

## **Infección con *Cryptosporidium* sp. y su asociación con diarrea becerros de ganadería de doble propósito**

Adelina Díaz de Ramírez\*, Lilido N. Ramírez Iglesia, José G. Morillo Luque  
y Alejandro J. Barreto Bastidas

\*Universidad de Los Andes, Núcleo Trujillo. Apartado Postal 198, Trujillo 3150, estado Trujillo. Venezuela \*Correo Electrónico:  
[adediazra@yahoo.com](mailto:adediazra@yahoo.com)

### **RESUMEN**

La presencia de *Cryptosporidium* sp. y su asociación con diarrea fue determinada en 31 becerros mestizos de ganadería de doble propósito (*Bos taurus* x *Bos indicus*) nacidos durante cuatro meses consecutivos en una finca comercial. Durante el primer mes de vida fueron colectadas de cuatro a cinco muestras fecales por becerro, para un total de 140, las cuales fueron procesadas por el método de centrífugo-flotación con NaCl y coloreadas con carbol-fucsina. Los resultados mostraron que todos los becerros adquirieron la infección antes de los 15 días de edad, observándose asociación altamente significativa ( $P<0,01$ ) entre la edad de los animales y la infección con *Cryptosporidium* sp. Las muestras presentaron consistencia líquida y semilíquida (47,1%) y de estas muestras, el 84,8% exhibieron ooquistes de *Cryptosporidium* sp. En contraste, solo el 33,8% de las muestras de consistencia normal presentaron dichas formas, observándose una asociación altamente significativa entre infección con *Cryptosporidium* sp. y la consistencia de las heces ( $P<0,01$ ). El riesgo de manifestar diarrea en los becerros infectados con *Cryptosporidium* sp fue 2,51 veces mayor que los no infectados. Los casos de diarrea predominaron entre los 4 a 14 días de edad de los becerros. Aunque en todas las edades el porcentaje de muestras diarreicas fue mayor entre las positivas, solo en las tres primeras colectas existió una asociación significativa ( $P<0,05$ ) entre la infección por *Cryptosporidium* sp y diarrea. Por consiguiente, el riesgo de presentar diarrea entre los becerros infectados fue significativamente mayor para los animales menores de 15 días de edad.

*Palabras clave:* Becerros, neonatos, *Cryptosporidium* sp., diarrea, ganadería doble propósito.

## **Infection with *Cryptosporidium* sp., and its association with diarrhea in calves of dual-purpose herds**

### **ABSTRACT**

The presence of *Cryptosporidium* sp. infection and its association with diarrhea were determined in 31 crossbred calves dual-purpose herds (*Bos Taurus* x *Bos indicus*) born during four consecutive months at a commercial farm. During the first months of life, four to five fecal samples per calf were collected for a total of 140. The samples were processed by the NaCl centrifugal-flotation method and staining with carbol-fuchsin. The results showed that all animals acquired the infection before 15 days of age, and it was observed a highly significant association ( $P<0.01$ ) between the age of calves and the infection with *Cryptosporidium* sp. Consistency of the samples was liquid and semi-liquid (47.1%), while 84.8% of these samples showed *Cryptosporidium* sp. oocysts. In contrast, only 33.8% of the samples with normal consistency showed parasites. There was a highly significant association ( $P<0.01$ ) between infection with *Cryptosporidium* sp and the fecal consistency. The risk of presenting diarrhea on infected calves with *Cryptosporidium* sp. was 2.51 times higher compared to those uninfected calves. The diarrhea cases were predominant from 4 to 14 days old calves. Even though the diarrheic sample percentage was higher among the positives ones for all ages, only there was a significant association ( $P<0.05$ ) between infection due to *Cryptosporidium* sp. and diarrhea for the first three collections. Therefore, the risk of presenting diarrhea among infected calves was significantly higher for those animals that were less than 15 days old.

*Keywords:* Calves, neonates, *Cryptosporidium* sp., diarrhea, dual-purpose herds.

