

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**Determinación de Criptosporidiosis en ganado bovino de carne proveniente
de agostaderos de Canatlán, Durango México**

POR

SERGIO ALFREDO ZAPATA ADAME

TESIS

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

MARZO DE 2016

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**Determinación de Criptosporidiosis en ganado bovino de carne proveniente
de agostaderos de Canatlán, Durango México**

POR

SERGIO ALFREDO ZAPATA ADAME

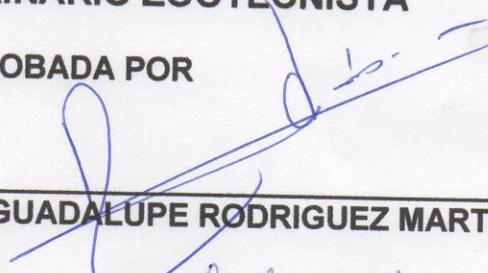
TESIS

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

ASESOR PRINCIPAL:



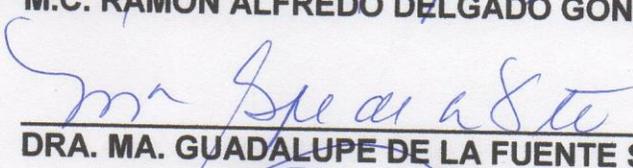
M.V.Z. J. GUADALUPE RODRIGUEZ MARTINEZ

VOCAL:



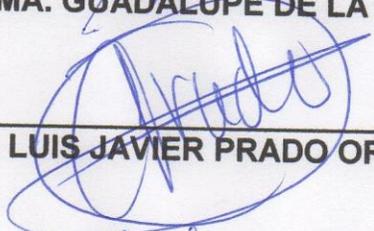
M.C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL:

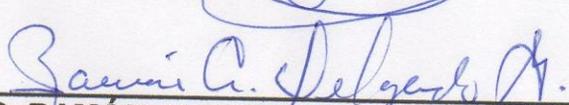


DRA. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO

VOCAL SUPLENTE:



M.V.Z. LUIS JAVIER PRADO ORTÍZ



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



TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

MARZO DE 2016

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**Determinación de Criptosporidiosis en ganado bovino de carne proveniente
de agostaderos de Canatlán, Durango México**

POR

SERGIO ALFREDO ZAPATA ADAME

TESIS

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

ASESOR PRINCIPAL:

[Signature]

M.V.Z. J. GUADALUPE RODRIGUEZ MARTINEZ

ASESOR:

[Signature]

M.C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

ASESOR:

[Signature]

DRA. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO

ASESOR:

[Signature]

M.V.Z. LUIS JAVIER PRADO ORTÍZ

[Signature]

M.C. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL la División
Regional de Ciencia Animal



TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

MARZO DE 2016

DEDICATORIAS

A MI PADRE JOSÉ SANTOS ZAPATA CHÁVEZ A ti papa por guiar mis pasos, por cuidarme y sobre todo por darme la oportunidad de seguir adelante, has sido el hombre más admirable y maravilloso del mundo, el padre trabajador que se ha esforzado y sufrido día con día para sacar adelante a su familia gracias a tu apoyo tus consejos, alegría y dureza he logrado terminar mi profesión, has sido el padre más comprensible y ejemplar gracias por creer en mí, por estar siempre a mí ,lado por inculcarme tus valores, me enseñaste a trabajar y sobre todo por enseñarme a enfrentar mis problemas. Solo tu sabes cuanto te valoro, te respeto y te admiro eres grandioso.

A MI MADRE MARÍA TRINIDAD ADAME ZAMUDIO A ti mama que con tu cariño y amor siempre estuviste al pendiente de mí, por ser la mujer más valiente, la que se enfrentó a todo para que saliera adelante, por guiar mis pasos para que no cayera y sobre todo por darme tus consejos, tu apoyo incondicional y como profesionista, gracias por estar siempre a mi lado. Solo tú sabes cuánto te valoro quiero y admiro porque eres grandiosa en todos los sentidos eres una gran mama gracias por apoyarme cuando más lo necesitaba.

A MI HIJO ALFREDO ZAPATA SOTO Gracias por enseñarme a ser un papa responsable es una bendición tener un hijo tan maravilloso como tu desde que llegaste a mi vida solo me has llenado de amor, bendiciones y alegría tu eres el motivo por quien sigo adelante seguir superándome para que no te falte nada y día con día ser un mejor papa, cada minuto que paso contigo haces un año de felicidad inolvidable Tu eres todo para mii.

A MI ESPOSA VALERIA SOTO ALVARADO Con todo mi amor para la esposa más maravillosa, dulce y tierna del mundo, gracias por tu apoyo incondicional ahora tú y mi hijo son mi presente y mi futuro, la fuerza que necesito para seguir adelante superándome y ser un mejor padre y esposo. Gracias por pasar conmigo

los mejores momentos, contigo he vivido muchas alegrías, pero sobre todo gracias por darme un hijo tan maravilloso, el cual cambio nuestras vidas para bien y nos a llenado de amor y felicidad.

A MIS HERMANOS SERGIO ALEJANDO, JOSÉ ANTONIO, JESÚS GERARDO, JOSÉ SANTOS Y A ROSA ELVA Gracias por apoyarme en mis decisiones, por dame los buenos consejos que necesitaba cuando se me presentaba los problemas, por apoyarme cuando más lo necesita con mi familia son unos hermanos grandiosos le doy gracias a dios porque me todo la mejor familia del mundo y nunca me han dejado solo.

AGRADECIMIENTOS

A MI ALMA TERRA MATER Por darme la oportunidad de formarme como profesionalista, y sobre todo por darme la herramienta necesaria para poderme enfrentarme a la vida profesionalmente a mis maestros por pasar cada minuto de su valioso tiempo en clases conmigo para compartir cada uno de sus conocimientos y experiencias para formarme y salir a enfrentar los problemas de salud en los animales.

MVZ. J. GUADALUPE RODRIGUEZ MARTINEZ por brindarme la oportunidad de colaborar con él en el proyecto de mi tesis, por darme su amistad y compartir conmigo sus experiencias transmitiéndome conocimientos, muchas gracias por todo el apoyo brindado.

A MIS ASESORES DE TESIS, M.C. Ramón Alfredo Delgado González, M.V.Z. Luis Javier Prado Ortiz, Dra. Ma. Guadalupe de la Fuente Salcido, por todos esos consejos y observaciones que me ayudaron a mejorar mi trabajo además de compartir su amistad y convivencia con mi persona.

A MIS COMPAÑEROS por esa convivencia a lo largo de toda la carrera, por compartir grandes momentos, por su amistad, apoyo y trabajo en conjunto.

