

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS



Utilización de kits comerciales para la identificación de patógenos que ocasionan
diarrea en beceras

Por:

CARLOS ANTONIO BARRETO GONZÁLEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Junio 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Utilización de kits comerciales para la identificación de patógenos que ocasionan
diarrea en becerras

Por:


CARLOS ANTONIO BARRETO GONZÁLEZ

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:



MVZ. ALEJANDRO ERNESTO CABRAL MARTELL DR. RAMIRO GONZÁLEZ ÁVALOS
Presidente Vocal



MC. BLANCA PATRICIA PEÑA REVUELTA DR. JUAN LEONARDO ROCHA VALDEZ
Vocal Vocal Suplente



MC. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Utilización de kits comerciales para la identificación de patógenos que ocasionan
diarrea en becerras

Por:


CARLOS ANTONIO BARRETO GONZÁLEZ

TESIS

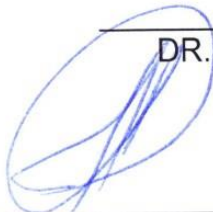
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:




DR. RAMIRO GONZÁLEZ AVALOS
Asesor Principal



DR. JUAN LEONARDO ROCHA VALDEZ
Coasesor



MC. BLANCA PATRICIA PEÑA REVUELTA
Coasesor



MC. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2019



AGRADECIMIENTOS

A Dios, por no soltarme de su mano en cada etapa de mi vida, por darme infinitas bendiciones y la sabiduría para poder elegir esta hermosa carrera.

A mis padres, Raul Barreto Carrillo y Maria Luisa Gonzalez Marin, que me dieron la vida y me brindaron toda la confianza para iniciar con este sueño, por sus grandes consejos y a pesar de los obstáculos, siempre obtuve su apoyo incondicional.

A toda mi familia y amigos, porque estuvieron de una u otra manera interesados en mi formación. Por la ayuda tan especial que recibí de cada uno.

DEDICATORIAS

A todas aquellas personas que de una manera u otra intervinieron en toda mi preparacion profesional sin particular alguno, por que de todos eh aprendido, y les doy mi agradecimiento sincero para poder llegar a ser “MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA”, asi mismo a mis padres Raul Barreto Carrillo y Maria Luisa Gonzalez Marin que me dieron su apoyo en el sentido mas amplio de la palabra para poder tratar de contribuir al desarrollo del campo.

RESUMEN

La crianza de becerras es la base importante del éxito de toda unidad de producción lechera, el periodo inmediatamente después del parto y los primeros días de vida son momentos críticos para las becerras. La atención a los detalles durante este tiempo puede reducir las pérdidas por muertes y reducir la incidencia de enfermedades. Los dos principales tipos de problemas son diarrea y neumonía. El objetivo del presente estudio fue evaluar los kits comerciales para la identificación de patógenos que ocasionan diarrea en becerras y ampliar el conocimiento sobre los mismos. Se realizó un estudio con 10 becerras Holstein en lactancia. Las muestras de las heces se tomaron directamente del recto de las becerras, se dividieron en dos sub-muestras una muestra se utilizó como testigo y éstas se analizó en el laboratorio de patología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Torreón, Coahuila. La otra sub-muestra se analizó con los kits comerciales en el establo lechero. El patógeno identificado en las heces de las becerras fue *Cryptosporidium* spp. Los kits comerciales para identificar diarreas en becerras son útiles para el diagnóstico de las mismas.

Palabras clave: becerras, desarrollo, diarrea, enfermedad, morbilidad.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
ÍNDICE GENERAL.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1. Diarrea neonatal de los terneros	3
3.2. Colibacilosis	4
3.3. Salmonelosis.....	6
3.4. Rotavirus.....	11
3.5. Criptosporidiosis.....	13
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
6. CONCLUSIONES	18
6. LITERATURA CITADA	19

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1 Diferencias entre las características patogénicas de ETEC y EPEC.	6
Cuadro 2 Resultado de estudio microscopico (<i>Cryptosporidium</i> spp)	16

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Procedimiento para la toma de muestra: obtención de muestra, adición de heces, tiempo de reacción antígeno y toma de lectura de resultado	15
Figura 2.	Resultados observados en la utilización de kit comercial para la identificación de patógenos	16

1. INTRODUCCIÓN

Los trastornos digestivos en las terneras son enfermedades frecuentes que se manifiestan con diarreas caracterizadas por heces líquidas y profusas, deshidratación, emaciación, postración y muerte (Delgado, 2000). Las enfermedades entéricas son comunes en becerros y les representa enormes pérdidas económicas a las industrias de la ganadería, de la carne y leche como resultado de la mortalidad de becerros recién nacidos y los costos de tratamiento. Es común que la diarrea neonatal sea más el resultado de una infección combinada de diferentes enteropatógenos (bacterias, virus, protozoarios) que la infección con un solo agente, siendo muy importante la *Escherechia coli*, *Salmonella*, *Rotavirus*, *Clostridium*, *Giardia*, *Coronavirus*, cabe mencionar que mayores pérdidas ocurren cuando las terneras son mantenidas en confinamiento, donde la oportunidad de transmisión de los agentes causales de la diarrea se ve realizada por su acumulación en el medio ambiente (Baquero-Parrado, 2008).

