteurizado y no pasteurizado, respectivamente, encontrándose una tendencia a ser diferente ($P=0.08$) a favor del calostro pasteurizado, lo cual podría indicar que el pasteurizar el calostro influyó en que se enfermaran menos becerras. Las becerras alimentadas con calostro de regular calidad pasteurizado, presentaron 40/50 (66.66%) becerras positivas a *Cryptosporidium spp* y con calostro de regular calidad no pasteurizado, 48/76 (63.15%) positivas a *Cryptosporidium spp*. Sin encontrarse diferencias estadísticas ($P>0.05$).

En nuestro estudio se detectaron ooquistes de *Cryptosporidium spp* utilizando la técnica de ZNm. El análisis microscópico de los extendidos de heces teñidos con la técnica de ZNm es el método más utilizado para el muestreo tamiz para el diagnóstico de *Cryptosporidium* en laboratorios de diagnóstico clínico, También se utiliza con frecuencia en la mayoría de los laboratorios de diagnóstico veterinario,

debido a que es la técnica más económica y rápida para detectar ooquistes de *Cryptosporidium spp* (Kehl y col., 1995; Rodríguez-Hernández y col., 1994), además de que se ha demostrado que los métodos de detección inmunológica no son significativamente más sensibles que la microscopía convencional (Quilez y col., 1996; Quilez y col., 2011). Sin embargo, otros estudios demuestran que la reacción en cadena de la polimerasa tiene una sensibilidad y especificidad de 100% comparado con un 83% de sensibilidad y un 98% de especificidad para la microscopía (Morgan y col., 1998).

Otra característica observada en nuestro estudio fue la ocurrencia de diarrea causada por *Cryptosporidium spp* de los 7 a 21 días de edad, con eliminación de criptosporidios, además es frecuente y común que se encuentran otros patógenos asociados a la infección (Anderson, 1998). Nuestro estudio constató que las becerras de la primera a la segunda semana de edad presentan diarrea asociadas a *Cryptosporidium spp*, con mayor frecuencia que en animales con otros rangos de edad, y similarmente es manifestado por otros investigadores (Reynolds y Morgan, 1986). También se corrobora que la prevalencia de criptosporidiosis en becerras es común en la Comarca Lagunera y la intensidad de excreción de ooquistes también es alta (22.85% hasta 87.5%)., similares a otros estudios que van desde 20 hasta 88% (Bednarska y col., 1998). La frecuencia de criptosporidiosis detectada es relativamente baja en becerras con diarrea en la primera semana pero se incrementa considerablemente la segunda semana para disminuir hasta los 35 días de edad.

Considerando nuestros resultados, la susceptibilidad a *Cryptosporidium* varía de acuerdo con la edad con la infección iniciando a los 7 días y el máximo pico a los 14 disminuyendo a partir de los 21 días de edad. También hay otros factores de riesgo que permiten la diseminación de la infección, causando daño intestinal en becerras de mayor edad. La ausencia de criptosporidios en la primer semana de vida coincide con la ingestión precoz de calostro (Ortolani y Castro, 2003). Emre y col. (1998), mencionan que *E. coli* y Rotavirus, contribuyen en asociación con

Cryptosporidium para la presentación de la diarrea en beceras. Nuestros resultados muestran diferencias significativas de infección por *Cryptosporidium spp*, entre calostros de buena calidad pasteurizado (53.9%) y no pasteurizado (70.2%). En el caso del uso de calostro de regular calidad pasteurizado (66.6%) y no pasteurizado (63.1%) no hay diferencias significativas para la infección por *Cryptosporidium spp*. Es evidente en nuestro análisis que el calostro de buena calidad no pasteurizado presenta mayor riesgo de infección por *Cryptosporidium spp* que el calostro de buena calidad pasteurizado y que el calostro de regular calidad tanto pasteurizado como no pasteurizado. Hay que hacer énfasis que existen otros factores que contribuyen con las diarreas como los agentes infecciosos virales Rotavirus y Coronavirus, bacterianos como *E. coli* y *Salmonella spp*, o por protozoarios como *Eimeria spp* y *Giardia spp*.