RESUMEN

La Criptosporidiosis es una enfermedad causada por un protozooario apicomplejo llamado *Cryptosporidium* spp. Afecta principalmente a becerros de 7 a 21 días de edad, sin embargo se ha reportado en animales jóvenes de hasta 1 año de edad y en animales adultos. En nuestro país es bien conocida la prevalencia en ganado lechero, sin embargo en ganado criollo se han registrado pocos estudios. La finalidad de la presente investigación fue determinar la presencia de *Cryptosporidium* spp en ganado bovino productor de carne proveniente de agostaderos del municipio de Canatlán, en el Estado de Durango en Durango en México. Se recolectaron 100 muestras de heces del recto de animales de 2 días hasta los 10 meses de edad, fueron transportadas en refrigeración al Laboratorio de Parasitología de la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, dónde se realizaron frotis, se secaron al aire y se tiñeron con la tinción de Ziehl Neelsen modificada. Las muestras se observaron con un microscopio de luz visible (40X) para determinar la presencia del parásito. En ninguna muestra se evidenciaron protozoarios característicos de *Cryptosporidium* spp. En ganado de engorda de agostadero del municipio de Canatlán, Durango, no se encontraron Criptosporidias por lo cual se puede concluir que la presencia del parásito es limitada, ya que los reportes existentes mencionan que la infección depende del hacinamiento de los animales y a la contaminación del agua.

Palabras clave: Criptosporidiosis, *Cryptosporidium*, bovinos productores de carne, agostadero, parasitosis.

ÍNDICE

Página

<u>DEDICATORIAS</u>	I
<u>AGRADECIMIENTOS</u>	III
<u>RESUMEN</u>	IV
<u>II. OBJETIVO</u>	2
<u>III. HIPÓTESIS</u>	2
<u>IV. JUSTIFICACIÓN</u>	2
<u>V. REVISIÓN DE LITERATURA</u>	3
5.1. HISTORIA.....	3
5.2. ETIOLOGÍA	3
5.2.1. MORFOLOGÍA	4
5.2.2. CICLO BIOLÓGICO.....	5
5.3. EPIDEMIOLOGÍA.....	6
5.3.2. TRANSMISIÓN.....	9
5.3.3. FUENTES DE CONTAMINACIÓN	10
5.4. SIGNOS Y LESIONES	11
5.4.1. PATOGENIA	12
5.5. PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO	13
<u>VI. MATERIALES Y METODOS</u>	15
6.1. MARCO DE REFERENCIA.....	15
6.2. FASE DE CAMPO	15
6.3. FASE DE LABORATORIO.....	15
6.4. PREPARACIÓN DE LA TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN	16
6.4.2. INTERPRETACIÓN DE LAS OBSERVACIONES	16
<u>VII. RESULTADOS Y DISCUSION</u>	17

VIII. CONCLUSIONES 19

IX. LITERATURA CITADA..... 20

I. INTRODUCCIÓN

El *Cryptosporidium spp*, parásito protozoario intestinales que infectan a una amplia gama de especies hospedadoras (Coklin *et al.*, 2007). Son parásitos unicelulares que habitan en el epitelio de la mucosa del intestino o el estómago de una variedad de huéspedes vertebrados y ha sido reportado en todo el mundo (Thompson *et al.*, 2008). En el ganado bovino, afecta tanto a razas de carne como de leche y la prevalencia de la infección por *C. parvum* en terneros con diarrea es del 10 a 80 %, aunque el porcentaje se ha calculado en un 59%, aunque puede variar de 22 a 30 % (Joachim *et al.*, 2003).

Sin duda de las especies la más afectada es la bovina y los jóvenes son los más afectados. El síndrome diarreico tiene una etiopatogenia compleja, pues cuando el *Cryptosporidium* es el único causante la mortalidad es baja, sin embargo, cuando este se asocia con otros agentes infecciosos la mortalidad puede ser alta, y depende del grado de inmunidad, del estado nutricional del huésped y condiciones sanitarias deficientes proveerán un riesgo mayor de contagio y presencia de la enfermedad (Castro-Hermida *et al.*, 2006).

A menudo se detecta la infección por *C. parvum* en combinación con otros enteropatógenos tales como *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Escherichia coli* K99 o especies de *Salmonella*, aun cuando muchos estudios experimentales e investigaciones en el campo han demostrado que *Cryptosporidium* puede actuar como un patógeno primario (Fayer *et al.*, 2010). A pesar de la amplia aparición y la importancia médica y veterinaria, sin duda, los datos acerca de su especificidad de huésped son bastante incompletos (Coklin *et al.*, 2007).

II. OBJETIVO

2.1. Objetivo General

2.1.1. Determinar la presencia de *Cryptosporidium spp* en bovinos criollos productores de carne, de agostadero del municipio de Canatlán, Durango, México.

2.2. Objetivo específico

2.2.1. Identificar *Cryptosporidium spp* de heces de bovinos utilizando la técnica de Ziehl Neelsen Modificada.

III. HIPÓTESIS

El ganado bovino productor de carne de agostaderos del Municipio de Canatlán del estado de Durango presentan *Cryptosporidium spp*.

IV. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo a los antecedentes descritos, donde se describen estudios que muestran la presencia de *Cryptosporidium spp* en ganado productor de carne, y considerando que en México hay escasas investigaciones al respecto y sobre todo en el Estado de Durango no hay estudios, el presente estudio pretende determinar la presencia de criptosporidias en ganado bovino de carne proveniente de agostaderos del municipio de Canatlán, Durango, México.

V. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. Historia

Es posible que el *Cryptosporidium* fuera originalmente un parasito de roedores que se ha establecido recientemente en el ganado (Fayer *et al.*, 2000). En efecto, la primera especie de este género de *Cryptosporidium* fue establecida por Ernest Edward Tyzzer en 1907 la cual fue encontrado afectando a las glándulas gástricas de un ratón al cual nombro *C. parvum* y posteriormente fue encontrado en el intestino delgado de un ratón (Tyzzer, 1910; Lihua Xiao *et al.*, 2004).

5.2. Etiología

Desde que el género fue descrito, más de 20 especies de *Cryptosporidium* han sido asociadas en varios hospedadores mamíferos (Caccio *et al.*, 2013). Los huéspedes susceptibles se infectan a través de la ingestión de ooquistes esporulados (Fayer *et al.*, 2000). Viven en el epitelio de la mucosa de las vías respiratorias y gastrointestinales de una variedad de huéspedes vertebrados con prevalencias que van desde 20 a 80% en terneros (Fayer *et al.*, 2007).

En el ganado bovino *C. parvum* ha sido identificado como uno de los principales agentes etiológicos de la diarrea en neonatos (Nasir *et al.*, 2013). Esto debido a que los ooquistes de *Cryptosporidium* son infectados desde el momento en que son excretados por el huésped ya que resisten al medio ambiente, por lo que sobreviven por largos tiempos en diferentes ambientes (Olson *et al.*, 2004). La amplia diversidad de huéspedes de *Cryptosporidium* es favorecida por la capacidad de *C. parvum* de infectar varios tipos de mamíferos, además de su diversidad genética (Morgan *et al.*, 2000; (Olson *et al.*, 2004).