Estos agentes afectan a bovinos de todas las edades, siendo las becerras recién nacidas y menores de 60 días 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. Aunque no existen estadísticas de estos

trastornos en México, los patógenos gastroentéricos están asociados hasta en un 25% con las muertes en becerras (Delgado, 2009).

El problema que supone la detección de algunos agentes infecciosos que comprometen la salud de los becerros recién nacidos pudiera encontrar solución mediante la herramienta diagnóstica de kits comerciales, al permitir la detección en un solo ensayo, de patógenos de variadas etiologías, salvaguardando esfuerzos, tiempos considerables y favoreciendo la actuación preventiva o curativa adecuada y oportuna. A pesar de que en algunos casos son necesarias modificaciones a la metodología original a fin de incrementar la rentabilidad, no hay duda que un sistema que permita en un solo paso la detección de patógenos a partir de diferentes muestras biológicas, resultaría la meta en el campo diagnóstico.

Objetivos

Evaluar los kits comerciales para la identificación de patógenos que ocasionan diarrea en becerras y ampliar el conocimiento sobre los mismos.

Hipótesis

Los kits comerciales ayudan en la identificación de patógenos que ocasionan diarrea en becerras

2. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Diarrea neonatal de los terneros

La diarrea puede ser definida como un incremento en la frecuencia de defecación o el volumen fecal: la pérdida de agua fecal debido a un incrementado contenido de agua fecal o a un incrementado volumen de heces excretadas o a una combinación de ambos (Herdt y Sayegh, 2013).

Diarrea Neonatal Bovina (DNB) es una enfermedad compleja y multifactorial que ocurre como consecuencia de la interacción de factores relacionados con la vaca, el ternero, el estado inmune, las prácticas de manejo, los factores ambientales y la infección con enteropatógenos (García *et al.*, 2000).

Décadas de investigación se han desarrollado acerca de la patofisiología de la diarrea infecciosa, pero a pesar del mejoramiento de prácticas de manejo, prevención y estrategias de tratamiento, esta enfermedad es todavía muy común y altamente costosa (Navarre, 2000).

Se han considerado como factores predisponentes para la presentación de diarrea neonatal el parto, alimentación, vacunación, alojamiento y manejo del calostro (Pare *et al.*, 1993). También factores de riesgo como: el estado inmunológico del ternero cuando presenta falla total o parcial en la transferencia de inmunidad pasiva, consumo de calostro por un solo día, ser hijos de vacas primerizas, sistemas de crianza a la intemperie o en grupos de diferentes edades, nacimiento en invierno donde las condiciones climáticas son adversas (frío excesivo, alta humedad relativa), mala higiene de los utensilios de alimentación

del ternero como baldes, teteros y de los sitios de alojamiento como terneriles, tamaño grande de las fincas (Frank y Kaneene, 1993).

Se considera que existen cinco agentes enteropatógenos principales y más comunes en la DNB: *Echerichia coli* enterotoxigénica, rotavirus, coronavirus, *Cryptosporidium* sp., y *Salmonella* spp. La prevalencia relativa de estos agentes varía bastante entre los diferentes estudios realizados, posiblemente por diferencias en la ubicación, el clima, las técnicas de diagnóstico y otros factores (Scott *et al.*, 2004).

Se ha considerado que el Rotavirus es la causa más común de diarrea y que el Coronavirus y *E. coli* enterotoxigénica tienen la mayor tasa de mortalidad generando un impacto económico más alto (Navarre, 2000).

3.2. Colibacilosis

E. coli es un bacilo corto, Gram negativo, anaerobio facultativo, oxidasa negativa, móvil por flagelos peritricos (que rodean su cuerpo), no forma esporas, fermenta la glucosa y lactosa (Sanchez *et al.*, 2009).

Es una de las especies más abundantes de las bacterias presentes en el tracto intestinal normal (enterobacteria). En esta región, este organismo contribuye a la función normal y nutrición (Herdt y Sayegh, 2013), aunque ciertas cepas cuando están en cantidades suficientes son patógenas de por sí y desarrollan procesos patológicos bajo ciertas condiciones (Chamizo-Pestana, 1995).

La diarrea neonatal por *Escherichia coli* (*E. coli*) es una de las enfermedades más comunes de los terneros neonatos y la mayor causa de pérdida de reemplazos en los establos lecheros (Cho y Yoon, 2014).

La prevalencia de ETEC en terneros diarreicos varía mucho geográficamente, entre los rebaños y en función de la edad de los animales. La prevalencia puede ser tan alta como 50-60% en los terneros diarreicos de 3 días de edad y sólo el 5-10% en terneros diarreicos de 8 días de edad. En algunos países la prevalencia es de un 5-8% en terneros diarreicos de 3 días de edad. Por lo tanto colibacilosis enterotoxigénica es una causa importante de diarrea en terneros de menos de 3 días de edad y no está asociado con brotes de diarrea en terneros de más de 3 días. La infección por ETEC en terneros mayores de 2-3 días en la mayoría de los casos se asocia con una infección con virus (Radostits, *et al.*, 2006).

La presencia de este patógeno está altamente influenciado por el ambiente y las prácticas de manejo que intervienen sobre la severidad y el pronóstico. Las variables de manejo que impactan en el riesgo de diarrea neonatal por *E. coli* en terneros incluyen la eficiencia de la transferencia pasiva de inmunoglobulinas, la nutrición de la madre, el manejo del ambiente (exposición al patógeno), la higiene del área de terneraje y el estado sanitario de la vaca (Izzo *et al.*, 2015).

