

INFECCIÓN CON *Cryptosporidium* sp. Y SU ASOCIACIÓN CON DIARREA EN BECERROS DE GANADERÍA DE DOBLE PROPÓSITO *

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

Díaz de Ramírez A., Ramírez-Iglesia L. N., Morillo Luque J. G., Barreto Bastidas A. J.

Universidad de Los Andes-Núcleo Trujillo. Correo-e: 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 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. El 47,1% (66/140) de las muestras fueron de consistencia líquida y semilíquida, de estas, el 84,8% (56/66) exhibieron ooquistes de *Cryptosporidium* sp., en contraste, solo el 33,8% (25/74) 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 para los becerros infectados con *Cryptosporidium* sp fue 2,51 veces mayor comparado con los no infectados. Los casos de diarrea predominaron entre los 4-14 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 existe una asociación significativa ($P < 0,05$) entre infección por *Cryptosporidium* sp y diarrea. Por consiguiente, el riesgo de presentar diarrea entre los becerros infectados, fue significativamente mayor para los <15 días de edad.

Palabras clave: Diarrea becerros, *Cryptosporidium* sp., ganadería doble propósito.

INTRODUCCIÓN

La infección ocasionada por *Cryptosporidium parvum*, protozooario enteropatógeno, presenta interés en salud pública debido a su carácter zoonótico y constituye uno de los principales agentes etiológicos de la diarrea neonatal de los becerros (de la Fuente *et al.*, 1.999; Moore y Zeman, 1.991; Naciri *et al.*, 1999; Uga *et al.*, 2000).

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). Los becerros menores de un mes, constituye 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* spp, en particular durante el período de mayor riesgo de infección, lo cual permitiría desarrollar medidas preventivas adecuadas, tendientes a reducir la contaminación ambiental y el riesgo para la salud animal y humana.

Objetivos

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 y evaluar la importancia de este parásito como causa de diarrea en dichos animales.

MATERIALES Y MÉTODOS

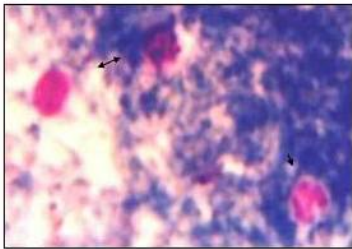
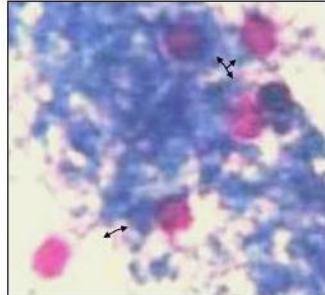
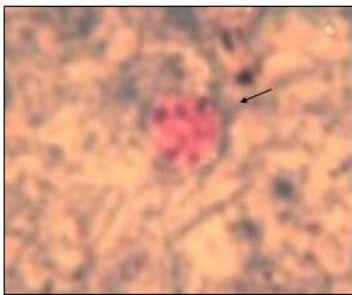
Animales y unidad de producción. En una finca de doble propósito con historia de animales con diarrea, ubicada en el estado Trujillo en un área de bosque húmedo tropical, a los 9° 25' lat. N y 70° 50' long. O, con precipitaciones de 2.000 a 2.500 mm al año y temperaturas de 26 a 29 °C, se estudiaron 31 becerros mestizos *Bos taurus* (Holstein o Pardo suizo) x *Bos*

indicus (Brahman o Guzera), de ambos sexos, nacidos durante cuatro meses consecutivos.

Los becerros permanecieron las 24 h siguientes a su nacimiento junto a sus madres, luego fueron transferidos a una becarrera colectiva hasta los siete días de edad; posteriormente y hasta el destete, todos los becerros compartían dos potreros los cuales eran rotados cada tres 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; pasaban luego a un corral de post-ordeño donde permanecían entre 2 a 4 h junto a sus madres. En dicho corral, así como en el de maternidad, las excretas eran recolectadas dos o tres veces al mes.

Colecta y procesamiento de las muestras. De cada becerro se obtuvo 4 a 5 muestras fecales, la primera dentro de las 72 h posteriores al nacimiento, la siguiente entre el 4°-7° día y luego una muestra semanal, hasta completar el mes de vida de los animales. Las heces se clasificaron en diarreicas (líquidas y semilíquidas) y en normales (formadas y pastosas). Fueron transportadas bajo refrigeración, conservadas a 4°C y procesadas dentro de las 24 h de su colecta, usando un método de concentración mediante centrífugo-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.