La forma más común de infectarse con este parasito es por vía fecal-oral (Fayer *et al.*, 2000). *C. parvum* es el responsable del 85 % de infecciones gastrointestinales

en becerros no destetados, y solo en el 1% en destetados. Los destetados y el ganado adulto son mayormente infectados por *C. bovis*, *C. andersoni*, y el genotipo *C. deer like* (Santin *et al.*, 2004). Muchas investigaciones se han realizado por más de 60 años sobre *Cryptosporidium*, acerca de cómo este protozoo afecta a humanos y animales, donde en estudios epidemiológicos *C. parvum* ha sido aislado de múltiples especies de mamíferos, incluyendo al ganado y al hombre, siendo *C. hominis* el que afecta exclusivamente al hombre (Thompson *et al.*, 2008).

5.2.1. Morfología

La especie *Cryptosporidium* es un protozoo parásito que se encuentra distribuido alrededor del mundo y es hallado en el epitelio gastrointestinal de aves, reptiles, peces y mamíferos (Hannes *et al.*, 2006). Es un agente etiológico importante en el síndrome diarreico neonatal en el ganado, corderos y cabritos, el cual causa considerables pérdidas directa e indirectamente (Santin y Zarlenga, 2009).

La forma de diagnosticar es en materia fecal, de *Cryptosporidium* corresponde a la forma de ooquiste son muy pequeños esféricos y ovoides. El *C. muris* tiene un promedio de 5.6 y 7.4 micrómetros y el *C. parvum* mide de 4 a 6 micrómetros. Son los más infecciosos para la mayoría de los animales; cada uno de los ooquistes esporulados contienen 4 esporozoitos, compuesto de numerosos gránulos pequeños y limitados por una membrana globular esferoide, la pared de los ooquistes es lisa y sin color. Se estima que aproximadamente un 80 % de los ooquistes que se forman tienen una pared gruesa y cuando se eliminan por las heces son muy infectantes para los animales que hay en su alrededor. Los ooquistes el 20% poseen una pared fina que se rompe tras su salida de la célula, permitiendo la liberación de los esporozoitos que invaden nuevas células epiteliales (Fayer *et al.*, 2005).

5.2.2. Ciclo Biológico

Los ooquistes en su estado de transmisión infectan al huésped susceptible vía fecal–oral, tienen un ciclo de vida monoxeno donde todos los estados de desarrollo asexual y sexual ocurren en un solo huésped (Fayer *et al.*, 2000).

La reproducción asexual se produce mediante dos fases de esquizogonia, en el curso de las cuales se desarrollan dos tipos de esquizontes que tras la rotura de la vacuola parasitófora liberan a la luz intestinal ocho y cuatro merozoitos. La reproducción sexuada o gametogonia se inicia cuando estos últimos parasitan nuevas células y da lugar a la formación de macro y microgametos. Los microgametos se liberan de la vacuola parasitófora y se introducen en células parasitadas por macrogametos, donde tiene lugar la fecundación. La formación del cigoto va seguida por la secreción de una o dos cubiertas que lo envuelven para formar el ooquiste. A partir de aquí se inicia el proceso de esporogonia en el cual el cigoto sufre uno o más ciclos de división mitótica, en el interior de la célula hospedadora mediante dos decisiones asexuales del ciclo y tiene como consecuencia la formación de un ooquiste que contiene 4 esporozoitos infectivos alargados y un cuerpo residual que escapan a través de una fisura que se abre en la pared del ooquiste, y por tanto son directamente infectantes para otro huésped y favorecidos por las fluctuaciones de pH en el tracto gastrointestinal, las sales biliares, las enzimas pancreáticas y la temperatura (Quilez *et al.*, 2008;).

Los esporozoitos libres se adhieren a las células epiteliales donde ellos se internan dentro de vacuolas parasitarias y se desarrollan a estados de trofozoitos. El trofozoito pasa a ser Meronte I, donde la multiplicación es asexual, a la que se llama esquizogonia o merogonia, cuando el trofozoito se divide en núcleos, *C. parvum* tiene 2 tipos de esquizogonia o merontes. Para *C. parvum* el tipo I desarrolla de 6 a 8 núcleos, mientras se incorporan dentro del merozoito a un estado estructuralmente similar al esporozoito. Mientras maduran los merozoitos, repiten a la esquizogonia infectan a otras células del hospedador desarrollando

dentro otros tipos: tipo I Y II en el cual se producen 4 merozoitos, solo los merozoitos de tipo II inician la multiplicación sexual (gametogonia) nuevas células al hospedador a estado de microgametos, masculino y macrogametos, femenino (Fayer *et al.*, 2006).

Todo el ciclo de vida ocurre en los enterocitos en vacuolas parasitóforas situada en el borde de la cerda entre la membrana del plasma y el citoplasma o en el lumen (Smith *et al.*, 2005). El mecanismo por el cual los ooquistes llegan a la eclosión es poco entendido, tanto como el del huésped como el de parásito. In vitro los estudios de eclosión para *C. parvum* tratan de imitar las condiciones biológicas de un organismo tales como la temperatura de 37 grados centígrados, fluctuaciones de PH, sales biliares, agentes reductores, proteasas y tiempo; pero aun así existe una incomprensión en la jerarquía o sinergismo de los mecanismos específicos por falta de estandarización (Smith *et al.*, 2005). Lo que sí es un hecho es que los rangos de eclosión disminuyen con una temperatura de 4 grados centígrados con lo cual se da soporte a la hipótesis de que al incrementarla a 37 grados centígrados se activan la eclosión, incluso en la ausencia de estímulo alguno por parte del huésped (Lihua Xiao *et al.*, 2004).

5.3. Epidemiología

En término epidemiológico, los ooquistes de *Cryptosporidium* presentan características biológicas trascendentales: tamaño pequeño, dureza extraordinaria, resistencia al tratamiento con cloro y con ácidos, viabilidad prolongada de hasta varios meses en el ambiente, excreción de estadios infectivos, estas circunstancias unidas a la baja dosis infectante (10-100 ooquistes) y la ausencia de un tratamiento farmacológico eficaz, facilita la difusión de la enfermedad, para infectar a otros organismos con un considerable potencial zoonótico (Quilez *et al.*, 2008). Mientras más malas son las condiciones sanitarias del ambiente, principalmente en donde permanecen los becerros, mayor será el riesgo de contagio y presencia de la enfermedad (Castro-Hermida *et al.*, 2002).