Una inadecuada ingesta de alimento y macro- o micronutrientes durante el último trimestre de preñez incrementa las tasas de morbilidad y mortalidad en terneros ya que el mayor crecimiento fetal ocurre durante los dos últimos meses de preñez (Cho y Yoon, 2014).

Respecto a la inmunidad, la placenta bovina no permite la transferencia de anticuerpos al feto. Por lo tanto, el ternero recién nacido no ha recibido ningún anticuerpo de la madre y es muy susceptible a los patógenos ambientales. La resistencia del ternero a las enfermedades entéricas está estrechamente

relacionada al consumo de calostro de alta calidad en cantidades suficientes y a tiempo (Herdt y Sayegh, 2013).

Condiciones tales como las bajas temperaturas, lluvia, viento y altos niveles de humedad actúan como factores de estrés para los terneros jóvenes e incrementan la susceptibilidad de éstos a la diarrea y otras enfermedades. Los terneros neonatos no son capaces de regular efectivamente su temperatura corporal cuando son expuestos a condiciones climáticas extremas. Esto puede inducir a hipotermia o hipertermia, resultando en un deterioro del sistema inmune (Scott *et al.*, 2004). Aún más importante, no hay que olvidar que la exposición a un ambiente contaminado es la principal causa de diarrea en los terneros. La probabilidad de infecciones aumenta si además del ambiente contaminado hay animales infectados, hacinamiento, animales de diferentes edades en los mismos alojamientos y si no hay maternidades individuales (Cho y Yoon, 2014).

Cuadro 1. Diferencias entre las características patogénicas de ETEC y EPEC (Tomado de Scott *et al.*, 2004).

Características	enterotoxigénica	enteropatógena
Capacidad de adherirse al enterocito	Si	si
Producción de toxinas	Enterotoxinas	Citotoxinas
Lesiones histológicas	No	Si
Tipo de diarrea	Hipersecreción	Malabsorción

3.3. Salmonelosis

El agente causal de la enfermedad es una bacteria perteneciente a la familia Enterobacteriaceae y al género Salmonella. Es una bacteria Gram (-), anaerobia facultativa, es no formadora de esporas (Veling *et al.*, 2002).

La forma de clasificar es diversa, así bajo una propuesta sólo se reconocen dos especies: *Salmonella enterica* (*S. enterica*) y *Salmonella bongori* (*S. bongori*). Con más detalle, es en base a sus antígenos somáticos (O), flagelares (H) y capsulares (Vi), que se ha desarrollado su identificación. De esta forma, se han podido determinar más de 2200 serotipos (que son la continuación de las dos especies mencionadas), los cuales se reúnen en serogrupos nombrados de la A a la Z y todos causan potencialmente enfermedad en terneros (Fossler *et al.*, 2005).

Las infecciones por otros serotipos suelen reducirse a ciertas regiones, a durante determinadas épocas, pero por lo general son esporádicas, ocurriendo en casos individuales, sin producir enfermedades severas (Bruner y Gillespie, 1974).

Factores predisponentes o determinantes

La fuente de contaminación son las heces infectadas, fómites contaminados y en la mayoría de los casos la madre puede ser portadora de la bacteria e infectar a su cría después del nacimiento (Holland, 1990). Otras fuentes importantes de contaminación son la leche y el calostro cuando son manipulados en deficientes condiciones de higiene; también hay mayor riesgo de infección cuando se incluye leche de descarte procedente de vacas enfermas (House y Smith, 2004).

Los factores de riesgo están relacionados al hospedador, el ambiente y el agente. Estos factores pueden ser el estrés, la alimentación deprimida, la restricción de agua, la humedad alta de los pastos en época de lluvia (estacionalidad), la eliminación constante de heces contaminadas de animales portadores, entre otros. El agente (bacteria), es un microorganismo intracelular facultativo que sobrevive en fagolisosomas de macrófagos evitando la lisis de estos. Tiene una alta persistencia en el ambiente. El pH en el cual se pueden

encontrar está en el rango de 4-8. La temperatura debe estar por debajo de los 70°C para que puedan desarrollarse, por tanto para una buena esterilización se puede hacer esto a 82°C por 1 hora. Puede sobrevivir a congelaciones de -20°C y ser viable a 85% en dos días y a 95% en un mes. Finalmente, en el caso del ambiente, los pastos en época húmeda, los alimentos contaminados sobretodo los que tienen fuente de proteína animal. El agua de reservorios no tratados o la hacinación pueden incrementar la contaminación con este microorganismo (Smith *et al.*, 2009).

El microorganismo tiene preferencia por los tejidos oral, nasal, ocular e intestinal. Ingresa vía los tres primeros bajo condiciones de estrés, inmunosupresión, grado de virulencia del agente, dosis de inoculación o exposición previa al serotipo. Experimentalmente, la dosis encontrada (en gramo de heces) ha sido determinada en 105 salmonellas por gramos de heces en el caso de infección oral y 1011 en infección parenteral. En la mayoría de casos, una dosis de 108 puede causar infección (Dirksen *et al.*, 2005).

Una vez superadas las barreras, cuando la bacteria alcanza el sistema digestivo, se proyecta para invadir la pared intestinal, se ubica principalmente a nivel de íleon distal y ciego. Se acerca vía motilidad bacteriana (Holland, 1990).