También se han descrito diversos criterios para medir la intensidad de eliminación de *Cryptosporidium spp* en heces. Chen y Huang (2012) trabajaron extendidos de heces por triplicado, preparados de cada muestra y los tiñeron con la técnica de ZNm. Los ooquistes fueron contabilizados promediando el número de observaciones en 20 campos visuales a 400X aumentos y fueron clasificados como sigue: (+) para 1~5 ooquistes, (++) para 6~10, (+++) para 11~15, (+++++) para 16~20, (+++++) para >20, (-) para ningún ooquiste. Bednarska y col. (1998), los agrupan en tres grados, el primero (+) con menos de 5 ooquistes, el segundo grado (++) al observar de 5 a 10 ooquistes, y el tercero (+++) con más de 10 ooquistes observados en 20 campos ópticos a 400 aumentos. Emre y col. (1998) observaron 20 campos a 1000 aumentos y los gradúan en 1 (+) de 1 a 5 ooquistes, grado 2 (++) de 6 a 20 ooquistes y grado 3 (+++) más de 20 ooquistes. Espinoza (2007) y Ortolani y Castro (2003), al igual que nuestro estudio muestran los grados de intensidad de eliminación de ooquistes de *Cryptosporidium spp*, en forma incipiente (+), leve (++) , moderada (+++) y severa (++++), de acuerdo a los signos clínicos, aunque con muy poca variación en la interpretación con los otros autores.

Es conocido que el calostro hiperinmune de vacas vacunadas con virus, como el Rotavirus humano, es un efectivo terapéutico que reduce la duración y severidad de la diarrea causada por Rotavirus en infantes de 6 a 20 meses de edad (Mitra y col., 1995), por tal motivo sería de interés para la medicina veterinaria tener vacunas de *Cryptosporidium spp* en vacas, para recuperar calostro hiperinmune contra ésta enfermedad. También éste efecto se ha estudiado en personas voluntarias a quienes les aplicaron un tratamiento profiláctico con calostro hiperinmune de *C. parvum*, reduciendo la excreción de ooquistes después del desafío, con una tendencia a reducir la diarrea (Okhuysen y col., 1998).

El calostro bovino y la leche son fuentes ricas en componentes inmunes que contribuyen con los sistemas de inmunidad adquirida e innata. Estos factores inmunes juegan un papel en la transferencia de la inmunidad pasiva protegiendo la inmunidad de la glándula mamaria del mismo huésped. La variabilidad en los componentes inmunes en el calostro y la leche son debido a factores del animal y de manejo. Los componentes inmunes de calostro y de la leche han sido explotados comercialmente contra agentes microbianos. Además, los procedimientos de vacunación para igualar las concentraciones naturales de componentes inmunes ofrecen gran potencial en el desarrollo de productos hiperinmunes derivados de la leche para profilaxis o terapéutica de uso humano (Stelwagen y col., 2009).

Algunos trabajos (Atwill y col., 1998) ponen de manifiesto que, a pesar de que las vacas lecheras alrededor del parto y los suelos del corral de maternidad son negativos a ooquistes de *C. parvum*, raspados de las jaulas de madera y los pisos de tierra de las becerras, aún limpias presentan ooquistes. Además, en los hatos lecheros, los roedores, como los ratones jóvenes, padecen de la infección cryptosporidial que es transmisible a los terneros por vía fecal-oral (Klesius y col., 1986).

También se sabe que la criptosporidiosis se detecta donde los seres humanos y los animales jóvenes se congregan. Especialmente los brotes graves se producen cuando se hacen a los terneros, corderos, cabritos, o a los niños. A menudo, los animales jóvenes son privados de calostro. El calostro bovino estándar tiene anticuerpos anticriptosporidiales (y quizás otras capacidades anticriptosporidiales) que no protege contra la infección cryptosporidial pero puede reducir la severidad de la enfermedad en términos del número de ooquistes que se eliminan y a la duración de la diarrea (Fayer y col., 1989).

Contradictoriamente, en algunos casos, los anticuerpos del calostro contra criptosporidias no tienen efecto contra la enfermedad clínica después de la infección experimental. También el calostro de vacas que han sido hiperinmunizadas contra *Cryptosporidium* no protege a los terneros de la enfermedad (Fayer y col., 1989; Harp y col., 1989).

7. CONCLUSIONES

1. El calostro de buena calidad pasteurizado muestra diferencias significativas en la presentación más baja de diarreas con presencia de *Cryptosporidium spp* comparado con el calostro de buena calidad no pasteurizado y el calostro de regular calidad pasteurizado y no pasteurizado.
2. El calostro de buena calidad no pasteurizado muestra diferencias significativas en un mayor número de diarreas con presencia de *Cyptosporidium spp* que los calostros de regular calidad pasteurizado y no pasteurizado.

