

PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR PROTOZOARIOS INTESTINALES EN BECERROS DE GANADERÍA LECHERA Y DE DOBLE PROPÓSITO DEL OCCIDENTE DE VENEZUELA*

Prevalence of intestinal protozoan infection in dairy and dual-purpose calves in Western Venezuela

Díaz de Ramírez, A**; Ramírez-Iglesia, L; Barreto, A; Aldana, N; Linares, E.

Laboratorio de Investigación en Fisiología e Inmunología (LIFI), Universidad de Los Andes-Núcleo Trujillo. Apartado Postal 198, Trujillo 3150, estado Trujillo. Venezuela **Correo Electrónico: adediazra@yahoo.com

RESUMEN

La prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp., *Giardia duodenalis* y *Blastocystis hominis* fue determinada en becerros de ganadería lechera y de doble propósito del occidente de Venezuela. Se colectaron muestras fecales de 188 becerros machos y hembras, de 2 a 101 días de edad. Las muestras fueron procesadas mediante los métodos de concentración por centrifugación-flotación con soluciones de NaCl y de ZnSO₄ y por el método de sedimentación en formol-acetato de etilo, se colorearon con carbol fucsina y con solución de Lugol. Los resultados mostraron que 35,1% de los becerros excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp., con mayor proporción en los de 2 a 14 días de edad (45,8 %) y en los de ganadería lechera (44,7%), observándose asociación significativa ($P < 0,05$) entre la ocurrencia de *Cryptosporidium* y la edad de los animales, mientras que, fue altamente significativa ($P < 0,01$) la asociación entre la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y el sistema de explotación. La prevalencia de *Eimeria* spp. fue de 20,2% y alcanzó a 38,5% en becerros de 29-42 días, mostrando asociación significativa ($P < 0,05$) entre la infección y la edad de los animales. Cuatro especies de *Eimeria* fueron identificadas: *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. subspherica* y *E. cylindrica*. La prevalencia de la infección por *G. duodenalis* y *B. hominis* fue de 9% y 9,6% respectivamente, con mayores porcentajes en los becerros de 15-28 días de edad. Los resultados de este estudio mostraron que los mayores porcentajes de

becerros infectados correspondieron a la ganadería lechera.

Palabras clave: *Cryptosporidium*, *Eimeria*, *Giardia*, *Blastocystis*, becerros, prevalencia.

ABSTRACT

The prevalence of *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp., *Giardia duodenalis* and *Blastocystis hominis* infection was determined in dairy and dual-purpose calves in Western Venezuela. Fecal samples were collected from 188 calves, both male and female, with ages ranging from 2 to 101 days. The samples were processed by the NaCl and ZnSO₄ centrifugal flotation method and formalin-ethyl acetate centrifugal sedimentation method and staining with carbol fuchsin and with lugol's solution. The results showed that excretion of *Cryptosporidium* spp. oocysts was present in 35.1% of the calves and the highest percentages of infection was detected in calves from 2 to 14 days of age (45.8%) and dairy calves (44.7%). Significant association ($P < 0.05$) was observed between *Cryptosporidium* occurrence and the age of calves; on the other hand, it was highly significant ($P < 0.01$) the association between the *Cryptosporidium* oocysts presence and the livestock production system. The prevalence of *Eimeria* spp. infection was 20.2% and it reached 38.5% in calves from 29 to 42 days of age. Significant association ($P < 0.05$) was observed between *Eimeria* infection and the age of animals. Four species of *Eimeria* were identified: *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. subspherica* and *E. cylindrica*. The prevalence of *G. duodenalis* and *B. hominis* infection

was 9% and 9.6%, respectively and the highest percentages of infection was observed in calves from 15 to 28 days of age. The results of this research showed that the highest percentages of calves infected was in dairy calves herd.

Key words: *Cryptosporidium*, *Eimeria*, *Giardia*, *Blastocystis*, calves, prevalence.

INTRODUCCIÓN

El impacto directo que los parásitos intestinales tienen sobre la salud animal es considerable, especialmente durante el periodo neonatal. Algunos de los protozoos involucrados en procesos gastrointestinales han adquirido especial interés debido a su rol como patógeno emergente o a su potencial zoonótico. *Cryptosporidium parvum*, *Giardia duodenalis* y *Eimeria* spp. son parásitos que ocurren con mucha frecuencia en los becerros (Surumay y Pote, 1999; O'Handley *et al.* 1999; Díaz de Ramírez *et al.*, 2001; Becher *et al.*, 2004; Jäger *et al.* 2005; Hammes *et al.* 2006; Madoox-Hyttel *et al.* 2006). Estos protozoos tienen capacidad de impactar adversamente sobre la producción animal, evento al que se agrega la importancia sanitaria que *C. parvum* y *G. duodenalis* pudieran tener como patógenos potencialmente zoonóticos (O'Handley *et al.* 1999; Olson *et al.*, 2004). Por otra parte, *Blastocystis hominis* aislados de bovinos presentaron genotipo zoonótico (Abe *et al.*, 2003) pudiendo, por lo tanto, representar una fuente potencial para la infección humana.