Hay condiciones como el incremento en el pH gástrico que reduce la dosis infectante, luego debe atravesar la capa de moco y debe adherirse a las células de la mucosa y para ello expresa varios tipos de fimbrias (Mohler y Matthew, 2009).

Coronavirus

El coronavirus es un virus ARN, envuelto; ubicado taxonómicamente dentro de la familia Coronaviridae, género Coronavirus y orden Nidovirales (González y

Wilson, 2003); y clasifica en el segundo grupo de los tres en que se dividen los coronavirus (Brandao *et al.*, 2001), en el cual se incluyen además Coronavirus respiratorio humano OC43, Virus de la hepatitis murina, Virus de la sialodacrioadenitis y Virus de la encefalomielitis hemoaglutinante porcina; con los cuales está muy relacionado desde el punto de vista de sus secuencias nucleotídicas y reacciones serológicas (Saif, 2004).

Coronavirus bovino (BCoV) es un importante agente patógeno del ganado bovino, el cual está asociado a tres síndromes clínicos diferentes (Saif, 2004), caracterizándose de forma general por una rápida diseminación, afectando tanto a individuos jóvenes como adultos, siendo responsable de grandes pérdidas económicas anualmente a nivel mundial (Martínez *et al.*, 2002).

Además de infectar el sistema digestivo provocando trastornos entéricos BCoV también posee tropismo por el tracto respiratorio de donde ha sido recuperado a partir de animales convalecientes de enfermedad respiratoria (Saif *et al.*, 1986).

El promedio de morbilidad, en general, es elevado, oscilando entre 50-100% (McArthur, 1997), pudiendo afectarse animales de diferentes edades (Takahashi *et al.*, 1980). Es común ver a la madre y a la cría afectadas a la vez entre 2 o 3 días después del parto (Espinasse *et al.*, 1990). A pesar de que la morbilidad suele ser alta la mortalidad en adultos no sobrepasa el 10% (Carman y Hazlett, 1992), no siendo así en terneros que puede alcanzar hasta el 50% (McArthur, 1997).

Las manifestaciones clínicas de las infecciones por BCoV solo ocurren en bovinos (Mebus, 1990), siendo susceptibles animales de todas las edades; sin

embargo terneros de 1 día de edad hasta 3 semanas son los más sensibles de padecer el cuadro entérico, mientras que los mayores de 3 semanas son resistentes a la infección (Jaynes *et al.*, 2004).

Los individuos jóvenes son más sensibles a desarrollar la infección respiratoria, apareciendo cuadros clínicos con una mayor frecuencia en individuos entre 6-10 meses, sobre todo en aquellos casos asociados a estrés de transportación (Lin *et al.*, 2000), mientras que en animales mayores de 2 años es más frecuente el desarrollo de cuadros entéricos (Espinasse *et al.*, 1990).

El virus ingresa en el organismo normalmente por ingestión o inhalación. Cuando la puerta de entrada es la vía enterógena el virus infecta células epiteliales del intestino delgado y el colon, donde hace una replicación local, la cual produce atrofia de las vellosidades; debido a esto las enzimas situadas en la membrana de las células epiteliales, especialmente las del intestino delgado no atacan de manera suficiente al alimento ingerido (Mebus, 1990). La degeneración de las células epiteliales provocadas por el virus motivan la insuficiente absorción de agua y electrolitos, e incrementan la función secretora y con ello se desencadena el cuadro clínico de la diarrea, lo que lleva a la deshidratación, acidosis e hipoglicemia; pudiendo provocar a la muerte, sobre todo en terneros (McArthur, 1997). En individuos recuperados de la infección las criptas del epitelio de la mucosa intestinal pueden recuperarse y eventualmente volver a su funcionamiento fisiológico (Espinasse *et al.*, 1990).

Cuando la puerta de entrada es por las vías respiratorias el virus infecta el epitelio respiratorio, fundamentalmente a nivel de vías superiores (McArthur, 1997), diseminándose desde el punto de entrada hacia las regiones vecinas,

ocasionando una inflamación de las vías respiratorias altas y/o una conjuntivitis (Storz *et al.*, 2000).

La enfermedad natural cursa con diarreas líquidas profusas que pueden persistir durante 2-6 días, anorexia, pirexia y deshidratación; algunos terneros contienen restos de sangre en sus heces. La morbilidad y mortalidad son altas y terneros con diarreas sanguinolentas pueden experimentar una hipovolemia a pocas horas de haber comenzado los signos clínicos (Mc.Arthur, 1997). Presentándose al inicio en una rinitis con tos y fiebre, debilidad, inapetencia, lagrimeo y secreción nasal serosa, la cual concluye con una traqueitis (El-Kanawati *et al.*, 1996). La enfermedad dura alrededor de 1-2 semanas (Cho *et al.*, 2003).

3.4. Rotavirus

Los rotavirus se clasifican dentro de la familia Reoviridae y el género rotavirus. El término rotavirus (virus huérfanos respiratorios y entéricos) se propuso originalmente para el grupo de virus aislados sobre todo de los tractos respiratorio e intestinal (Rodríguez y Roger, 2005).

La morbilidad puede llegar hasta el 80% de la explotación, la letalidad es del 15-20% como máximo (González, 2002).

Dentro de las especies domésticas se aíslan de becerros, cordero, lechones, cabritos, potros, cachorros de canino y felino, y aves (Rodríguez y Roger, 2005).