8. LITERATURA CITADA

Abrahamsen, M.S., Templeton, T.J., Enomoto, S., Abrahante, J.E., Zhu, G., Lancto, C.A., Deng, M., Liu, C., Widmer, G., Tzipori, S., Buck, G.A., Xu, P., Bankier, A.T., Dear, P.H., Konfortov, B.A., Spriggs, H.F., Iyer, L., Anantharaman, V., Aravind, L. y Kapur, V. (2004). Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. *Science*. 304:441–445.

Aich, P., Wilson, H.L., Kaushik, R.S., Potter, A.A., Babiuk, L.A. y Griebel, P. (2007). Comparative analysis of innate immune responses following infection of newborn calves with bovine rotavirus and bovine coronavirus. *J. Gen. Virol.* 88:2749 – 2761.

Anderson, B.C. (1998). Cryptosporidiosis in bovine and human healt. *J. Dairy Sci.* 81 (11):3036-3041.

Angus, K.W., Tzipori, S. y Gray, E.W. (1982). Intestinal lesions in specific-pathogen-free lambs associated with a *Cryptosporidium* from Calves with Diarrhea. *Vet. Pathol.* 19:67-78.

Anusz, K.Z., Mason, P.H., Riggs, M.W. y Perryman, L.E. (1990). Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in bovine feces by monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* 28:2770-2774.

Atwill, E.R., Harp, J.A., Jones, T., Jardon, P.W., Checel, S. y Zylstra, M. (1998). Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhoo infection. *Am. J. Vet. Res.* 59:1116–1121.

Atwill, E.R., Johnson, E., Klingborg, D.J., Vesperat, G.M., Markegard, G., Jensen, W.A., Pratt, D.W., Delmas, R.E., George, H.A., Forero, L.C., Philips, R.L., Barry, S.J., McDougald, N.K., Gildersleeve, R.R. y Frost, W.E. (1999). Age, geographic, and temporal distribution of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cow-calf herds. *Am. J. Vet. Res.* 60:420–425.

Bednarska, M., Bajer, A. y Sinski, E. (1998). Calves as a potential reservoir of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia sp.* *Ann. Agric. Environ. Med.* 5(2):135–138.

Benitez, A., Priest, J.W., Ehigiator, H.N., McNair, N. y Mead, J.R. (2011). Evaluation of DNA encoding acidic ribosomal protein P2 of *Cryptosporidium parvum* as a potential vaccine candidate for cryptosporidiosis. *Vaccine.* 29(49): 9239–9245. DOI:10.1016/j.vaccine.2011.09.094.

Besser, T.E. y Gay, C.C. (1994). The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 10:107-117.

Björkman, C., Svensson, C., Christensson, B y de Verdier, K. (2003). *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhoea in Sweden. *Acta Vet. Scand.* 44(3-4):145-52.

Bourne, F. J. (1977). The mammary gland and neonatal immunity. *Vet. Sci. Commun.* 1:141-151.

Brook, E., Hart, C.A., French, N. y Christley, R. (2008). Prevalence and risk factors for *Cryptosporidium spp.* infection in young calves. *Vet. Parasitol.* 152(1-2):46-52.

Bush, L.J. y Stanley, T.E. (1980). Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves. *J. Dairy Sci.* 63:672-680.

Butler, J.E. (1983). Bovine immunoglobulins: An augmented review. *Vet. Immun. Immunopath.* 4:43-152.

Casas, M y Canto, F. (2015). Cómo evaluar la calidad del calostro y la inmunidad de las terneras. Sitio Argentino de Producción Animal. Instituto Investigaciones Agropecuarias (INIA), INIA Remehue, Chile. http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_bovina_de_leche/cria_artificial/61-calidad_calostro.pdf

Casemore, D.P., Armstrong, M. y Sands, R.L. (1985). Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J. Clin. Pathol.* 38:1337-1341.

Casemore, D.P. (1991). Laboratory methods for diagnosing cryptosporidiosis. *J. Clin. Pathol.* 44:445-451.

Chen, F. y Huang, K. (2012). Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium spp.* in dairy cattle from farms in China. *J. Vet. Sci.* 13(1):15-22.

Crouch, C.F., Oliver, S., Hearle, D.C., Buckley, A., Chapman, A.J. y Francis, M.J. (2000). Inmunidad lactogénica tras vacunación de Ganado con coronavirus bovino. *Med. Vet.* 17(11):264-272.

De Graafa, D., Vanopdenboscha, E., Ortega-Mora, L.M., Abbassi, H., y Peeters, J. (1999). A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals international. *J. Parasitol.* 30 (29): 1269-1287.