Un mayor conocimiento de la frecuencia de la infección por estos protozoos entéricos en los becerros, permitiría una mejor conducción del control y del tratamiento de la diarrea neonatal, y contribuiría a

reducir las pérdidas económicas en las explotaciones ganaderas, así como, la contaminación ambiental y el riesgo para la salud animal y humana.

Este estudio tiene como objetivo determinar la prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* spp. *G. duodenalis*, *Eimeria* spp. y *B. hominis* en becerros de explotaciones de ganadería lechera y de doble propósito del occidente de Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

En cinco fincas ubicadas en el occidente de Venezuela, fueron estudiados 188 becerros con edades comprendidas ente 2 y 101 días. Dos de las fincas emplean sistema de explotación de ganadería doble propósito (DP); en ellas, se evaluaron 65 becerros productos del cruce alterno de razas *Bos taurus* (Hostien, Carora y Pardo Suizo) con razas *Bos indicus* (Brahman, Gir y Guzera) los cuales permanecían con sus madres durante los 3 a 10 primeros días de vida y luego eran alojados en becerrerías colectivas. En las otras tres fincas, con un sistema de explotación de ganadería lechera (GL), fueron estudiados 123 becerros *Bos taurus* de la raza Carora y sus mestizos, alojados en jaulas individuales o en becerrerías colectivas.

Las muestras fecales fueron obtenidas directamente del recto, transportadas bajo refrigeración, conservadas a 4°C y procesadas dentro de las 24 horas de su colecta, usando dos métodos de concentración mediante centrifugación-flotación con soluciones de NaCl y de ZnSO₄ y el de sedimentación en formol acetato de etilo. La observación de los estadios fecales de *G. duodenalis* y *B. hominis* se optimizó empleando solución de Lugol y se examinaron en microscopio de luz a una magnificación de 400X. Para la identificación

de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. las preparaciones fueron coloreadas con la técnica carbol-fucsina y examinadas bajo el objetivo de inmersión 100X.

Se estudió la presencia de los estadios fecales de *Cryptosporidium* spp., *G. duodenalis*, *Eimeria* spp. y *B. hominis* y su relación con la edad, sexo de los becerros y el sistema de explotación, utilizando el procedimiento PROC FREQ del programa estadístico SAS (1989), por la naturaleza de los datos se trabajó con la prueba exacta de Fisher's o de Ji-cuadrado. Los datos fueron procesados en el Centro de Computación de la Universidad de los Andes (CecalULA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se examinaron 188 muestras fecales de becerros, de las cuales 101 fueron hembras y 87 machos, no observándose diferencias estadísticamente significativas entre sexos en el riesgo de infección por ninguno de los protozoos estudiados. Los protozoos identificados fueron *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis* y *Blastocystis hominis*. El 35,1% de los becerros examinados excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* sp., apreciándose dichas formas a partir del tercer día de vida. Las mayores prevalencias de infección por este organismo correspondieron a animales de 2 a 14 días de edad con 45,8%, luego el porcentaje fue disminuyendo a medida que aumentaba la edad. Se observó una asociación significativa ($P < 0,05$) entre la infección por *Cryptosporidium* spp. y la edad de los becerros (Cuadro 1).

La prevalencia de *Eimeria* spp. fue de 20,2% y varió con la edad de los

becerros, de esa manera, el grupo de 29-42 días de edad presentó el mayor porcentaje de positivos con 38,5%, mostrando también una asociación significativa



Prevalencia de la infección por protozoos intestinales en becerros de ganadería tecnificada y de doble propósito del Occidente de Venezuela

($P < 0,05$) entre la infección y la edad de los becerros (Cuadro 1). Las especies de *Eimeria* identificadas fueron *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. subspherica* y *E. cilíndrica*

mientras que en la DP la prevalencia de estas parasitosis se ubicaron ambas en 17%. Células vacuoladas de *B. hominis* fueron detectadas en especímenes fecales de 3

(4,6%) y 15 (12,2%) becerros de DP y GL respectivamente, en tanto que, el porcentaje de becerros que excretaron quistes de *G. duodenalis* fue de 9,2 y 8,9% para DP y GL respectivamente (Cuadro 2). Los resultados indican que existe una asociación altamente significativa ($P < 0,01$) entre la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y el

Cuadro 1. PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR <i>Cryptosporidium</i> spp, <i>Giardia</i> sp., <i>Eimeria</i> spp. y <i>Blastocystis</i> sp. SEGÚN LA EDAD DE LOS BECERROS					
Edad (días)	Becerras infectadas con				
	Examinados (n)	<i>Cryptosporidium</i> * Positivos (%)	<i>Giardia</i> Positivos (%)	<i>Eimeria</i> * Positivos (%)	<i>Blastocystis</i> Positivos (%)
2-14	59	27 (45,8)	4 (6,8)	5 (8,5)	3 (5,1)
15-28	48	19 (39,6)	7 (14,6)	15 (31,3)	8 (16,7)
29-42	26	8 (30,8)	3 (11,5)	10 (38,5)	2 (7,7)
43-56	23	8 (34,7)	2 (8,7)	3 (13,0)	0 (0,0)
>56	32	5 (15,6)	1 (3,1)	5 (15,6)	5 (15,6)
Total	188	66 (35,1)	17 (9,0)	38 (20,2)	18 (9,6)

* Diferencias significativas ($P < 0,05$)

La proporción de animales positivos a *G. duodenalis* y *B. hominis* fue muy similar con 9,0 y 9,6 % respectivamente y las mayores prevalencias de infección con ambos protozoos se observaron entre 15 a 28 días de edad. La prueba de Ji-cuadrado no mostró que exista una asociación significativa ($P > 0,05$) entre la infección por estos organismos y la edad de los animales (Cuadro 1).