## INTRODUCCIÓN

La infección por *Cryptosporidium parvum*, patógeno que coloniza el epitelio del intestino de humanos, bovinos y otros animales, resulta a menudo en enteritis aguda y enfermedad diarreica (Casemore *et al.*, 1997; Fayer *et al.*, 1997). Este organismo presenta interés en salud pública debido a su carácter zoonótico y ha sido identificado con frecuencia en bovinos, particularmente en los becerros (Becher *et al.*, 2004; Santín *et al.*, 2004), en los cuales constituye uno de los principales agentes etiológicos de la diarrea neonatal (de la Fuente *et al.*, 1999; Moore y Zeman, 1991; Naciri *et al.*, 1999; Uga *et al.*, 2000).

*C. parvum* es un organismo ubicuo y ha sido reportado desde muchas regiones geográficas del mundo. En Venezuela, el estudio sobre *Cryptosporidium* sp. en el ganado bovino es incipiente; no obstante, este parásito ya ha sido identificado en becerros de explotaciones ganaderas de algunas zonas del país (Surumay y Alfaro, 2000; Valera *et al.*, 2001; Díaz de Ramírez *et al.*, 2004).

En estudios conducidos en rebaños lecheros donde se evaluaron los factores asociados con el riesgo de infección, se ha señalado que los primeros 30 días de vida de los animales se corresponde con el período de máximo riesgo de infección con *Cryptosporidium parvum* (Castro-Hermida *et al.*, 2002a; Becher *et al.*, 2004), el cual se incrementa en condiciones de hacinamiento y cuando las medidas de higiene y ciertas prácticas de manejo son deficientes (Atwill *et al.*, 1999; Mohammed *et al.*, 1999). De esa forma, los becerros menores de un mes constituyen la población más vulnerable y cualquier esfuerzo diseñado para controlar la infección por *C. parvum* debe ser dirigido principalmente a este grupo de edad, en donde el parásito puede impactar adversamente sobre la salud de los animales, particularmente como agente causal de diarrea, ya sea sólo o en combinación con otros enteropatógenos (Xiao y Herd, 1994; Olson *et al.*, 2004; O'Handley *et al.*, 1999).

En la ganadería de doble propósito se requiere un mayor conocimiento del curso de la infección por *Cryptosporidium* sp., en particular durante el período de mayor riesgo de infección. Esto permitiría desarrollar medidas preventivas adecuadas, tendientes a reducir la contaminación ambiental y el riesgo para la salud animal y humana. En ese sentido, el objetivo

de este trabajo fue estudiar la infección por *Cryptosporidium* sp., durante el primer mes de vida, en becerros de una explotación de doble propósito, así como evaluar la importancia de este parásito como causa de diarrea en dichos animales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales y unidad de producción

El estudio se desarrolló en una finca comercial de doble propósito, ubicada en el estado Trujillo, Venezuela, en un área de bosque húmedo tropical, a los 9° 25' N y 70° 50' O, con precipitaciones que oscilan entre 2.000 y 2.500 mm al año y temperaturas anuales de 26 a 29°C. Esta finca presentaba historia de animales con diarrea y se estudiaron 31 becerros nacidos durante cuatro meses consecutivos. El grupo estaba integrado por 13 hembras y 18 machos, mestizos *Bos taurus* (Holstein o Pardo suizo) x *Bos indicus* (Brahman o Guzera).

Las primeras 24 horas siguientes a su nacimiento, los becerros se mantuvieron en el área de maternidad junto a sus madres y luego fueron transferidos a una becarrera colectiva hasta los siete días de edad. Posteriormente y hasta el destete, todos los becerros compartieron dos potreros, los cuales eran rotados cada 3 días y se les suministraba melaza con Pecutrin®. Las vacas se ordeñaban mecánicamente dos veces al día con apoyo de sus crías, para lo cual, estas eran conducidas a la sala de ordeño y luego a un corral de post-ordeño donde permanecían entre 2 a 4 horas junto a sus madres. En dicho corral, así como en el de maternidad, las excretas fueron recolectadas dos o tres veces al mes. En el corral de recién nacidos, solo una tercera parte del piso era de cemento rústico, el cual se lavaba con un chorro de agua a presión una o dos veces por semana, dependiendo de la carga animal y de las excretas acumuladas. Las aguas servidas se eliminaban hacia una laguna de oxidación.