Las fuentes de infección y el modo de transmisión son muy variados, cepas de una especie de animal puede infectar a otras (Keshavarz *et al.*, 2009). Además de pérdidas económicas considerables, las infecciones en el ganado son fuente importante para la infección zoonótica (Amer *et al.*, 2010). Los datos sobre prevalencia muestran variaciones. Estas podrían estar relacionadas con las condiciones epidemiológicas, la zona geográfica estudiada, la historia clínica del rebaño, el sistema de explotación, las prácticas de higiene, el manejo y la edad al momento de muestreo de los bovinos e incluso, con el número de muestras examinadas por animal (Díaz *et al.*, 2010).

Sin embargo, hasta el momento, *C. parvum* se conoce que infecta principalmente a los rumiantes (vacas, becerros, becerras, ovejas, cabras) y a humanos, aunque hay informes anteriores de infecciones por *C. parvum* que naturalmente ocurrían en cerdos y ratones (Morgan *et al.*, 2000). En los rumiantes domésticos la criptosporidiosis afecta tanto a razas de carne como de leche y la prevalencia de la infección por *C. parvum* en terneros con diarrea es del 10 a 80 %. La prevalencia de hatos se ha calculado en un 59% y el número en terneros infectados varía desde 22 a 30 % (Del Cocco *et al.*, 2008). A diferencia de las infecciones por *C. parvum*, caracterizado por diarrea acuosa profusa, *C. andersoni* y otras infecciones de especies de *Cryptosporidium* se han asociado con pocos o ningún signo clínico y no hay informes de patologías subclínicas en la mayoría de los casos (Santin y Zarlenga, 2009).

Existe evidencia que ganado podrían estar infectados con al menos 10 diferentes especies o genotipos de *Cryptosporidium*, razón por la cual es considerado el principal reservorio de *Cryptosporidium* para infecciones humanas (Xiao *et al.*, 2007). Estudios realizados en los Estados Unidos revelaron que los terneros en particular a las 2 semanas de edad excretan ooquistes de *C. parvum* (Santin *et al.*, 2008). En el ganado bovino, el coloniza el intestino delgado y es un

importante agente etiológico en el síndrome de diarrea neonatales en animales jóvenes (Del Coco *et al.*, 2008).

Es de interés particular para la salud pública por que puede persistir por largos periodos en el ambiente. Por su parte el *C. andersoni* que se desarrolla en el abomaso de bovinos adultos muestra una prevalencia baja (Li *et al.*, 2013). En terneros la prevalencias es de 45,8% de la semana 1 a la octava de vida. En vacas lecheras fue significativamente más baja (Fayer *et al.*, 2007). También ha sido el más difundido entero patógeno identificando en los becerros neonatos. El 90% de las granjas de América protege de esta coccidia, y el 92% de vacas adultas asintomáticas tienen anticuerpos específicos de *C. Parvum*. IgM, IgG1, IgM2 (Heitman *et al.*, 2002).

5.3.1. Factores de Riesgo

1. Tamaño del hato. Existe una relación directa entre el número de animales del hato y el riesgo de infección. El riesgo es latente en aquellas explotaciones con alta carga animal, donde el hacinamiento favorece la transmisión del parásito. La alta carga animal contribuye a que los becerros permanezcan por más tiempo, favoreciendo la acumulación de ooquistes y contribuyendo a la contaminación del ambiente (de Graaf, 1999).

2. Edad de los animales. Los becerros neonatos son en particular susceptibles a la infección por *C. parvum*, se ha observado el parásito en becerros a los dos días de nacido, pero la mayor prevalencia ocurre a las dos semanas de edad. En animales mayores de un mes la excreción de ooquistes disminuye sensiblemente, también ha sido descrita la presencia del parásito en animales adultos, estos casos generalmente cursan en forma subclínica y con bajos niveles de infección (Abeywardena *et al.*, 2014).

3. Condiciones higiénicas, sanitarias y sistemas de manejo. En neonatos la exposición es importante para la exposición de la enfermedad, los sistemas de manejo donde los becerros están en contacto con otros el riesgo de transmisión es mayor, ya que incrementa la probabilidad de transmisión del parásito entre animales infectados y susceptibles. Se sugiere que la exposición inicial ocurre en los parideros, como consecuencia de la eliminación fecal de los ooquistes por vacas periparturientas (Faubert and Litvinsky, 2000). Debido a lo anterior las vacas adultas asintomáticas pueden desempeñar un papel importante en la epidemiología de la criptosporidiosis en becerros (Fayer *et al.*, 2005).

5.3.2. Transmisión

Para que pueda iniciar la infección la primera barrera que tiene que atravesar es el moco que protege al intestino con el cual el ooquiste del parásito no puede entrar en contacto directo con las vellosidades intestinales, pero este también tiene un método para degradar esta mucosidad la cual es que el esporozoito segrega proteínasa de cisteína la cual puede llegar a degradar la barrera y llegar a un contacto con los receptores del enterocito (Diaz-Lee *et al.*, 2011). Los becerros que son destinados para la producción de carne, la prevalencia de *C. parvum* puede ser muy alta en los sistemas de manejo intensivo, pero esta prevalencia es baja comparada con los becerros y becerras de ganadería lechera a pesar de que estos fueron criados bajo las mismas condiciones (Kvac *et al.*, 2006).

La transmisión ocurre vía ingestión de los ooquistes infecciosos, eliminados en las heces de un hospedador infectado (Power *et al.*, 2003), los animales adultos que actúan como portadores asintomáticos posibilitan el mantenimiento de la infección, la transmisión ocurre a través de la ruta fecal-oral, pero la infección puede resultar mediante la ingestión de agua subterránea contaminada o alimento contaminado o por contacto con fómites (Quilez *et al.*, 2013).

Los humanos pueden adquirir las infecciones de *Cryptosporidium* por varias rutas de transmisión directa, de persona a persona o gente que trabaja con animales, o por contacto con objetos contaminados, aunque la relativa importancia de esta ruta no es conocida (Lihua Xiao *et al.*, 2004). En los rumiantes domésticos, la principal fuente de infección son las heces excretadas por los animales neonatos con diarrea, aunque también hay que considerar la eliminación de ooquistes por los adultos que actúan como portadores asintomáticos. La ingestión del agua potable contaminada con los ooquistes es el principal modo de transmisión (Preiser *et al.*, 2003).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* son resistentes al medio ambiente, y la transmisión por medio del agua ha emergido como un problema de salud pública en todo el mundo. Especies de fauna, incluyendo ciervos, mapaches, ardillas y otros roedores salvajes y aves, han sido identificadas como una fuente importante de contaminación por *Cryptosporidium* en cuencas. Además, muchos de estos hospedadores han sido implicados en la transmisión zoonótica (Power *et al.*, 2003).