La enfermedad solamente se suele observar en los animales jóvenes de entre 1 y 8 semanas de edad pero es raro que se produzca en la primera semana de vida. Los rotavirus son unas de las causas principales de diarrea de los

animales sometidos a sistemas de producción intensiva en todo el mundo. Las infecciones por rotavirus varían desde las subclínicas, pasando por enteritis de gravedad variable, hasta la producción de la muerte (Fenner, 1987).

Los distintos virus infectan de modo característico diferentes zonas de las vellosidades intestinales. Todos originan un marcado acortamiento y en ocasiones una fusión de las vellosidades adyacentes, determinando una reducción de la superficie de absorción del intestino que da lugar a acumulo de fluidos y diarrea. La infección comienza generalmente en la porción proximal del intestino delgado y se extiende hacia el yeyuno e íleon. La extensión de esta diseminación depende de la dosis inicial, de la virulencia del virus y de estado inmunológico del hospedero (Rodríguez y Roger, 2005).

El virus infecta y destruye las células de los extremos de las vellosidades (absortivas) las cuales son reemplazadas por células epiteliales con menos capacidad de absorción y actividad enzimática. Estas células son relativamente resistentes a la infección vírica por lo que la enfermedad suele ser auto limitante si la deshidratación no es tan aguda como para causar la muerte (Fenner, 1987).

En las infecciones víricas las pérdidas de fluidos corresponde principalmente a líquido extracelular, debido a la mala absorción, y a las pérdidas osmóticas debidas principalmente a la presencia de lactosa no digerida (en animales lactantes). Con la pérdida o destrucción de células absortivas se pierden las enzimas responsables de la digestión de disacáridos y con la destrucción de células diferenciadas disminuye la actividad del transporte del sodio, glucosa, potasio (Fenner, 1987).

3.5. Criptosporidiosis

En el ganado bovino, se han reconocido dos especies de este género: *Cryptosporidium Parvum*, que coloniza el intestino delgado y es un importante etiológico de diarreas neonatales en becerras, ovejas, cabras, cerdos, equinos, aves y niños (Graaf *et al.*, 2002). La otra especie es *Cryptosporidium Andorsoni* que se desarrolla en el abomaso, de bovinos adultos. Su prevalencia es baja (Lindsay *et al.*, 2000).

Estudios de muestras fecales de animales asintomáticos de una granja con infección sugestiva al parásito, mostraron estar presente en un 20% en los bovinos y caballos y en el 10% en cerdos (Olsen *et al.*, 1997). Entre las especies de animales domésticos, sin duda la más afectada es la bovina, en especial los neonatos (Dillingham *et al.*, 2002).

La infección con *cryptosporidium* es más comúnmente reportada en becerras entre 1 y 3 semanas de edad (Arslan *et al.*, 2001).

Encuestas epidemiológicas, indican por lo general una morbilidad alta entre el 10 y 85%. Cuando *cryptosporidium* es el único agente, 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 (Dillingham *et al.*, 2002).

La infestación, empieza con la ingestión de los ooquistes y seguida de la exquistación de los esporozoitos en el intestino, los parásitos infestan el epitelio (Tarek *et al.*, 2004). Varios autores han reportado la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium sp.*, en las heces de terneros, los mismos encontraron que los animales que excretan el protozoario tienen mayor probabilidad de presentar

diarrea (McAllister, 2006); sin embargo, se debe tener en cuenta que el agente es detectado en un alto número de animales sanos y su presencia no siempre es causal de la enfermedad.

El mecanismo patofisiológico induce la diarrea por mala absorción, dada por daños a las vellosidades atribuidas al parásito. Está también reportado hipersecreción mediada por toxinas (Fayer y Ungar, 1986). Los *Cryptosporidium* infectan la lámina basal de las microvellosidades del epitelio gastrointestinal y respiratorio (Ortega *et al.*, 1999).

Esta enfermedad está caracterizada clínicamente por diarrea abundante, acuosa, amarillenta o verdosa, algunas veces con mucosa, melena, anorexia y dolor abdominal. Es más severa y letal cuando se complica con otras infecciones enteropatógenas como; *E. coli*, *Salmonella*, rotavirus coronavirus (Arslan *et al.*, 2001).

Macroscópicamente el intestino parece normal. Microscópicamente las lesiones pueden extenderse a lo largo del intestino de las becerras clínicamente afectadas, donde la destrucción de las células epiteliales resulta en atrofia de las vellosidades e infiltración de mucosa con neutrófilos y linfocitos (Moon *et al.*; 1982).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó del 20 de febrero al 30 de marzo del 2016, en un establo lechero en el municipio de Torreón Coahuila, el cual se encuentra localizado en una región semidesértica del norte de México a una altura de 1140 msnm, entre los parámetros 25°30´ y 25°45´ y los meridianos 103°20´ y 103°40´ O (INEGI, 2009).

La clasificación de las crías con diarrea se realizó mediante la observación de la consistencias de las heces, heces normales corresponde a crías sanas y becerras con heces semi-pastosas a líquidas serán crías enfermas.

Las muestras de las heces se tomaron directamente del recto de las becerras, se dividieron en dos sub-muestras una muestra se utilizó como testigo y éstas se analizó en el laboratorio de patología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Torreón, Coahuila. La otra sub-muestra se analizó con los kits comerciales en el establo lechero.