### Colecta y procesamiento de las muestras.

Las muestras fecales, en número de cuatro a cinco por becerro, fueron obtenidas directamente del recto. La primera muestra fue colectada dentro de las 72 horas posteriores al nacimiento, la siguiente entre 4 y 7 días, continuándose luego con una muestra semanal, hasta completar el mes de vida de los

animales. De acuerdo a la consistencia, las heces se clasificaron en diarreicas (líquidas y semilíquidas) y en normales (formadas y pastosas). Las muestras fueron transportadas bajo refrigeración, conservadas a 4°C y procesadas dentro de las 24 horas de su colecta, usando un método de concentración mediante la centrifugación-flotación en una solución de cloruro de sodio (gravedad específica de 1,21) (Kuczynska y Shelton, 1999). Las preparaciones fueron coloreadas con la técnica de carbol- fucsina (Arrowood, 1997) y examinadas en microscopio óptico, bajo el objetivo de inmersión 100X.

### Análisis estadístico.

La estadística descriptiva fue realizada usando el PROC FREQ del programa estadístico SAS (1989). Los datos fueron analizados con la prueba exacta de Fisher's cuando el número de observaciones en alguna celda fue menor de 5, o pruebas de Ji-cuadrado cuando dicho valor supera a 5. Además, las muestras se agruparon por colecta correspondiendo a becerros menores de 3, 4-7, 8-14, 15-21 y 22-31 días de edad, correspondientes a la semana 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente. Se calculó la tasa de riesgo relativo (RR) y su intervalo de confianza (IC) de 95%, para investigar la relación entre infección por *Cryptosporidium* y diarrea en las diferentes colectas, usando cada grupo como referencia. El RR de infección fue considerado significativo si el IC 95% no incluye 1. Los datos fueron procesados en el Centro de Computación de la Universidad de los Andes (Cecalcula).

## RESULTADOS

En total se examinaron 140 muestras correspondientes a 31 becerros, 13 hembras y 18 machos, no observándose diferencias estadísticamente significativas entre sexos en el riesgo de infección por *Cryptosporidium* sp. Todos los animales resultaron infectados, considerando que al menos una de las muestras obtenidas de cada becerro fue positiva. La excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. se inició entre los 3-14 días de vida, mientras que 22,6% de los animales comenzaron a excretarlos a la edad de tres días, el 51,6% entre 4-7 y el 25,8% restante entre los 8-14 días de edad (Cuadro 1). De esta manera, para la segunda semana de vida, la totalidad de los becerros habían hecho patente la infección.

Las mayores prevalencias de infección se observaron cuando los animales tenían entre 4-14 días de edad y correspondieron a la 2<sup>da</sup> y 3<sup>ra</sup> colecta, con 77,4% y 81,5%, respectivamente. Luego el porcentaje de becerros que excretaron ooquistes disminuyó a 54,5 y 55,2% en la 4<sup>a</sup> y 5<sup>a</sup> colecta, respectivamente. Se observó una asociación altamente significativa ( $P < 0,01$ ) entre la infección por *Cryptosporidium* sp. y la edad de los becerros (Cuadro 1).

El examen de la consistencia de las heces señala que el 47,1% (66/140) de las muestras fueron diarreicas, y de estas, 84,8% (56/66) presentaron ooquistes de *Cryptosporidium* sp. En contraste, solo el 33,8% (25/74) de las muestras de consistencia normal exhibieron ooquistes (Figura 1). Al mismo tiempo, la mayoría de las muestras negativas (83%) mostraron consistencia normal. Igualmente, del examen de la consistencia de las heces se constató que en el 93,5% (29/31) de los becerros, al menos una de las cinco muestras examinadas resultó líquida o semilíquida. Los resultados indican que en general, existe una asociación altamente significativa entre infección con *Cryptosporidium* sp. y la consistencia de las heces ( $P < 0,01$ ). Adicionalmente, el análisis de la relación entre diarrea e infección por *Cryptosporidium* sp. reveló un riesgo relativo de 2,51 (95% intervalo de confianza = 1,86-3,37) con un valor de asociación de  $P < 0,001$ , lo cual indica una alta asociación significativa entre infección por *Cryptosporidium* y la ocurrencia de diarrea. Los episodios de diarrea se evidenciaron con mayor frecuencia entre 4 y 14 días de edad, alcanzando a 71% (22/31) y 66,7% (18/27) la proporción de animales que manifestaron diarrea cuando tenían edades comprendidas entre 4-7 y 8-14 días, respectivamente. Al examinar la relación entre infección por *Cryptosporidium* sp. y diarrea según la edad de los becerros, se aprecia que en todas las edades el porcentaje de animales infectados es mayor entre los diarreicos que entre los no diarreicos (Cuadro 2). Sin embargo, los resultados señalan que solo en las tres primeras colectas existe una asociación significativa ( $P < 0,05$ ) entre infección por *Cryptosporidium* sp. y diarrea. Igualmente, en los becerros <15 días de edad el riesgo de presentar cuadros de diarrea fue significativamente mayor para los infectados con *Cryptosporidium* que para los no infectados (Cuadro 2). Estos resultados sugieren que existe una significativa asociación entre infección por *Cryptosporidium* sp. y la ocurrencia de diarrea.