5.3.3. Fuentes de contaminación

Las fuentes de contaminación de agua superficial incluyen flujos de aguas residuales, descargas de aguas de desecho, desecho de materia animal fecal directa en el agua, la sedimentación indirecta vía derecho de tierra en donde el ganado pasta y/o vida salvaje, dispersión de estiércol y aguas residuales, y descargas de agua proveniente de tormentas. Los ooquistes de *Cryptosporidium* presentes en la tierra de depósitos animales han sido ligados cualitativamente y casualmente a eventos relacionados con el incremento de concentración de patógenos en arroyos y pantanos (Preiser *et al.*, 2003).

Los insectos también pueden exponerse a transportar *C. parvum* en su superficie exterior o también en su tracto intestinal. La mosca doméstica se expone a las

heces del bovino que contienen ooquistes de *C. parvum* transportando los ooquistes a otras superficies de declaración vía fecal, en el medio ambiente el ooquiste criptosporidial es extraordinariamente resistente a la desinfección química pero son susceptibles a temperatura extremas de frío y calor (pasteurización) (Rzezutka *et al.*, 2010).

5.4. Signos y Lesiones

La infección puede ser asintomática o bien, producir diarrea a veces acompañada de vómito, dolores espasmódicos en el abdomen y fiebre en los hospedadores aparentemente sanos (Del Coco *et al.*, 2008). Es caracterizada clínicamente por diarrea profunda y acuosa, a veces con secreciones mucoides teñidas con sangre, deshidratación, emaciación, anorexia, debilidad, letargia o tenesmo. La enfermedad es más severa y letal cuando se complica con otros enteropatógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Rotavirus* o *Coronavirus* en hospedadores inmunodeprimidos. *Cryptosporidium* ha sido identificado como el segundo agente infeccioso más común de diarrea en becerros (Klein *et al.*, 2009).

Provoca mala absorción, digestión y un cambio en la presión osmótica a través de la pared del intestino y en el flujo de fluido dentro del lumen del intestino. La mala absorción y la digestión deteriorada también ha sido reportadas en humanos infectados con *C. parvum*. La diarrea secretora común a la mayor de los pacientes inmunodeficientes con Criptosporidiosis sugiere una hipersecreción medida por una toxina dentro del intestino. Aunque el parásito normalmente se enquista en el intestino después de una o dos semanas la infección persiste en pacientes inmunodeficientes, con riesgos de muerte (Silverlas *et al.*, 2010).

La infección en el epitelio intestinal puede producir vellosidades romas, hiperplasia de la cripta, destrucción del citoesqueleto y disminución de la absorción de sodio (Ananta *et al.*, 2014). La inmunosupresión es el principal factor asociado con el desarrollo de la infección y contrario a lo que sucede con los individuos

inmunocompetentes el cuadro clínico no se auto limita y se acompaña de alta morbilidad, dada sobre todo por cuadros de diarrea persistente, deshidratación y desnutrición (Venu *et al.*, 2013).

5.4.1. Patogenia

En la patogenia de Criptosporidiosis, se ha encontrado que las causas de la destrucción de epitelios intestinales resultan de la reducción de vellosidades y microvellosidades, con hiperplasia de las criptas, *Cryptosporidium* rompe las uniones de las células epiteliales produciendo pérdida de epitelio de absorción intestinal y de enzimas digestivas unidas a las membranas, alteración del transporte de nutrientes y electrolitos, disminución de absorción de la glucosa y aumento de la secreción de cloro (Klein, 2008). Las prostaglandinas alteran el transporte del cloruro de sodio, primariamente por estimulación del sistema nervioso entérico (Fayer *et al.*, 2006).

Todos estos factores señalan que la Criptosporidiosis está asociada con mala absorción y diarrea secretora. Debido a la profunda diarrea experimentada por algunos pacientes, se ha propuesto que el parásito produce una enterotoxina que conduce a la secreción de cloruros, resultando en este tipo de diarrea (Chacín-Bonilla, 2008). El síndrome diarreico tiene una etiopatogenia completa, pues cuando el *Cryptosporidium* es el único causante la mortalidad es baja, pero dependiendo de su asociación con otros agentes infecciosos, del grado de inmunidad y del estado nutricional del huésped, la mortalidad puede ser alta, se hace sintomática solo en ausencia de los mecanismos normales de defensa, y por tanto con un sistema inmune inmaduro. La diarrea suele presentarse en situaciones de estrés como temperaturas bajas (Castro-Hermida *et al.*, 2006).

Mientras que las edades más afectadas, conforme a las revisiones son de 4 a 30 días, entre más malas son las condiciones sanitarias del ambiente, principalmente en donde permanecen los becerros, mayor será el riesgo de contagio y presencia

de la enfermedad (Castro-Hermida *et al.*, 2002). *C parvum* causa la pérdida de micro vellosidades, lo que resulta una mala absorción. El organismo se activa por el factor nuclear-KB (NF-KB) y otros sistemas. La activación de NF-KB induce la producción de citosinas y quimiocinas, como la interleucina-8, para desencadenar una reacción inflamatoria y anti-apoptótica de supervivencia, señales directamente en las células infectadas. *C parvum* induce la secreción de prostaglandina E2 (PGE2) en el lumen. La actividad de la enterotoxina, que produce la secreción de cloruro, se ha detectado en extractos de heces de los infectados terneros. *C parvum* induce la apoptosis en las células epiteliales. *C parvum* produce diferentes grados de atrofia de las vellosidades por un mecanismo desconocido, lo que produce la mala absorción (Xiao *et al.*, 2007).

5.5. Prevención y Tratamiento

Considerando que las infecciones por Criptosporidiosis son indicadas por la ingestión o inhalación de los ooquistes, las medidas para prevenir o eliminar la propagación de la infección deben ser dirigidas a eliminar o reducir el número de dichos estadios en el ambiente. El control constituye un desafío y su principal problema radica en la ausencia de medios efectivos para la prevención o tratamiento específico de la enfermedad (Fayer *et al.*, 2006). En la actualidad, no se dispone de fármacos satisfactorios capaces de prevenir o interrumpir el desarrollo del parásito. Aunque se han realizado investigaciones para evaluar la actividad de un gran número de agentes, ninguno ha sido consistentemente efectivo en ensayos controlados, en becerros experimentalmente infectados bajo condiciones controladas productos tales como (Lihua Xiao *et al.*, 2004).

El Lactato de halofuginona está probado como auxiliar en la prevención de la Criptosporidiosis. Este producto debe administrarse cada 24 horas durante los primeros 7 días de vida en la dosis recomendada por el laboratorio. No repercute en la ingesta de comida ni en la conversión alimenticia, además de dar como resultado un retraso en la infestación de *Cryptosporidium* y la eliminación de

ooquistes se reduce (Trotz-Williams *et al.*, 2005). La Halofuginona inhibe la excreción de ooquistes hasta 2 semanas de vida, pero la incidencia de la diarrea sólo se retrasa durante 3 días y no hay diferencia significativa en comparación con el grupo de control (Jarvie *et al.*, 2005). Es uno de los fármacos actualmente disponibles para el tratamiento de la Criptosporidiosis bovina, pero se sabe que es relativamente tóxica y se debe tener cuidado de no exceder la dosis terapéutica.