ASPECTO Y CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* sp. AISLADOS DE BECERROS



Largo (µm)
4,0 - 5,5; $\bar{X} \pm DE = 4,5 \pm 0,49$
Ancho (µm)
3,5 - 5,0; $\bar{X} \pm DE = 4,2 \pm 0,31$
Índice de la forma
0,9 - 1,38; $\bar{X} \pm DE = 1,1 \pm 0,10$
N=241

Análisis Estadístico. La estadística descriptiva fue realizada usando el programa estadístico SAS (1989). Los datos fueron analizados con la prueba exacta de Fisher's o pruebas de Ji-cuadrado. Las muestras se agruparon por colecta correspondiendo desde la 1ª a la 5ª, en forma sucesiva, a becerros ≤ 3 , 4-7, 8-14, 15-21 y 22-31 días de edad. Se calculó la tasa de riesgo relativo (RR) y su intervalo de confianza (IC) 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 (CecalULA)

RESULTADOS

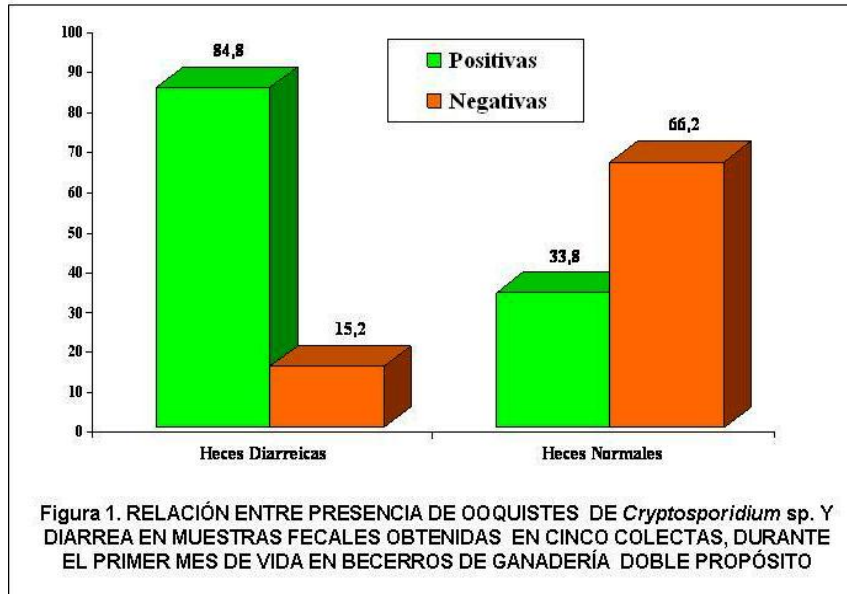
En total se examinaron 140 muestras correspondientes a 31 becerros, 13 fueron hembras y 18 machos, no observándose diferencias estadísticamente significativas en el riesgo de infección por *Cryptosporidium* sp., entre ambos sexos. Todos los animales resultaron infectados, considerando que al menos una 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, el 22,6 % (7/31) comenzó a excretarlos a la edad de tres días, el 51,6 % (16/31) entre 4-7 y el 25,8% (8/31) restante de 8 a 14 días de edad, de manera que, para la segunda semana de vida, la totalidad de los becerros habían hecho patente la infección.

Los mayores porcentajes de infección se apreciaron cuando los animales tenían 4 a 14 días de edad y correspondieron a la 2ª y 3ª colecta, con 77,4% y 81,5% respectivamente. Se observó una asociación altamente significativa ($P < 0,01$) entre la infección por *Cryptosporidium* sp. y la edad de los becerros (Tabla 1).

Tabla 1.- PORCENTAJE DE INFECCIÓN POR <i>Cryptosporidium</i> sp. DURANTE EL PRIMER MES DE VIDA EN BECERROS DE GANADERÍA DOBLE PROPÓSITO				
Colecta	Edad en días	Muestras fecales		
		Examinadas	Positivas	
		Nº	Nº	%
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
$P < 0,01$				

El examen de la consistencia de las heces señala que el 47,1% (66/140) de las muestras fueron diarreicas (liquidas y semilíquidas), 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.

Los resultados indican que en general, existe una asociación altamente significativa entre infección con *Cryptosporidium* sp. y 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 fuerte y altamente significativa asociación entre infección por *Cryptosporidium*

y la ocurrencia de diarrea.

Los episodios de diarrea se evidenciaron con mayor frecuencia cuando los becerros tenían entre 4-7 y 8-14 días de edad, afectando al 71 y 66,7% respectivamente (Tabla 2).

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 diarreicos es mayor entre los infectados que entre los que no eliminaron ooquistes (Figura 2), pero 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 y en particular en los de 4-7 días, el riesgo de presentar cuadros de diarrea fue significativamente mayor para los infectados con *Cryptosporidium* que para los no infectados (Tabla 2). Estos resultados sugieren que existe una significativa asociación entre infección por *Cryptosporidium* sp. y la ocurrencia de diarrea.