Cuadro 1. Prevalencia de infección por *Cryptosporidium* sp. durante el primer mes de vida en becerros de ganadería doble propósito.

Colecta†	Edad	Beceros		Prevalencia
		Examinados	Positivos	
	días	----- numero -----		%
1	≤3	31	7	22,6
2	4-7	31	24	77,4
3	8-14	27	22	81,5
4	15-21	22	12	54,5
5	22-31	29	16	55,2
Total		140	81	57,8

$\chi^2 = 27,05; P < 0,01$

† Muestreo semanal (4-5 muestras por becerro).

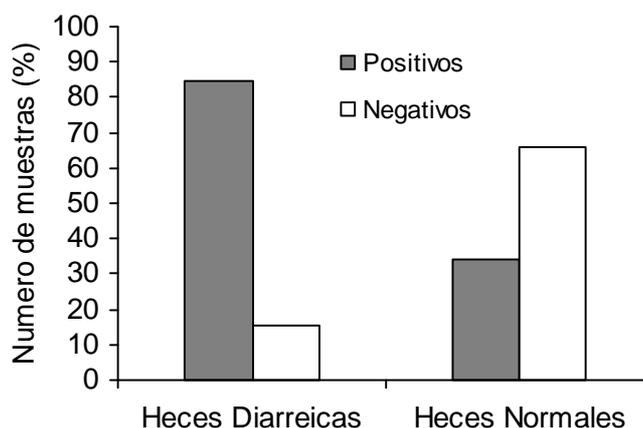


Figura 1. Relación entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. y diarrea en muestras fecales obtenidas en cinco colectas, durante el primer mes de vida en becerros de ganadería doble propósito ( $\chi^2 = 37,3; P < 0,001$ )

Cuadro 2. Infección por *Cryptosporidium* sp. durante el primer mes de vida en becerros con cuadros de diarrea, riesgo relativo (RR) e intervalo de confianza (IC) de 95%

Edad	Beceros con diarrea			Beceros sin diarrea			RR	IC
	N	Infectados	No Infectados	N	Infectados	No Infectados		
Días		----- % -----			----- % -----			
≤3	7	57,1*	42,9	24	12,5	87,5	4,57	1,35-15,45‡
4-7	22	95,5*	4,5	9	33,3	66,7	6,12	2,34-16,02‡
8-14	18	94,4*	5,5	9	55,6	44,4	3,86	1,28-11,67‡
15-21	10	70,0	30,0	12	41,6	58,4	1,94	0,71-5,30
22-31	9	77,8	22,2	20	45,0	55,0	2,84	0,79-10,12

\* Test exacto de Fisher (2 colas)  $P < 0,05$

‡ Indica significancia a  $P < 0,05$

## DISCUSIÓN

Este estudio muestra que todos los becerros examinados excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* sp., antes de los 30 días de edad. Resultados similares fueron reportados en rebaños lecheros por Uga *et al.* (2000) y Castro-Hermida *et al.* (2002a) para animales pertenecientes al mismo grupo de edad, donde se señalan porcentajes de infección del 93 y 100%, respectivamente. De igual forma, en estudios donde los animales fueron evaluados mediante el examen de varias muestras fecales, las tasas acumulativas de infección alcanzaron el 100% (Anderson, 1981; Xiao & Herd, 1994; O'Handley *et al.*, 1999).