El tratamiento basado en Decoquinato de sodio a razón de 2.5 mg/kg pv/día, administrado a las becerras enfermas disminuye diarrea en un lapso de tres días y los animales pueden recuperarse en una semana (Lorenz *et al.*, 2011).

También se ha sugerido el uso de Paromicina en dosis de 1.5 a 2 g/día por 4 días, con lo que se logra una mejoría en los signos y hasta erradicación total del parásito, aunque dosis exageradas del producto puede provocar toxicidad.

Los concentrados de inmunoglobulinas de calostros de bovino Azitromicina y Lactobin-R han tenido algún éxito experimental. Ningún agente terapéutico se ha identificado claramente como eficaz (Fayer *et al.*, 2000). La administración profiláctica de paromomicina logra una gran diseminación de ooquistes y redujo el número de días con diarrea en terneros infectados experimentalmente (Lallemand *et al.*, 2006).

La Nitazoxanida (NTZ) es una sustancia antimicrobiana que se ha aplicado para los tratamientos antiparasitarios en perros, gatos, ovejas y cabras (Lorenz *et al.*, 2011).

VI. MATERIALES Y METODOS

6.1. Marco de Referencia

El estudio se realizó en las comunidades de Donato Guerra, Bruno Martínez, Miguel Hidalgo y Medina, del municipio de Canatlán, Durango, México, ubicado entre los paralelos 24°11'30" y 24°50'30" latitud Norte y los meridianos 104°30'15" y 105°35'45" longitud oeste, a un altura promedio de 2.000 metros sobre el nivel medio del mar (INEGI, 2015).

6.2. Fase de campo

Se tomaron muestras de heces frescas directamente del recto de 100 bovinos criollos productores de carne provenientes de agostaderos, las cuales fueron colectadas en envases de plástico y transportadas en refrigeración, con gel congelado, al Laboratorio de Patología de la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, para su posterior análisis.

6.3. Fase de laboratorio

Se realizaron extendidos de las heces y se secaron al aire para realizar la tinción de Ziehl Neelsen modificada para la observación directa de ooquistes de *Cryptosporidium spp*, se utilizó un microscopio óptico con el objetivo 40X. Los criterios de evaluación se basaron en la observación de los ooquistes. Se consideró como positiva aquella muestra que presentó uno o más ooquistes de *Cryptosporidium*, caracterizados como cuerpos redondos ligeramente elípticos de 5 µm de tamaño, teñidos de color rojizo con algunas granulaciones oscuras en su interior, contrastando con el azul (azul de metileno) del fondo del frotis (Diaz-Lee *et al.*, 2011).

6.4. Preparación de la tinción de Ziehl Neelsen

Se prepara Fucsina fenicada (Carbol fucsina) utilizando 10 g de Fucsina básica diluida en 1 L de agua destilada, 100 mL de alcohol absoluto y 50 mL de cristales de fenol. Para la solución madre de azul de metileno se utilizaron 1.4 g de colorante Azul de Metileno y se diluyeron en 100 mL de alcohol al 96%. Para la solución de trabajo se diluyó la solución madre en 90 mL de agua destilada. Se preparó alcohol ácido al 1% utilizando Ácido Clorhídrico en alcohol etílico al 70%.

6.4.1. Procedimiento de la tinción de Ziehl Neelsen.

Se realizaron frotis con las heces frescas en portaobjetos y se dejaron secar al aire, se enjuagaron con agua, para teñirlas con la técnica de Ziehl Neelsen modificada, de acuerdo con las siguientes especificaciones: Se sumergieron por 30 minutos en Carbol fucsina, posteriormente se lavaron en agua corriente hasta quitar el exceso de colorante, se decoloraron en alcohol ácido al 1% (alcohol al 70% al 1% de ácido clorhídrico) hasta obtener un color rosa en la tinción, y así eliminar el exceso del colorante, se realizó la contratinción con azul de metileno por 5 minutos, después se lavó con agua corriente hasta quitar el exceso de colorante. Las muestras se prepararon para observarlas al microscopio, utilizando resina sintética y cubreobjetos, para ello se aclararon las muestras con alcohol etílico al 96%, alcohol etílico absoluto y xilol.

6.4.2. Interpretación de las Observaciones

Se observaron 40 campos en 40X aumentos antes de dar un resultado como negativo y se clasificaron de la siguiente manera: 1 a 10 ooquistes (+) incipiente, 11 a 20 ooquistes (++) leve, 21 a 40 ooquistes (+++) moderado y > 40 ooquistes severo.

VII. RESULTADOS Y DISCUSION

No se observaron ooquistes del parásito protozooario *Cryptosporidium spp* en ninguna muestra de heces de bovinos productores de carne, criollos, provenientes de agostaderos del municipios de Canatlán, Durango, México. Los hallazgos son similares a los observados por Smith *et al.* (2005). En éste estudio numeran diversos factores de manejo que influyen en la epidemiología y manifestación clínica de la Criptosporidiosis en el ganado bovino el cual es altamente prevalente en becerros neonatos de explotaciones lecheras y también en becerros productores de carne confinados; esta infestación ocurre de manera muy rara en becerros sueltos en potrero o en ganado adulto (Smith *et al.*, 2005).

Otros estudios señalan que la mayoría de los estudios de Criptosporidiosis en bovinos se han sido conducidos en ganado lechero, siendo en comparación, relativamente escasos los reporte en bovinos de carne (Fayer *et al.*, 2008). Sin embargo, en bovinos adultos también ha sido reportada esta especie, sobretodo *C. andersoni* y generalmente cursa de forma subclínica y presenta bajos niveles de infección no obstante, en ocasiones se han señalado altas prevalencias en el caso de bovinos infectados natural y experimentalmente, que pueden excretar grandes cantidades de ooquistes sin que demuestren signos clínicos (Fayer *et al.*, 2000).

En vacas periparturientas no es común que se encuentren ooquistes de *Cryptosporidium*, sin embargo, se considera que los becerros neonatos adquieren la infección con este protozooario poco tiempo después de su nacimiento, como consecuencia de la eliminación fecal de ooquistes por parte de sus madres, especialmente durante el parto, siendo estas vacas la posible fuente de infección (Faubert and Litvinsky, 2000).

Estudios en Venezuela reportan que el 3% de las vacas estudiadas excretan ooquistes de *Cryptosporidium spp.*, y aunque en su mayoría los conteos de

ooquistes fueron bajos, no se desestima el riesgo que estos animales representan para el hato (Diaz *et al.*, 2010).