Delgado, G.R. (2000). Diarrea de las terneras en bovinos Holstein de la Comarca Lagunera. Memorias del IX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios, A.C. Gómez Palacio, Dgo. Pag. 44 – 45.

Delgado, G.R., Mijangos, M.L., Avila, A.S., Martínez, V.G., y Espinoza, V.J. (2007). Criptosporidiosis en becerras Holstein con diarrea de la Comarca

Lagunera, México. XVI Congreso Nacional de Patología Veterinaria. Mazatlán, Sin., México.

De Waele, V., Berzano, M., Berkvens, D., Speybroeck, N., Lowery, C., Mulcahy, G.M. y Murphy, T.M. (2011). Age-Stratified Bayesian Analysis to estimate sensitivity and specificity of four diagnostic tests for detection of *Cryptosporidium* oocysts in neonatal calves. *J. Clin. Microbiol.* 49(1):76–84.

Ehigiator, H. N., Romagnoli, P., Priest, J-W., Secor, W.E. y Mead, J.R. (2007). Induction of murine immune responses by DNA encoding a 23-kDa antigen of *Cryptosporidium parvum*. *Parasitol. Res.* 101:943–950.

Eisenberg, J.N., Lei, X., Hubbard, A.H., Brookhart, M.A. y Colfors, Jr. J.M. (2005). The Role of Disease Transmission and Conferred Immunity in Outbreaks: Analysis of the 1993 *Cryptosporidium* Outbreak in Milwaukee, Wisconsin. *Am. J. Epidemiol.* 161:62-72.

Emre, Z., Alabay, B.M., Fidanci, H., Duzgun, A. y Cerci, H. (1998). Prevalence of *Cryptosporidium* spp infection and its relation to other enteric pathogens (*Escherichia coli* K 99 and rotavirus) in cattle in Ankara, Turkey. *Tr. J. Vet. Anim. Sciences.* 22:453-457.

Espinoza-Vargas, .J.J. (2007). Evaluación de la intensidad de excreción de ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en becerras con diarrea. Tesis de Licenciatura. Asesor: Delgado, G.R. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, División Regional de Ciencia Animal. Torreón, Coah.

Esteban, E. y Anderson, B.C. (1995). *Cryptosporidium muris*: prevalence, persistency, and detrimental effect on milk production in a dry lot dairy. *J. Dairy Sci.* 78:1068–1072.

Fayer, R. (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp Parasitol.* 124:90–97.

Fayer, R., Andrews, C., Unger, B.L.P. y Blagburn, B. (1989). Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *J. Parasitol.* 75:393–397.

Fayer, R., Gasbarre, L., Pasquali, P., Canals, A., Almeria, S. y Zarlenga, D. (1998). *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *Int. J. Parasitol.* 28(1):49-56.

Fayer, R., Guidry, A. y Blakburn, B. L. (1990). Immunotherapeutic efficiency of bovine colostrum immunoglobulins from a hyperimmunized cow against cryptosporidiosis in neonatal mice. *Infect. Immun.* 58:2962-2965.

Fayer, R., Santin, M., Trout, J.M. y Greiner, E. (2006). Prevalence of species and genotypes of *Cryptosporidium* found in 1-2-year-old dairy cattle in the eastern United States. *Vet. Parasitol.* 135(2):105-112.

Fayer, R., Santin, M. y Trout, J.M. (2007). Prevalence of *Cryptosporidium* species and genotypes in mature dairy cattle on farms in eastern United States compared with younger cattle from the same locations. *Vet. Parasitol.* 145(3-4): 260-266.

Fayer, R., Santín, M., y Trout, J.M. (2008). *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Vet. Parasitol.* 156:191–198.

Fayer, R., Santin, M. y Xiao, L. (2005). *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *J Parasitol.* 91(3):624-629.

Fayer, R., Trout, J.M., Graczyk, T.K y Lewis E.J. (2000). Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Eimeria* infections in post-weaned and adult cattle on three Maryland farms. *Vet Parasitol.* 93 (2):103-112.

Feng, Y., Yang, W., Ryan, U., Zhang, L., Kvác, M., Koudela, B., Modry, D., Li, N., Fayer, R. y Xiao, L. (2011). Development of a multilocus sequence tool for typing *Cryptosporidium muris* and *Cryptosporidium andersoni*. *J. Clin. Microbiol.* 49(1): 34–41.

Flanigan, T., Marshall, R., Redman, T., Kaetzel, C. y Ungar, B. (1991). In vitro screening of therapeutic agents against *Cryptosporidium*: hyperimmune cow colostrum is highly inhibitory. *J. Protozool.* 38:225S-227S.