En becerros de ganadería de doble propósito con menos de 30 días de edad, se han reportado porcentajes de infección del 50,8% (Valera *et al.*, 2001) y 43,1% (Díaz de Ramírez *et al.*, 2004), mediante el examen de una única muestra por animal. Como la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* puede ser intermitente (O'Handley *et al.*, 1999) y relativamente, de corta duración (Fayer *et al.*, 1997; O'Handley *et al.*, 1999; Uga *et al.*, 2000), la tasa de detección del parásito presentará variaciones, dependiendo del número de muestras examinadas por animal. Al respecto, se piensa que el verdadero valor de prevalencia de la infección por *Cryptosporidium*, queda subestimado, si resulta del examen de una sola muestra por animal (Fayer *et al.*, 1998; Castro-Hermida *et al.*, 2002b). Por el contrario, en el presente estudio la excreción de ooquistes fue verificada a través del acompañamiento semanal durante el primer mes de vida de los becerros, aumentando así la probabilidad de detectar a los animales positivos.

Varios autores coinciden en señalar que los becerros menores de un mes son en particular susceptibles a la infección por *C. parvum* (Moore y Zeman, 1991; de la Fuente *et al.*, 1999; Mohammed *et al.*, 1999) y especialmente, alrededor de la segunda semana de vida se han constatado los mayores valores de prevalencia (Anderson, 1981; de la Fuente *et al.*, 1999; Uga *et al.*, 2000). Al respecto, en el presente estudio el mayor porcentaje (81,5%) de infección con *Cryptosporidium* sp. se observó cuando los becerros tenían entre 8 a 14 días de edad. Los resultados también sugieren que un número importante de ellos adquirieron la infección inmediatamente después del nacimiento, considerando que el 22,6% comenzó a

excretar ooquistes a los tres días de edad y más del 50% entre el cuarto y séptimo día. Varios autores señalan la detección de ooquistes del parásito en becerros de solo tres días de edad (Quílez *et al.*, 1996; Castro-Hermida *et al.*, 2002a; Díaz de Ramírez *et al.*, 2004) e incluso, Quílez *et al.* (1996) han reportado tasas de infección que alcanzan el 44,4 % en animales de apenas 3-4 días de nacidos.

En becerros experimentalmente infectados con *C. parvum*, el período prepatente está en el rango de dos a siete días (Fayer *et al.*, 1997) mientras que en infecciones naturales, se estima que oscile de 3 a 12 días (Anderson, 1981). Es posible por lo tanto, que gran parte de los animales evaluados adquirieran la infección poco tiempo después del nacimiento, durante su permanencia en el área de maternidad. Algunos autores indican que, en aquellos sistemas de manejo donde se reduce el contacto entre las vacas y sus becerros, el riesgo de infección para estos últimos disminuye (Garber *et al.*, 1994; Mohammed *et al.*, 1999), mientras que otros sostienen la importancia del contacto becerro-becerro como fuente de transmisión (O'Handley *et al.*, 1999, Becher *et al.*, 2004). Tampoco se desestima que el suelo contaminado pueda representar un reservorio importante de ooquistes de *Cryptosporidium*, suficiente para inducir infección en los becerros. En un estudio conducido en explotaciones lecheras del sudeste del estado de Nueva York, Barwick *et al.* (2003) examinaron 782 muestras de suelo y observaron que el 17% presentaba ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y además constataron que en el 92% de las 37 fincas evaluadas, al menos una de las muestras resultó positiva. Con relación a este último aspecto, en el presente trabajo se logró identificar ooquistes de *Cryptosporidium* en muestras de suelo recogidas en los corrales de maternidad y de recién nacidos, así como de los potreros donde permanecían los becerros hasta el destete (resultados no mostrados). Fayer *et al.* (1997) indican que los ooquistes son extremadamente resistentes y luego de su eliminación con las heces, permanecen infectivos en el ambiente durante largos períodos de tiempo.

Las condiciones higiénico-sanitarias deficientes, observadas en algunas áreas frecuentadas por los animales recién nacidos, incrementan el riesgo de infección y probablemente fueron factores que contribuyeron con la alta tasa de infección registrada. Varios autores han reportado que el riesgo de

infección tiende a disminuir cuando los animales son alojados individualmente en lugares previamente desinfectados, así como, cuando disponen de pisos de cemento que son lavados diariamente con agua, usando chorro de manguera a presión (Garber *et al.*, 1994; Mohammed *et al.*, 1999; Castro-Hermida *et al.*, 2002b).