El ganado adulto es comúnmente considerado como una fuente potencial de contaminación del ambiente con *Cryptosporidium*, pero hay desacuerdos sobre la relativa importancia del ganado adulto en la contaminación de los suministros de agua con cantidades significativas de ooquistes. La prevalencia reportada de contaminación fecal con *C. parvum* por ganado adulto de leche y carne varía entre 0 al 10% (Pereira Da Fonseca *et al.*, 2001). Algunas de las variaciones en la prevalencia observada en la contaminación fecal puede ser explicadas por el uso de pruebas de diagnóstico de diferente sensibilidad y especificidad, pero muchas de las variaciones parecen ser resultado de las diferencias en las poblaciones de ganado estudiadas, incluyendo la diferencia entre los modos de operación entre explotaciones de leche y de carne, distribución de edades y prácticas de manejo (Atwill *et al.*, 2003).

En ganado de carne de varias regiones de California, se ha encontrado un rango de prevalencia de *C. parvum* entre 0% y 13% en bovinos de 1 a 11 meses de edad, correspondiendo el mayor porcentaje a los becerros de 2 meses. En Columbia Británica se ha reportado el 13% de prevalencia en becerros de 2 a 70 días de edad (McAllister *et al.*, 2005). En Manitoba (Canadá) el 18% de los becerros de hatos de carne con historia de diarrea neonatal excretaron ooquistes de dicho protozooario (Gow y Waldner, 2006).

VIII. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, no se encontraron ooquistes de *Cryptosporidium spp* utilizando la técnica directa de tinción con Ziehl Neelsen modificada.

Es probable que el factor más importante para no detectar ooquistes de *Cryptosporidium spp*, es que los animales estudiados no están en hacinamiento y éstos se pueden desplazar por los potreros y no permanecer juntos por largos periodos.

Se requieren hacer estudios complementarios con otras técnicas más sensibles como la Reacción en Cadena de la Polimerasa, Análisis Inmunoabsorbentes Ligado a Enzimas, Inmunofluorescencia, Inmunohistoquímica, entre otros.

IX. LITERATURA CITADA

1. Abeywardena, H., Jex, A.R., Koehler, A.V., Rajapakse, R.P., Udayawarna, K., Haydon, S.R., Stevens, M.A. y Gasser, R.B. 2014. First molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* from bovines (*Bos taurus* and *Bubalus bubalis*) in Sri Lanka: unexpected absence of *C. parvum* from pre-weaned calves. *Parasit. Vectors.* 7:75.
2. Amer, S., Harfoush, M. y He, H. 2010. Molecular and phylogenetic analyses of *Cryptosporidium spp* from dairy cattle in Egypt. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 40:349-66.
3. Ananta, S.M., Suharno, Hidayat, A. y Matsubayashi, M. 2014. Survey on gastrointestinal parasites and detection of *Cryptosporidium spp.* on cattle in West Java, Indonesia. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 7:197-201.
4. Atwill, E.R., Hoar, B., Das Gracas Cabral Pereira, M., TATE, K.W., Rulofson, F. y Nader, G. 2003. Improved Quantitative Estimates of Low Environmental Loading and Sporadic Periparturient Shedding of *Cryptosporidium parvum* in Adult Beef Cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:4604-4610.
5. Caccio, S.M., Sannella, A.R., Mariano, V., Valentini, S., Berti, F., Tosini, F. y Pozio, E. 2013. A rare *Cryptosporidium parvum* genotype associated with infection of lambs and zoonotic transmission in Italy. *Vet. Parasitol.* 191:128-31.
6. Castro-Hermida, J.A., Carro-Corral, C., Gonzalez-Warleta, M. y Mezo, M. 2006. Prevalence and intensity of infection of *Cryptosporidium spp.* and *Giardia duodenalis* in dairy cattle in Galicia (NW Spain). *J Vet Med B Infect Dis Vet. Public. Health.* 53: 244-6.
7. Castro-Hermida, J.A., Gonzalez-Losada, Y.A. y Ares-Mazas, E. 2002. Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). *Vet. Parasitol.* 106: 1-10.

8. Coklin, T., Farber, J., Parrington, L. y Dixon, B. 2007. Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium spp.* in dairy cattle in Ontario, Canada. *Vet. Parasitol.* 150: 297-305.
9. Chacín-Bonilla, L. C.-N., Rosita 2008. Criptosporidiosis en pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana. *Interciencia.* 33: 708-716.
10. Del Coco, V.F., Cordoba, M.A. y Basualdo, J.A. 2008. *Cryptosporidium* infection in calves from a rural area of Buenos Aires, Argentina. *Vet. Parasitol.* 158: 31-5.
11. Diaz-Lee, A., Mercado, R., Onuoha, E.O., Ozaki, L.S., Munoz, P., Munoz, V., Martinez, F. J. y Fredes, F. 2011. *Cryptosporidium parvum* in diarrheic calves detected by microscopy and identified by immunochromatographic and molecular methods. *Vet. Parasitol.* 176: 139-44.
12. Diaz, P., Quilez, J., Chalmers, R.M., Panadero, R., Lopez, C., Sanchez-Acedo, C., Morrondo, P. y Diez-Banos, P. 2010. Genotype and subtype analysis of *Cryptosporidium* isolates from calves and lambs in Galicia (NW Spain). *Parasitology.* 137: 1187-93.
13. De Graaf D., E.V., Luis M. Ortega-Mora, Hayet Abbassi, Johan E. Peeters 1999. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *D.C de Graaf et al./ International. Journal. for. Parasitol.* 29: 1269-1287.
14. Faubert, G.M. y Litvinsky, Y. 2000. Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. *J Parasitol.* 86: 495-500.
15. Fayer, R., Santin, M. y Dargatz, D. 2010. Species of *Cryptosporidium* detected in weaned cattle on cow-calf operations in the United States. *Vet. Parasitol.* 170: 187-92.
16. 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: 260-6.

17. Fayer, R., Santin, M. y Trout, J. M. 2008. *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Vet. Parasitol.* 156: 191-8.
18. 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: 105-12.
19. Fayer, R., Santin, M. y Xiao, L. 2005. *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *J. Parasitol.* 91: 624-9.
20. 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: 103-12.
21. Gow, S. & Waldner, C. 2006. An examination of the prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium spp.* and *Giardia spp.* in cows and calves from western Canadian cow-calf herds. *Vet. Parasitol.* 137: 50-61.
22. Hamnes, I.S., Gjerde, B. y Robertson, L. 2006. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in three areas of Norway. *Vet. Parasitol.* 140: 204-16.
23. Heitman, T.L., Frederick, L.M., Viste, J.R., Guselle, N.J., Morgan, U. M., Thompson, R.C. y Olson, M.E. 2002. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* and characterization of *Cryptosporidium spp.* isolated from wildlife, human, and agricultural sources in the North Saskatchewan River Basin in Alberta, Canada. *Can. J. Microbiol.* 48: 530-41.
24. Jarvie, B.D., Trotz-Williams, L.A., Mcknight, D.R., Leslie, K.E., Wallace, M.M., Todd, C.G., Sharpe, P.H. y Peregrine, A.S. 2005. Effect of halofuginone lactate on the occurrence of *Cryptosporidium parvum* and growth of neonatal dairy calves. *J. Dairy. Sci.* 88: 1801-6.
25. Joachim, A., Krull, T., Schwarzkopf, J. y Dauschies, A. 2003. Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. *Vet. Parasitol.* 112: 277-288.