Fleming, S. (1985). Enterotoxemia in neonatal calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 1(3):509-514.

Foley, J.A. y Otterby. D. E. (1978). Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum. A review. *J. Dairy Sci.* 61:1033-1060.

Han, M.G., Cheon, D.S., Zhang, X. y Saif, L.J. (2006). Cross-Protection against a human enteric Coronavirus and a virulent bovine enteric coronavirus in gnotobiotic calves. *J. Virol.* 80:12350-12356.

Harp, J.A., Woodmansee, D.B. y Moon, H.W. (1989). Effects of colostrum antibody on susceptibility of calves to *Cryptosporidium parvum* infection. *Am. J. Vet. Res.* 50:2117–2119.

Harp, J.A., Woodmansee, D.B. y Moon, H.W. (1990). Resistance of calves to *Cryptosporidium parvum*: Effects of age and previous exposure. *Infect. Immun.* 58(7):2237-2240.

Harrington, B.J. (2009). The staining of oocysts of *Cryptosporidium* with the Fluorescent Brighteners Uvitex 2B and Calcofluor White. *Science*. 40(4):219-223.

Hashim, A.G., Clyne, M., Mulcahy, G., Akiyoshi, D., Chalmers, R. y Bourke, B. (2004). Host cell tropism underlies species restriction of human and bovine *Cryptosporidium parvum* genotypes. *Infect immune*. 72(10):6125–6131.

Hashim, A.G., Mulcahy, B.B. y Marguerite, C. (2006). Interaction of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum* with primary human and bovine intestinal cells. *Infect. Immun*. 74(1):99-107.

Hussein, A.S. (2011). *Cryptosporidium parvum* causes gastroenteritis epidemics in the Nablus region of Palestine. *Trop. Med. Internal. Health*. 16(1):12–17.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) (2013). El sector alimentario en México. Serie estadísticas sectoriales.

Iseki, M., Maekawa, T., Moriya, K., Uni, S. y Takada, S. (1989). Infectivity of *Cryptosporidium muris* (Strain RN66) in various laboratory animals. *Parasitol. Res*. 75:218-222.

Jayappa, H., Davis, R., Dierks, L., Sweeney, D. y Wasmoen, T. (2008). Demonstration of passive protection in neonatal calves against colibacillosis following immunization of pregnant heifers at 3 months of gestation. *Vet. Ther*. 9(4):283-289.

Kehl, K. S., Cicirello, H. y Havens, P.L. (1995). Comparison of four different methods for detection of *Cryptosporidium* species. *J. Clin. Microbiol*. 33:416–418.

Klesius, P.H., Haynes, T.B. y Malo, L.K. (1986). Infectivity of *Cryptosporidium* sp. isolated from wild mice for calves and mice. *J. Am. Vet. Med. Assoc*. 189:192–193.

Kuczynska, E., Shelton, D. y Pachepsky, Y. (2005). Bovine manure on *Cryptosporidium parvum* oocyst attachment to soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (10): 6394-6397.

Kuwabara, M., Wada, K., Maeda, Y., Miyazaki, A. y Tsunemitsu, H. (2007). First isolation of cytopathogenic bovine torovirus in cell culture from a calf with diarrhea. *Clin. Vaccine Immunol.* 14:998-1004.

Kuzehkanan, A.B., Rezaeian, M., Zeraati, H., Mohebbali, M., Meamar, A.R., Babaei, Z., Kashi, L., Heydarnezhadi, M y Rezaie, S. (2011). A sensitive and specific PCR based method for identification of *Cryptosporidium* sp. using new primers from 18S ribosomal RNA. *Iranian J. Parasitol.* 6(4):1-7.

Lassen, B., Viltrop, A., Raaperi, K y Jarvis, T. (2009). *Eimeria* and *Cryptosporidium* in Estonian dairy farms in regard to age, species, and diarrhoea. *Vet Parasitol.* 166(3-4):212-219.

Leander, B.S., Clopton, R.E. y Keeling, P.J. (2003). Phylogeny of gregarines (*Apicomplexa*) as inferred from small-subunit rDNA and beta-tubulin. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53(1):345–354.

Lee, S.U., Joung, M., Nam, T., Park., W.Y., Ji, Y.H. y Yu, J.R. (2011). *Cryptosporidium parvum*: radiation-induced alteration of the oocyst proteome. *Exp Parasitol.* 127(1):25-30.

Lindsay, D.S., Upton, S.J., Owens, D.S., Morgan, U.M., Mead, J.R. y Biagburn, B.L. (2000). *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (*Apicomplexa*: *Cryptosporiidae*) from cattle, *Bos taurus*. *J. Eukaryot Microbiol.* 47 (1):91-95.