El presente estudio se basó en la detección e identificación morfológica de los ooquistes de *Cryptosporidium*, y aunque el método utilizado provee evidencias sobre la presencia del parásito en la población estudiada, no permite identificar las especies o genotipos que infectan a los bovinos. Utilizando técnicas moleculares, Santín *et al.* (2004) demostraron que la prevalencia de las especies y genotipos de *Cryptosporidium* estaría relacionada con la edad. Sus hallazgos indican que los becerros menores de dos meses de edad representa la población predominantemente infectada (85%) con *C. parvum* genotipo zoonótico. Este organismo constituyó el 90% de las muestras positivas asociadas con becerros de 3 semanas de edad y fue la única especie asociada con becerros de una a dos semanas de vida.

Aunque se ha observado una variedad de signos clínicos, la diarrea constituye la principal manifestación de la criptosporidiosis. En general, esta suele ser moderada e intermitente, pero en algunos casos llega a ser profusa y acuosa. A veces, la diarrea está acompañada de fiebre, anorexia, deshidratación, debilidad y pérdida de peso (Heine *et al.*, 1984). Los resultados del presente trabajo sugieren que la infección por *Cryptosporidium* sp. pudo haber sido una causa importante de la diarrea observada en los animales menores de 30 días de edad. En efecto, de las 140 muestras fecales examinadas, 66 (47,1%) fueron líquidas o semilíquidas y en la mayoría de estas (84,8%) se detectaron ooquistes de *Cryptosporidium* sp. Se constató además, que los becerros que excretaron ooquistes tenían 2,5 veces mayor riesgo de manifestar diarrea que los animales no infectados, encontrándose una asociación altamente significativa entre infección por *Cryptosporidium* sp. y ocurrencia de diarrea, en especial en los animales menores de 15 días de edad. En becerros de rebaños lecheros, diversos estudios han señalado que existe una asociación significativa entre la infección por *C. parvum* y los cuadros de diarrea (de la Fuente *et al.*, 1999; O'Handley *et al.*,

1999; Naciri *et al.*, 1999; Uga *et al.*, 2000, Trotz-Williams *et al.*, 2005).

A pesar que las infecciones concurrentes con otros enteropatógenos, así como los factores ambientales, de manejo y nutricionales pueden influir en el curso de la criptosporidiosis, varios autores coinciden en reconocer la importancia que tiene *Cryptosporidium* como patógeno primario, causante de diarrea aguda en becerros neonatos (Moore y Zeman, 1991; de la Fuente *et al.*, 1999; O'Handley *et al.*, 1999) Los resultados de este estudio sugieren que *Cryptosporidium* sp. induce cambios evidentes en la consistencia de las heces, razón por la cual son necesarias futuras investigaciones tendientes a determinar el potencial impacto de este parásito sobre la producción animal, así como identificar los factores que puedan estar asociados con el riesgo de adquirir la infección e inducir cuadros clínicos.

## CONCLUSIONES

El presente estudio aporta información sobre la frecuencia de la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. en becerros de una explotación de doble propósito. En el mismo, se evidenció que todos los animales eliminaron ooquistes del parásito antes de los 15 días de edad. Se constató además, que los becerros infectados con el parásito tenían 2,5 veces mayor riesgo de manifestar diarrea que los no infectados, encontrándose una asociación altamente significativa entre infección por *Cryptosporidium* sp. y ocurrencia de diarrea, en especial en los animales menores de 15 días de edad.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Agropecuaria Santa Teresa C.A. por el apoyo brindado.

## LITERATURA CITADA

- Anderson B.C. 1981. Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. J. Am. Vet. Med. Assoc., 78: 982-984.
- Atwill E.R., E. Johnson, D.J. Klingborg, G.M. Veserat, G. Markegard, W.A. Jensen, D.W. Pratt, R.E. Delmas, H.A. George, L.C. Forero, R.L. Philips, S.J. Barry, N.K. McDougald, R.R. Gildersleeve y W.E. Frost. 1999. Age,