Tabla 2.- PORCENTAJE DE INFECCIÓN POR *Cryptosporidium* sp. DURANTE EL PRIMER MES DE VIDA EN BECERROS CON CUADROS DE DIARREA, RIESGO RELATIVO (RR) E INTERVALO DE CONFIANZA (IC) 95 %

Edad en días	Beceros con cuadros de diarrea						
	X / n	%	Infectados con <i>Cryptosporidium</i>				
			N°	%	RR	95 % IC	P
≤ 3	7/31	22,6	4	57,1	4,57	1,35-15,45	0,01
4-7	22/31	71,0	21	95,5	6,12	2,34-16,02	0,001
8-14	18/27	66,7	17	94,4	3,86	1,28-11,67	0,01
15-21	10/22	45,4	7	70,0	1,94	0,71- 5,30	0,1
22-31	9/29	31,0	7	77,8	2,84	0,79-10,12	0,1

X: Número de muestras diarreicas; n: Número de muestras examinadas

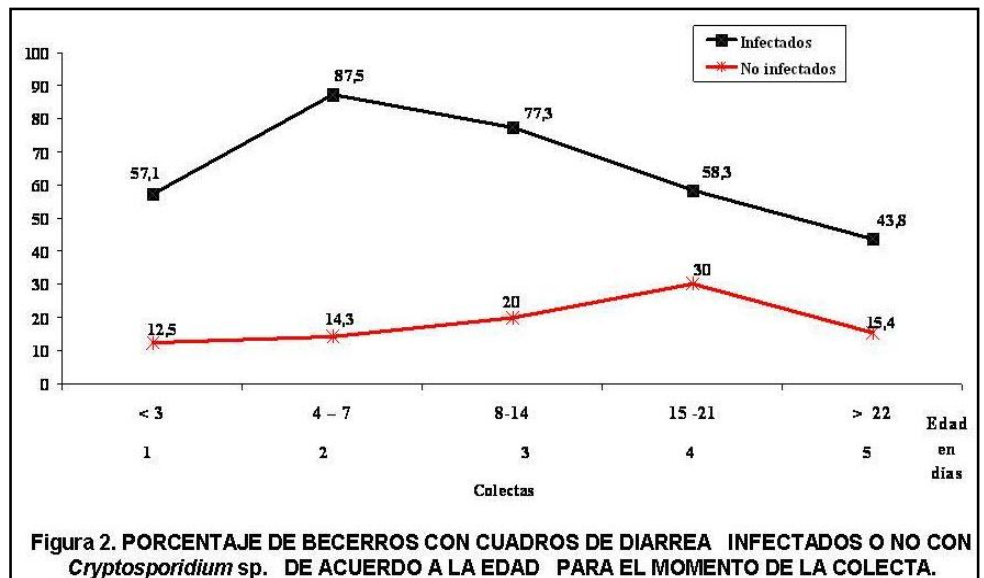
DISCUSIÓN

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, en los cuales se señalan prevalencias del 93 y 100 % respectivamente. Estudios donde los animales fueron evaluados por un período de tiempo mediante el examen de varias muestras fecales, las tasas acumulativas de infección alcanzaron el 100% (Anderson, 1981; Xiao y Herd, 1994; O’Handley, *et al.*, 1999).

En becerros \leq 30 días de edad de ganadería de doble propósito, 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 en estos casos, 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 (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 y el verdadero valor de prevalencia de la infección quedaría subestimado, si resulta del examen de una sola muestra por animal (Fayer *et al.* 1998; Castro-Hermida *et al.*, 2002b). 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 positivos.

Se ha señalado 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) constatándose las mayores prevalencias alrededor de la segunda semana de vida (Anderson, 1981; de la Fuente *et al.*, 1999; Uga *et al.*, 2000). En este estudio, el mayor porcentaje (81,5%) de infección se observó en becerros de 8 a 14 días de edad.



El 22,6% de los animales comenzó a excretar ooquistes a los tres días de edad y más del 50% entre 4-7 días. Considerando que el período prepatente de la infección por *C. parvum* oscila entre 3-12 días, es posible, que gran parte de los animales evaluados adquirieron la infección poco tiempo después del nacimiento, durante su permanencia en el área de maternidad. Se ha indicado 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 (Barwick *et al.* 2003).

Las condiciones higiénico-sanitarias deficientes, observadas en algunas áreas frecuentadas por los 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).

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 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.