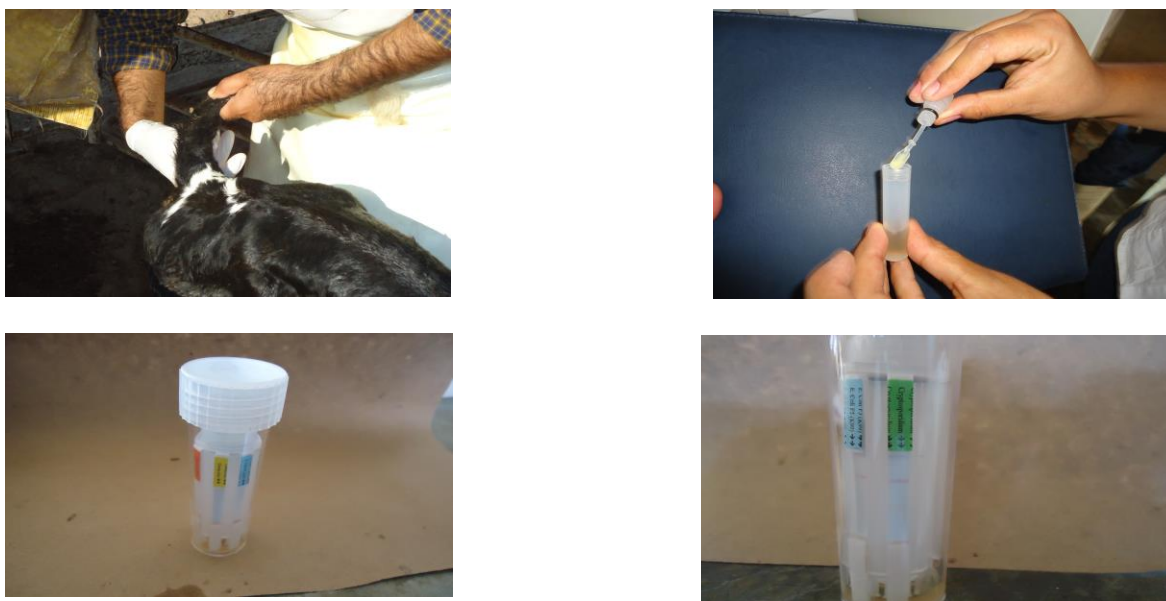


Figura 1. Procedimiento para la toma de muestra: obtención de muestra, adición de heces, tiempo de reacción antígeno y toma de lectura de resultado.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los resultados obtenidos en el presente estudio (Cuadro3 y Figura 1) se identificó únicamente al patógeno *Cryptosporidium* spp. en las muestras analizadas, tanto en el laboratorio como las que se analizaron en la unidad de producción lechera.

Cuadro 2. Resultado de estudio microscopico (*Cryptosporidium* spp)

Identificación /Muestra (Heces)	Resultado
1. 15423	Se observaron ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp (++++)
2. 15426	Se observaron ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp (++++)
3. 15428	Se observaron ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp (++++)
4. 15433	Se observaron ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp (++++)
5. 15434	Se observaron ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp (++++)
6. 15436	Se observaron ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp (++++)
7. 15438	Se observaron ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp (++++)
8. 15440	Se observaron ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp (++++)
9. 15441	Se observaron ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp (++++)
10.15444	Se observaron ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> spp (++++)



Figura 2. Resultados observados en la utilización de kit comercial para la identificación de patógenos.

Resultados similares son reportados por García (2017), donde utilizaron el diagnóstico de campo de diarreas mediante inmunocromatografía, donde reporta 97.7% de efectividad para criptosporidia.

La diarrea neonatal es una enfermedad compleja y multifactorial que ocurre como consecuencia de la interacción de factores relacionados con la vaca, el becerro, el estado inmune, las prácticas de manejo, los factores ambientales y la infección con enteropatógenos (Scott *et al.*, 2004).

Se considera que existen cinco agentes enteropatógenos principales y más comunes en la diarrea: *Echerichia coli* enterotoxigenica, rotavirus, coronavirus, *Cryptosporidium* sp., y *Salmonella* spp. La prevalencia relativa de estos agentes varía bastante entre los diferentes estudios realizados, posiblemente por diferencias en la ubicación, el clima, las técnicas de diagnóstico y otros factores. Los microorganismos que comúnmente se relacionan con el proceso de diarrea en becerras lactantes son *Escherichia coli*, *Cryptosporidium* spp, rotavirus, y coronavirus (Meganck *et al.*, 2014). Hay otros enteropatógenos menos comunes como *E. coli* verotoxigénica (VTEC), *E.coli* necrotoxigénica (NTEC), *Giardia duodenalis*, Torovirus, Calicivirus y Norovirus (Radostits *et al.*, 2007).

Para establecer medidas eficientes de prevención y control es indispensable determinar la causa específica de esta enfermedad. En los casos de diarrea el color, la consistencia y otras características físicas pueden verse similares por eso la identificación del agente es necesaria para hacer el diagnóstico (Navarre, 2000).

6. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las cuales fue desarrollado el presente estudio permite concluir que los kits comerciales para la identificación de becerras enfermas por diarrea son una herramienta útil y práctica que puede ser utilizada en las unidades de producción de leche con confianza y certeza.