- geographic, and temporal distribution of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cow- calf herds. *Am. J. Vet. Res.*, 60: 420-425.
- Arrowood M.J. 1997. Diagnosis. *En* Fayer R. (Ed.) *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 43-64.
- Barwick R.S., H.O. Mohammed, M.E. White y R.B. Bryant. 2003. Prevalence of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. on dairy farms in southeastern New York state. *Prev. Vet. Med.*, 59(1-2): 1-11.
- Becher K.A., I.D. Robertson, D.M. Fraser, D.G. Palmer y R.C.A. Thompson. 2004. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. *Vet. Parasitology*, 123: 1-9.
- Casemore D.P, S.E. Wright y R.L. Coop. 1997. Cryptosporidiosis-human and animal epidemiology. *En* Fayer R. (Ed.) *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton. USA. pp. 65-92.
- Castro-Hermida J.A., y. A. González-Losada, M. Mezo-Menéndez y E. Ares-Mazás. 2002a. A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. *Vet. Parasitology*, 106: 11-17.
- Castro-Hermida J.A., A. González-Losada y E. Ares-Mazás. 2002b. Prevalence of and risk factors involved in spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (N W Spain). *Vet. Parasitology*, 106: 1-10.
- de la Fuente R., M. Luzón, J.A. Ruiz-Santa-Quiteria, A. García, D. Cid, J.A. Orden, S. García, R. Sanz y M. Gómez-Bautista. 1999. *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Vet. Parasitology*, 80: 179-185.
- Díaz de Ramírez A., L.N. Ramírez-Iglesia, O. Hernández y N. Montilla. 2004 *Cryptosporidium* sp. en becerros neonatos de ganadería lechera y de doble propósito del estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 22(2): 125 – 132
- Fayer R., C.A. Speer y J.P. Dubey. 1997. The general biology of *Cryptosporidium*. *En* Fayer R. (Ed.) *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, USA. pp. 1-41.
- Fayer R., L. Gasbarre, P. Pascuali, A. Canals, S. Almeria y D. Zarlega. 1998. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patters. *J. Parasitol.*, 28(1): 49-56.
- Garber L.P., M.D. Salman, H.S. Hurd, T. Keefe y J.L. Schlater. 1994. Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 205(1): 86-91.
- Heine J., J.F.L. Pohlenz, H.W. Moon y G.N. Woode. 1984. Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. *J. Infect. Dis.*, 150: 768-775.
- Kuczynska E. y D.R. Shelton. 1999. Method for detection and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in feces, manures and soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 2820-2826.
- Mohammed H.O, S.E. Wade y S. Schaaf. 1999. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York state. *Vet. Parasitology*, 83: 1-13.
- Moore D.A. y D.H. Zeman. 1991. Cryptosporidiosis in neonatal calves: 277 cases (1986-1987). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 198: 1969-1971.
- Naciri M., M.P. Lefay, R. Mancassola, P. Poirier y R. Chermette. 1999. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet. Parasitology*, 85: 245 - 257.
- O'Handley R.M., C. Cockwill, T.A. McAllister, M. Jelinski, D.W. Morck y M.E. Olson. 1999. Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 214(3): 391-396.
- Olson M.E., R.M. O'Handley, B.J. Ralston, T.A. McAllister y R.C.A. Thompson. 2004. Update on

*Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. Trends Parasitology, 20(4): 185-191.

Quilez J., C. Sánchez-Acedo, E. del Cacho, A. Clavel y A.C. Causape. 1996. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infection in cattle in Aragón (northeastern Spain). Vet. Parasitology, 66: 139-146.

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

SAS Institute. 1989. SAS/STAT User's Guide. Version 6, 4<sup>ta</sup> ed. SAS Inst. Cary, NC.

Surumay Q. y C. Alfaro. 2000. *Cryptosporidium* spp. en bovinos jóvenes de fincas de la región oriental de Venezuela. Rev. Invest. Clínica, 41: 245-250.

Trotz-Williams L.A., B.D. Jarvie, S.W. Martin, K.E. Leslie y A. Peregrine. 2005. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. Can. Vet. J., 46(4): 349-351.

Uga S., J. Matsuo, E. Kono, K. Kimura, M. Inoue, S.K. Rai y K. Ono. 2000. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocysts shedding in calves in Japan. Vet. Parasitology, 94: 27 - 32.

Valera Z., W. Quintero, R. Villarroel y E. Hernández. 2001. *Cryptosporidium* Sp. en becerros neonatos de una finca del Municipio Rosario de Perijá, estado Zulia, Venezuela. Rev. Cien. Fac. Cien. Vet LUZ, 11(3): 213-218.

Xiao L. y R.P Herd. 1994. Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. Vet. Parasitology, 55: 257-262.