Losinger , W.C. y Heinrichs, A.J. (1997). Factores asociados con alta mortalidad por diarrea en terneras antes del destete. *Archivos de Zootecnia*. 46 (176):311-322.

Luján, Z.N. y Garbossa, G. (2008). *Cryptosporidium*: cien años después. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam*. 42(2):195-201.

Maikai, B.V., Umoh, J.U., Kwaga, J.K., Lawal, I.A., Maikai, V.A., Cama, V. y Xiao, L. (2011). Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in native breeds of cattle in Kaduna State, Nigeria. *Vet. Parasitol*. 178(3-4): 241-245.

Manque, P.A., Tenjo, F., Woehlbier, U., Lara, A.M., Serrano, M.G., Xu, P., Alves, J.M., Smeltz, R.B., Conrad, D.H., y Buck, G.A. (2011). Identification and immunological characterization of three potential vaccinogens against *Cryptosporidium* species. *Clin. Vacc. Immunol*. 18(11):1796–1802.

Masuno, K., Yanai, T., Hirata, A., Yonemaru, K., Sakai, H., Satoh, M., Masegi, T. y Nakai, Y. (2006). Morphological and immunohistochemical features of *Cryptosporidium andersoni* in cattle. *Vet. Pathol*. 43(2):202–207.

McDonald, V. (2011). Cryptosporidiosis: host immune responses and the prospects for effective immunotherapies. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther*. 9(11):1077-1086. DOI:10.1586/eri.11.123.

Mebus, C.A., Stair, E.L., Underdahl, N.R., Twiehaus, M.J. (1971). Pathology of neonatal calf diarrhea induced by a reo-like virus. *Vet. Pathol*. 8:490-505.

Mills, K.W. y Tietze, K.L. (1984). Monoclonal antibody enzyme-linked immunosorbent assay for identification of K99-positive *Escherichia coli* isolates from calves. *J. Clin. Microbiol*. 19:498-501.

Mitra, A. K., Mahalanabis, D., Ashraf, H., Unicomb, L., Eeckles, R. y Tzipori, S. (1995). Hyperimmune cow colostrum reduces diarrhoea due to rotavirus: A double-blind, controlled clinical trial. *Acta Paediatr.* 84:996–1001.

Morgan, U.M., Pallant, L., Dwyer, B.W., Forbes, D.A., Rich, G. y Thompson, R.C. (1998). Comparison of PCR and microscopy for detection of *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens: clinical trial. *J. Clin. Microbiol.* 36 (4):995-998.

Naciri, M., Mancassola, R., Reperant, H.M., Canivez, O., Quique, B. y Yvore, P. (1994). Treatment of experimental ovine cryptosporidiosis with ovine or bovine hyperimmune colostrum. *Vet. Parasitol.* 53:173-190.

Naylor, S.W., Nart, P., Sales, J., Flockhart, A., Gally, D.L. y Low, C.J. (2007). Impact of the direct application of therapeutic agents to the terminal recta of experimentally colonized calves on *Escherichia coli* O157:H7 shedding. *Appl. Envir. Microbiol.* 73:1493-1500

Nussbaum, D.J., Salord, J.R., y Rimmele, D.D. (1999). Evaluation of quantitative latex agglutination for detection of *Cryptosporidium parvum*, *E. Coli* K99, and Rotavirus in calf feces. *J. Vet. Diagnost. Invest.* 11:314-318.

Okhuysen, P. C., Chappell, C.L., Crabb, J., Valdez, L.M., Douglass, E.T. DuPont, H.L. (1998). Prophylactic effect of bovine anti-*Cryptosporidium* hyperimmune colostrum immunoglobulin in healthy volunteers challenged with *Cryptosporidium parvum*. *Clin. Infect. Dis.* 26:1324–1329.

Ollivett, T.L., Nydam, D.V., Bowman, D.D., Zambriski, J.A., Bellosa, M.L., Linden, T.C., y Divers, T.J. (2009). Effect of nitazoxanide on cryptosporidiosis in experimentally infected neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 92:1643–1648.

Ortolani, E.L. y Castro S.P. (2003). Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en becerros de rebaños lecheros. *Parasitol. Latinoam.* 58: 122-127.

Pakkanen, R. y Aalto, J. (1997). Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *Inv. Dairy J.* 7:285-291

Pancier, R.J., Thomassen, R.W. y Garner, F.M. (1971). Cryptosporidial infection in a calf. *Vet. Pathol.* 8:479-484.