26. Keshavarz, A., Haghghi, A., Athari, A., Kazemi, B., Abadi, A. y Nazemalhosseini Mojarad, E. 2009. Prevalence and molecular characterization of bovine *Cryptosporidium* in Qazvin province, Iran. *Vet. Parasitol.* 160: 316-8.
27. Klein, D., Kern, A., Lapan, G., Benetka, V., Mostl, K., Hassl, A. y Baumgartner, W. 2009. Evaluation of rapid assays for the detection of bovine coronavirus, rotavirus A and *Cryptosporidium parvum* in faecal samples of calves. *Vet. J.* 182: 484-6.
28. Klein, P. 2008. Preventive and therapeutic efficacy of halofuginone-lactate against *Cryptosporidium parvum* in spontaneously infected calves: a centralised, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Vet. J.* 177: 429-31.
29. Kvac, M., Kouba, M. y Vitovec, J. 2006. Age-related and housing-dependence of *Cryptosporidium* infection of calves from dairy and beef herds in South Bohemia, Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 137: 202-9.
30. Lallemand, M., Villeneuve, A., Belda, J. y Dubreuil, P. 2006. Field study of the efficacy of halofuginone and decoquinate in the treatment of cryptosporidiosis in veal calves. *Vet. Rec.* 159: 672-6.
31. Li, S., Li, W., Yang, Z., Song, S., Yang, J., Gong, P., Zhang, W., Liu, K., Li, J., Zhang, G. y Zhang, X. 2013. Infection of cattle with *Cryptosporidium parvum*: mast cell accumulation in small intestine mucosa. *Vet. Pathol.* 50: 842-8.
32. Lihua Xiao, Ronald Fayer, Una Ryan y Upton, A.S.J. 2004. *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. *Clin. Microbiol. Rev.* 17: 72-97.
33. Lorenz, I., Fagan, J. y More, S.J. 2011. Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. *Ir. Vet. J.* 64:9.
34. Mcallister, T.A., Olson, M.E., Fletch, A., Wetzstein, M. y Entz, T. 2005. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in beef cows in southern Ontario and in beef calves in southern British Columbia. *Can. Vet J.* 46: 47-55.

35. Morgan, U.M., Xiao, L., Monis, P., Fall, A., Irwin, P.J., Fayer, R., Denholm, K.M., Limor, J., Lal, A. y Thompson, R.C. 2000. *Cryptosporidium* spp. in domestic dogs: the "dog" genotype. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2220-3.
36. Nasir, A., Avais, M., Khan, M.S., Khan, J.A., Hameed, S. y ReicheL, M.P. 2013. Treating *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *J. Parasitol.* 99: 715-7.
37. Olson, M.E., O'Handley, R.M., Ralston, B.J., Mcallister, T.A. y Thompson, R. C. 2004. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. *Trends Parasitol.* 20: 185-91.
38. Pereira Da Fonseca, I., Fazendeiro, I. y Antunes, F. 2001. Genetic characterization of *Cryptosporidium parvum* isolates from cattle in Portugal: animal and human implications. *J. Eukaryot. Microbiol.* Suppl: 32S-33S.
39. Power, M.L., Shanker, S.R., Sangster, N.C. y Veal, D.A. 2003. Evaluation of a combined immunomagnetic separation/flow cytometry technique for epidemiological investigations of *Cryptosporidium* in domestic and Australian native animals. *Vet. Parasitol.* 112:21-31.
40. Preiser, G., Preiser, L. y Madeo, L. 2003. An outbreak of cryptosporidiosis among veterinary science students who work with calves. *J. Am. Coll. Health.* 51:213-5.
41. Quilez, J., Torres, E., Chalmers, R.M., Robinson, G., Del Cacho, E. y Sanchez-Acedo, C. 2008. *Cryptosporidium* species and subtype analysis from dairy calves in Spain. *Parasitology.* 135: 1613-20.
42. Quilez, J., Vergara-Castiblanco, C., Monteagudo, L., Del Cacho, E. y Sanchez-Acedo, C. 2011. Multilocus fragment typing and genetic structure of *Cryptosporidium parvum* Isolates from diarrheic preweaned calves in Spain. *Appl. Environ. Microbiol.* 77:7779-86.
43. Quilez, J., Vergara-Castiblanco, C., Monteagudo, L., Del Cacho, E. y Sanchez-Acedo, C. 2013. Host association of *Cryptosporidium parvum* populations infecting domestic ruminants in Spain. *Appl. Environ. Microbiol.* 79:5363-71.

44. Rzezutka, A., Nichols, R.A., Connelly, L., Kaupke, A., Kozyra, I., Cook, N., Birrell, S. y Smith, H. V. 2010. *Cryptosporidium* oocysts on fresh produce from areas of high livestock production in Poland. *Int. J. Food. Microbio.* 139: 96-101.
45. 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: 15-23.
46. 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: 103-17.
47. Santin, M. y Zarlenga, D. S. 2009. A multiplex polymerase chain reaction assay to simultaneously distinguish *Cryptosporidium* species of veterinary and public health concern in cattle. *Vet. Parasitol.* 166: 32-7.
48. Silverlas, C., De Verdier, K., Emanuelson, U., Mattsson, J.G. y Bjorkman, C. 2010. *Cryptosporidium* infection in herds with and without calf diarrhoeal problems. *Parasitol. Res.* 107: 1435-44.
49. Smith, H. V., Nichols, R.A., Mallon, M., Macleod, A., Tait, A., Reilly, W.J., Browning, L.M., Gray, D., Reid, S.W. y Wastling, J.M. 2005. Natural *Cryptosporidium hominis* infections in Scottish cattle. *Vet. Rec.* 156: 710-1.
50. Thompson, R.C., Palmer, C.S. y O'handley, R. 2008. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *Vet. J.* 177: 18-25.
51. 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: 349-51.
52. Tyzzer, E.E. 1910. An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (Gen. Et. sp. nov), of the gastric glands of the common mouse. *J. Med. Res.* 23:487-511.

53. Venu, R., Latha, B.R., Basith, S.A., Sreekumar, C., Raj, G.D. y Raman, M. 2013. Factors influencing on prevalence of *Cryptosporidium* infection in south Indian dairy calves. *J. Parasit. Dis.* 37: 168-72.
54. Xiao, L., Zhou, L., Santin, M., Yang, W. y Fayer, R. 2007. Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in eastern United States. *Parasitol. Res.* 100: 701-6.