6. LITERATURA CITADA

- Arslan, M. O., Gicik, Y., Erdogan, H. M. y Sari, B. 2001. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in diarrhoeic calves in Kars Province, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*. 25:161-16.
- Baquero-Parrado, J. R. 2008. Diarrea neonatal indiferenciada: consideraciones sobre su prevención en campo. *Veterinaria y Zootecnia*. 2(2):59-68.
- Brandao, P. E., Gregori, F., Heinemann, M. B., Lima, C. H. A., Rosales, C. A. R., Ruiz, V. L. A., y Jerez, J. A. 2001. Animal coronaviruses. *Virus Rev. And Res*. 1(6):7-13.
- Bruner, D. W., y J. H. 1974. Gillespie. Hagan's infectious diseases of domestic animals, 6th ed. Cornell University Press, pp. 149-172.
- Carman, P. S., y Hazlett, M. J. 1992. Bovine coronavirus infection in Otario, 1990-1991. *Can. Vet. J*. 33: 812-814.
- Chamizo-Pestana, E. G. 1995. Patología especial y diagnóstico de las enfermedades de los animales domésticos. Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali. pp 110-111.
- Cho, Y., y Yoon, K. J. 2014. An overview of calf diarrhea–infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J. Vet. Sci*. 15(1):1-17.
- Cho, K. O., Nielsen, P. R., Chang, K. O., Lathrop, S., Saif, L. J. 2003. CrossProtection Studies of Respiratory, Calf Diarrhea and Winter Dysentery Coronavirus Strains in Calves and RT-PCR and Nested PCR for Their Detection. *Archives of Virology*. 146:2401-2419.
- 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.
- Dillingham, R. A., A. A. Lima., y R. L. Guerrant. 2002. Cryptosporidiosis: Epidemiology and impact. *Microbes and infection*. 4(10):1059-1066.

- Dirksen, G., Grünter, H. D., y Stöber, M. 2005.: "Medicina interna y cirugía bovino". vol. I. 4ta ed. Buenos Aires, Argentina. Editorial Intermedica XXI. Impreso en España.
- El-Kanawati, Z. R., Tsunemitsu, H., Smith, D. R., Saif, L. J. 1996. Infection and cross-protection studies of winter dysentery and calf diarrhea bovine coronavirus strains in calostrum-deprived and notobiotic calves. *Am. J. Vet. Res.* 57: 48-53.
- Espinasse, J., Savey, M., Viso, M. 1990. Virus infections of vertebrates. Virus infections of ruminants. Winter Dysentery of adult Cattle Virus. Elsevier Science Publishers. Chapter 28: 301-306.
- Fayer, R. y Ungar, B. L. P. 1986. *Cryptosporidium* spp. and Cryptosporidiosis. *Microbiological Reviews.* 50: 458-483.
- Fenner, F, 1987. *Virología veterinaria.* Acribia. S.A. Zaragoza. España. pp.526-617.
- Fossler, C., Wells, S., Kaneene, J., Ruegg, P., Warnick, L., Bender, J., Eberly, L., Godden, S., y Halbert, L. 2005. Herd-level factors associated with isolation of *Salmonella* in a multi-state study of conventional and organic dairy farms II. *Salmonella* shedding in Calves. *Preventive Veterinary Medicine.* 70:279-291.
- Frank, N., y Kaneene, J. 1993. Management Risk Factors Associated with Calf Diarrhea in Michigan Dairy Herds. *J. Dairy Sci.* 76:1313-1323.
- García, A., Ruiz, J., Orden, J., Cid, D., Sanz, R., y Gómez-Bautista, M. 2000. Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 23:175-183.
- González, R., y D. Wilson. 2003. Mycoplasmal mastitis in dairy herds. *Vet Clin Food Anim.* 19:199-221.

- González. 2002. Procesos Digestivos Bovinos: Diarreas Neonatales Por Coronavirus. Disponible En La Página De Internet: <Http://Canalh.Net/Webs/Sgonzalez002/Infecciosas/Digestivob.Htm>.
- Graaf, D. C., H. De Coninck., F. Petry., L .B. Eeckhout., y J. E, Peeters. 2002. Specific bovine antibody response against a new recombinant cryptosporidium parvum antigen containing 4zinc-finger matils, trhekoraan. J. parasito. 40(1): 59- 64.
- Herdt, T. H., y Sayegh, A. I. 2013. Digestion and absorption: the nonfermentative processes. En: Klein BG, ed. Cunningham's textbook of veterinary physiology. 5a ed. Missouri: Elsevier Saunders. Pg. 297-319.
- Holland, R. 1990. Some Infectious causes of diarrhea in young farm animals. Clinical Microbiology Reviews. 3(4):345-375.
- House, J. y Smith, B. 2004. Profitable Strategies to Control Salmonellosis in Dairy Cattle. 23 World Buiatrics Congress. Quebec, Canada. July 11-16.
- Izzo, M., Gunn, A. A., y House, J. K. 2015. Neonatal diarrhea. En: Smith BP, ed. Large animal internal medicine. 5ª Missouri: Elsevier Mosby. Pg. 314-335.
- Jaynes, C., Tyler, H., Quigley, J., Kapil, S., Arthington, J. 2004. The use of bovine serum protein as an oral support therapy following coronavirus challenge in calves. Iowa State University Animal Industry Report. A. S. Leaflet. R1910.
- Lin, X. Q., O'Reilly, K. L., Storz, J., Purdy, C. W., Loan, R. W. 2000. Antibody responses to respiratory coronavirus infections of cattle during shipping fever pathogenesis. Arch. Virol. 145: 2335-2349.
- Lindsay, D. S., S. J. Upton, D. S. Owens, U. M. Morgan, J. R. Mead y B. L. Blagburn. 2000. Cryptosporidium andersoni. Sp, (Apicomplexa: cryptosporiidae) from cattle, bos Taurus. J. Eukaryot. Microbiol. 47: 91-95.
- Martínez, A., Caballero, M., Silva, S., y Jiménez, C. 2002. Aislamiento y caracterización de coronavirus bovino asociado a un brote de diarrea epizootica (Disentería Bovina) en bovinos adultos en Costa Rica. III Seminario Internacional de Sanidad Animal y I Seminario de Producción Animal. ESPE, Sangolquí.