Petrie, L. (1984). Maximizing the absorption of colostral immunoglobulins of in the newborn dairy calf. *Vet. Rec.* 114:157-163.

Polage, C.R. Stoddard, G.J., Rolfs, R.T. y Petti, C.A. (2011). Physician use of parasite tests in the United States from 1997 to 2006 and in a Utah *Cryptosporidium* outbreak in 2007. *J. Clin. Microbiol.* 49(2):591–596.

Quigley, J. (1998). Usando el calostrómetro para medir la calidad del calostro. Nota acerca de Terneros No. 22. Calf Notes.

<http://www.calfnotes.com/pdf/CN022e.pdf>

Quilez, C.J., Sánchez, A.C., Del Cacho, M.E. y López, B.F. (1996). Prevalence of *Cryptosporidium* infections in pigs in Aragon. *Vet. Parasitol.* 67: 83-88.

Quilez, C.J., Vergara-Castiblanco, C., Monteagudo, L., del Cacho, E. y Sánchez-Acedo, C. (2011). Multilocus fragment typing and genetic structure of *Cryptosporidium parvum* isolates from diarrheic preweaned calves in Spain. *Applied Environ. Microbiol.* 77(21): 7779–7786.

Reynolds, D.J. y Morgan, J.H., (1986). Microbiology of calf diarrhea in Southern Britain. *Vet. Rec.* 119: 34-39.

Riggs, M.W., Cama, V.A., Leary, H.L. y Sterling, C.R. (1994). Bovine antibody against *Cryptosporidium parvum* elicits a circumsporozoite precipitate-like reaction and has immunotherapeutic effect against persistent cryptosporidiosis in SCI D mice. *Infect. Immun.* 62:1927-1939.

Rodríguez-Hernández, J., Canut-Blasco, A., Ledesma-García, M. y Martín-Sánchez, A.M. (1994). *Cryptosporidium* oocysts in water for human consumption. comparison of staining methods. *Eur. J. Epidemiol.* 10 (2):215-218.

Sanchez, R.O., Romero, J.R., y Founroge, R.D. (2008). Dynamics of *Eimeria* oocyst excretion in dairy calves in the Province of Buenos Aires (Argentina), during their first 2 months of age. *Vet. Parasitol.* 151(2-4):133-138.

Sanford, S.E. y Josephson, G.K.A. (1982). Bovine Cryptosporidiosis: Clinical and pathological findings in forty-two scouring neonatal calves. *Can. Vet. J.* 23:343-347.

Santin, M., Trout, J.M., Xiao, L., Zhou, L., Greiner, E. y Fayer, R., (2004). Prevalence and age related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet. Parasitol.* 122:103–117.

Santin, M., Trout, J.M. y Fayer, R. (2008). A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Vet. Parasitol.* 155(1-2):15-23.

Santos, R.L., Zhang, S., Tsolis, R.M., Bäumlner, A.J. y Adams, L.G. (2002). Morphologic and molecular characterization of *Salmonella typhimurium* infection in neonatal calves. *Vet. Pathol.* 39:200.

Satoh, M., Hikosaka, K., Sasaki, T., Suyama, Y., Yanai, T., Ohta, M. y Nakai, Y. (2003). Characteristics of a novel type of bovine *Cryptosporidium andersoni*. *Appl. Envir. Microbiol.* 69:691-692.

Singh, B.B., Sharma, R., Kumar, H., Banga, H.S., Aulakh, R.S., Gill, J.P. y Sharma, J.K. (2006). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Punjab (India) and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Vet. Parasitol.* 140(1-2):162-165.

Shing, I., Carville, A. y Tzipori, S. (2011). Cryptosporidiosis in *Rhesus Macaques* challenged during acute and chronic phases of SIV infection. *Aids Res. Hum. Retrovirus.* 27(9):989-997. DOI:10.1089/aid.2010.0229.

Šlapeta, J. (2011). Naming of *Cryptosporidium pestis* is in accordance with the ICZN Code and the name is available for this taxon previously recognized as *C. parvum* 'bovine genotype'. *Vet. Parasitol.* 177(1-2):1-5.

Stelwagen, K., Carpenter, E., Haigh, B., Hodgkinson, A. y Wheeler, T.T. (2009). Immune components of bovine colostrum and milk. *J. Anim. Sci.* 87(Suppl. 1):3–9. DOI:10.2527/jas.2008-1377.