BIBLIOGRAFÍA

1. ANDERSON B.C. Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 78:982-984. 1981.
2. ARROWOOD M.J. Diagnosis. In: Fayer R. (Ed.) *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 43-64. 1997.
3. BARWICK R. S., H. O. MOHAMMED, M. E. WHITE, R. B. BRYANT. Prevalence of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. on dairy farms in southeastern New York state. **Prev. Vet. Med.**, 59(1-2):1-11. 2003.
4. BECHER, K. A., I. D. ROBERTSON, D. M. FRASER, D. G. PALMER, R. C. A.

- THOMPSON. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. **Veterinary Parasitology**, 123: 1-9. 2004.
5. CASTRO-HERMIDA J. A., Y. A. GONZÁLEZ-LOSADA, M. MEZO-MENÉNDEZ, E. ARES-MAZÁS. A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. **Veterinary Parasitology**, 106: 11-17. 2002a.
 6. CASTRO-HERMIDA J. A., Y. A. GONZÁLEZ-LOSADA, E. ARES-MAZÁS. Prevalence of and risk factors involved in spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (N W Spain). **Veterinary Parasitology**, 106: 1-10. 2002b.
 7. DE LA FUENTE R., M. LUZÓN, J. A. RUIZ-SANTA-QUITERIA, A. GARCÍA, D. CID, J. A. ORDEN, S. GARCÍA, R. SANZ, M. GÓMEZ-BAUTISTA. *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. **Veterinary Parasitology**, 80:179-185. 1999.
 8. DÍAZ DE RAMÍREZ, A., L. N. RAMÍREZ-IGLESIA, O. HERNÁNDEZ, N. MONTILLA. *Cryptosporidium* sp. en becerros neonatos de ganadería lechera y de doble propósito del estado Trujillo, Venezuela. **Zootecnia Trop.**, 22 (2): 125-132. 2004.
 9. FAYER R., L. GASBARRE, P. PASCUALI, A. CANALS, S. ALMERIA, D. ZARLEGA. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patters. **J. Parasitol.**, 28(1):49-56. 1998.
 10. GARBER L. P., M. D. SALMAN, H. S. HURD, T. KEEFE, J. L. SCHLATER. Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. **JAVMA**, 205(1):86-91. 1994.
 11. KUCZYNSKA E., D. R. SHELTON. Method for detection and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in feces, manures and soils. **Appl. Environ. Microbiol.** 65: 2820-2826. 1999.
 12. MOHAMMED H. O, S. E. WADE, S. SCHAAF. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. **Veterinary Parasitology**, 83:1-13. 1999.
 13. MOORE D. A., D. H. ZEMAN. Cryptosporidiosis in neonatal calves: 277 cases (1986-1987). **JAVMA**, 198: 1969-1971. 1991.
 14. NACIRI M., M. P. LEFAY, R. MANCASSOLA, P. POIRIER, R. CHERMETTE. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. **Veterinary Parasitology**, 85: 245 - 257. 1999.
 15. O'HANDLEY R. M., C. COCKWILL, T. A. MCALLISTER, M. JELINSKI, D. W. MORCK, M. E. OLSON. Duration of naturally acquired giardosis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. **JAVMA**, 214 (3): 391-396. 1999.
 16. OLSON M. E., R. M. O'HANDLEY, B. J. RALSTON, T. A. MCALLISTER, R. C. A. Thompson. Update on *Cryptosporidium* and

- Giardia* infections in cattle. **Trends Parasitology**, 20 (4) 185-191. 2004.
17. SAS Institute Inc., SAS/STAT® User's Guide, Version 6, Fourth Edition, Volume 1, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1989. 943 pp.
18. SURUMAY Q., C. ALFARO. *Cryptosporidium* spp. en bovinos jóvenes de fincas de la región oriental de Venezuela. **Revista de Investigación Clínica**. 41:245-250. 2000.
19. TROTZ-WILLIAMS L. A., B. D. JARVIE, S. W. MARTIN., K. E. LESLIE, A. Peregrine. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. **Can Vet J.**, 46(4):349-351. 2005.
20. UGA S., J. MATSUO, E. KONO, K. KIMURA, M. INOUE, S. K. RAI, K. ONO. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocysts shedding in calves in Japan. **Veterinary Parasitology**, 94: 27 - 32. 2000.
21. VALERA Z., W. QUINTERO, R. VILLARROEL, E. HERNÁNDEZ. *Cryptosporidium* Sp. en becerros neonatos de una finca del Municipio Rosario de Perijá, estado Zulia, Venezuela. **Revista Científica**, FCV-LUZ 11(3): 213-218. 2001.
22. XIAO L, R. P HERD. Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. **Veterinary Parasitology**, 55: 257-262. 1994.

* Cartel presentado en el XIII Congreso de la Asociación Venezolana de Producción e Industria Animal (AVPA). 25, 26 y 27 de septiembre de 2006