- McArthur, Deborah. 1997. Bovine Coronavirus Infection: Clinical Syndromes in Adult Cattle and Calves. Disponible en: <http://www.addl.purdue.edu/newsletters/1997/spring/bci.shtml>
- McAllister M. 2006. Protozoosis of the calf: Giardia, Cryptosporidium, Eimeria, Sarcocystis, Neospora. World Buiatrics Congress. Nice, France.
- Mebus, C. A. 1990. Virus infections of vertebrales. Virus infections ruminants. Neonatal calf diarrhea. Elsevier Science Publishers. Chapter 27: 297-300.
- Meganck, V., Hoflack, G y Opsomer, G. 2014. Advances in prevention and therapy of neonatal dairy cal diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. Acta Veterinaria Scandinavica. 56(1):56-75
- Mohler V y Matthew I, 2009. Salmonella in Calves. Veterinary Clinics Food Animals practice. 25:37-54.
- Moon, H. W., G. N. Woode, y F. A. Ahrens. 1982. Attempted chemoprophylaxis of Cryptosporidium in calves. Vet. Rec. 110:181.
- Navarre, C. 2000. Differentiation of gastrointestinal diseases of calves. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 6(1)37-57.
- Olsen M. C. Thorlakson, L. Deselliers, D. Morck, T. McAllister, 1997. Giardia and Cryptosporidium in Canadian farm animals. Vet parasitol. 68:375-81.
- Ortega, M. L. M., B. M. Gomez y V. F. A. Rojo. 1999. Parasitología. McGraw-Hill interamericana. España.
- Pare, J., Thurmond, M., Gardner, I, y Picanso, J. 1993. Effect of Birthweight, total protein, Serum IgG and packed cell Volume on Risk of Neonatal Diarrhea in Calves on Two California Dairies. Cannadian Journal Veterinary Research. 57:241-246.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., y Constable, P. D. 2006. Veterinary Medicine, A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. 10th edition O. pp. 847-856.

- Radostits, O, Gay C, Hinchcliff, K, y Constable, P. 2007 Acute undifferentiated diarrhea of newborn farm animal. In *Veterinary Medicine*. 10Th Ed. Saunders Elsevier.
- Rodríguez. V. y Roger I. 2005. Enfermedades de importancia económica en producción animal. McGraw Hill Interamericana, México. pp. 89-102.
- Saif, L. J. 2004. Animal coronaviruses: what can they teach us about the severe acute respiratory syndrome. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 23(2):643-660.
- Saif, L. J., Redman, D. R., Moorhead, P. D., y Theil, K. W. 1986. Experimentally induce coronavirus infections in calves: viral replication in the respiratory and intestinal tracts. *Am. J. Vet. Res.* 47: 1426-1432.
- Sanchez, J. A., Serrano, S., Marfil, R., y Jodral, M. 2009. Patógenos emergentes en la línea de sacrificio porcino. Ediciones Diaz de Santos S.A. p.81.
- Scott P, Hall G, Jones P, Morgan J. 2004. Calf Diarrhoea. In *Bovine Medicine. Diseases and Husbandry of Cattle*. Edited by Andrews. Second Edition. Blackwell Science Ltd. Oxford.
- Smith, D. R., Fedorka-Cray, P. J., Mohan, R., Brock, K. V., Wittum, T. E., Morley P. S., Hoblet, K. H., Saif, L. J. 1998. Evaluation of Cow-level risk factors for development of winter dysentery in dairy cattle. *Am. J. Vet. Res.* 59:986-993.
- Storz, J., Lin X. Q., Purdy, C. W., Chouljenko, V. N., Kousoulas, K. G., Enright, F. M., Gilmore, W. C., Loan, R. W. 2000. Coronavirus and Pasteurella infections in bovine shipping fever pneumonia and Evans' criteria for causation. *J. Clin. Microbiol.* 38 (9): 3291-3298.
- Takahashi, E., Inaba A., Sato K. 1980. Epizootic diarrhea of adult cattle associated with a coronavirus-like agent. *Vet Microbiol.* 5: 151-154.
- Tarek, K., Zaalouk, M., Bajaj-Elliott, J. T. G. y McDonald, V. 2004. Differential Regulation of Defensin Gene Expression during *Cryptosporidium parvum* Infection. *INFECTION AND IMMUNITY.* 72(5): 2772-2779.

Veling, J., Barkema, H., Schans, J., Zijderveld, F., y Verhoeff, J. 2002. Herd-level diagnosis for *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovar Dublin infection in bovine Dairy Herds. *Preventive Veterinary Medicine*. 53:31-42.