Stěpánek, J., Salajka, E., Zuffa, A., Mensík, J., Franz, J. (1987). A new polyvalent vaccine against enteral infections in newborn calves. *Vet. Med.* 32(2):65-80.

Stott, G.H., Marx, D.B., Menefee, B.E. y Nightengale, G.T. (1979). Colostral immunoglobulin transfer in calves. II. The rate of absorption. *J. Dairy Sci.* 62:1766-1773.

Stott, G.H. y Fella, A. (1983). Colostral immunoglobulin absorption linearly related to concentration for calves. *J. Dairy Sci.* 66:1319-1328.

Stuart W.N., Flockhart, A., Nart, P., Smith, D.G., Huntley, J., Gally, D.L. y Low, J.C. (2007). Shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in calves is reduced by prior colonization with the homologous strain. *Appl. Envir. Microbiol.* 73: 3765 - 3767.

Takamura, K., Matsumoto, Y. y Shimizu, Y. (2002). Field study of bovine coronavirus vaccine enriched with hemagglutinating antigen for winter dysentery in dairy cows. *Can. J. Vet. Res.* 66:278-281.

Templeton, T.J., Enomoto, S., Chen, W.J., Huang, C.G., Lancto, C.A., Abrahamsen, M.S. y Zhu, G. (2010). A Genome-Sequence survey for *Ascogregarina taiwanensis* supports evolutionary affiliation but metabolic diversity between a *Gregarine* and *Cryptosporidium*. *Mol. Biol. Evol.* 27(2):235–248.

Tiranti, K., Larriestra, A., Vissio, C., Picco, N., Alustiza, F., Degioanni, A. y Vivas, A. (2011). Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp., spatial clustering and patterns of shedding in dairy calves from Córdoba, Argentina. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 20(2):140-147.

Traversa, D. (2010). Evidence for a new species of *Cryptosporidium* infecting tortoises: *Cryptosporidium ducismarci*. *Paras. Vect.* 3:21.doi:10.1186/1756-3305-3-

Trotz-Williams, L.A., Jarvie, B.D., Martin, S.W., Leslie, K.E. y Peregrine, A.S. (2005). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Can. Vet. J.* 46:349–351.

Tzipori, S.R., Makin, T.J., Smith, M.L. y Krautil, F.L. (1981). Clinical manifestations of diarrhea in calves infected with rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 13:1011-1016.

Tzipori, S.R. y Griffiths, J. (1998). Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum*. *Adv. Parasitol.* 40:5-36.

Vega, C., Bok, M., Chacana, P., Saif, L., Fernandez, F. y Parreño, V. (2011). Egg Yolk IgY: Protection against Rotavirus induced diarrhea and modulatory effect on the systemic and mucosal antibody responses in newborn calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 142(3-4):156–169. DOI:10.1016/j.vetimm.2011.05.003.

Wang, R., Ma, G., Zhao, J., Lu, Q., Wang, H., Zhang, L., Jian, F., Ning, C. y Xiao, L. (2011a). *Cryptosporidium andersoni* is the predominant species in post-weaned and adult dairy cattle in China. *Parasitol. Int.* 60(1):1-4.

Wang, R., Zhang, X., Zhu, H., Zhang, L., Feng, Y., Jian, F., Ning, C., Qi, M., Zhou, Y., Fu, K., Wang, Y., Sun, Y., Wang, Q. y Xiao, L. (2011b). Genetic characterizations of *Cryptosporidium* spp and *Giardia duodenalis* in humans in Henan, China. *Exp. Parasitol.* 127(1):42-45.

Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U. y Upton, S.J. (2004). *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin. Microbiol. Rev.* 17:72–97.

Xiao, L., y Feng., Y. (2008). Zoonotic cryptosporidiosis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 52:309–323.

Xiao, L. y Herd, R.P. (1993). Quantitation of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in fecal samples by direct immunofluorescence assay. *J. Clin. Microbiol.* 31(11): 2944-2946.

Yeruham, I., Elad, D., Mechani, M. y Lublin, A. (2005). Outbreak of salmonellosis in calves in a dairy herd caused by monophasic *Salmonella* serovar 9,12:l,v:-. *Vet. Rec.* 157(24):778-779.

Zheng, J., Ren, W., Pan, Q., Wang, Q., Elhag, I.A., Li, J., Li, M., Gong, P., Liu, Y., Zhang, X. (2011). A recombinant DNA vaccine encoding *C. andersoni* oocyst wall protein induces immunity against experimental *C. parvum* infection. *Vet Parasitol.* 179(1-3):7-13. DOI: 10.1016/j.vetpar. 2011.02.016.