En general, los porcentajes de infección de los protozoos estudiados fueron más elevados en GL con 44,7% para *Cryptosporidium* spp. y 22% para *Eimeria* spp.,

tipo de explotación

En este estudio se demostró la presencia de *Cryptosporidium* spp., *G. duodenalis*, *Eimeria* spp. y *B.*

hominis en becerros de GL y DP. Las infecciones por

Cuadro 2. PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR <i>Cryptosporidium</i> sp., <i>Giardia duodenalis</i>; <i>Eimeria</i> spp. y <i>Blastocystis hominis</i> EN BECERROS DE GANADERÍA LECHERA (GL) Y DE DOBLE PROPÓSITO (DP)				
Parásito	Becerras de DP (n=65)		Becerras de GL (n=123)	
	Positivos	Prevalencia	Positivos	Prevalencia
<i>Cryptosporidium</i> sp.**	11	17,0	55	44,7
<i>Giardia duodenalis</i> .	6	9,2	11	8,9
<i>Eimeria</i> spp.	11	17,0	27	22,0
<i>Blastocystis hominis</i> .	3	4,6	15	12,2

**Diferencia altamente significativas ($P < 0,01$)

Cryptosporidium y *Giardia* son frecuentes en el ganado bovino y numerosas referencias señalan un amplio rango de prevalencia que puede llegar al 100% (Xiao y Herd, 1994; Becher *et al* 2004; Jäger *et al.* 2005; Gow y Waldner 2006; Madoox-Hyttel *et al.* 2006). Además, ambos parásitos han sido asociados con el desarrollo de diarrea en becerros (O`Handley *et al.*1999).

El 35% de los animales evaluados excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp., con mayor prevalencia entre 2 a 14 días de edad, lo cual es consistente con otros reportes que señalan que la infección esta asociada, principalmente, con animales menores de tres semanas de edad (Anderson, 1981; Castro-Hermida, *et al.* 2002). El 44,7% de los becerros de GL presentaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp., valor superior al 29,3% señalado por Surumay y Alfaro (2000) en animales de 2 a 20 semanas de edad de rebaños lecheros del oriente de Venezuela. En cuanto a la explotación de DP, el porcentaje de infección obtenido (17%) fue inferior al 50,8% y 43,1% previamente reportados por Valera *et al.*, (2001) y Díaz de Ramírez *et al.*, (2004) en animales menores de 30 días edad, los cuales son más susceptibles a la infección por *Cryptosporidium parvum* (De la Fuente *et al.*, 1999).

La infección por *Giardia* fue mucho menos prevalente (9%) que las reportadas en otros estudios (Surumay y Pote, 1999, O`Handley *et al.* 1999; Becher *et al.*, 2004; Jäger *et al.*, 2005; Hammes *et al.* 2006; Madoox-Hyttel *et al.* 2006), alcanzando los mayores porcentajes (14,6%) en becerros de 15 a 28 días de edad. Sin embargo, diferentes autores han mostrado que el pico de prevalencia de la infección varía desde 4

semanas hasta 4 a 5 meses de edad (O`Handley *et al.*, 1999; Becher *et al.*, 2004; Hammes *et al.*, 2006) *Eimeria* spp. fue también un endoparásito prevalente en este estudio (20,2%) aunque el porcentaje de infección fue inferior al reportado por Díaz de Ramírez *et al.* (1998) en becerros de la misma zona (53%). Con excepción de *E. cylindrica*, las otras tres especies de *Eimeria* identificadas ya fueron referidas en bovinos de la región (Díaz de Ramírez *et al.*1998, 2001).

Referencias sobre *Blastocystis* sp. en el ganado bovino son muy escasas. Al respecto Quilez *et al.*,(1995) señalan la presencia de este organismo en becerros de 7 semanas a 6 meses de edad en Aragón, España, con una prevalencia de 1,8%, porcentaje de infección inferior al observado en el presente trabajo (9,6%). Si *B. hominis* es capaz de causar enfermedad, aún es controversial, no obstante, se presume que los bovinos son fuente potencial para la infección humana. Recientemente, ha sido identificado en bovinos el genotipo zoonótico de *Blastocystis* (Abe *et al.* 2003).

Los resultados de este estudio también indican que algunos becerros adquieren la infección con estos protozoos inmediatamente después del nacimiento, ya que estadios fecales de *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp, *B. hominis* y *G. duodenalis* fueron detectados en animales de 3, 7, 5 y 12 días de edad respectivamente.

Los datos de prevalencia sugieren que en el área estudiada, el bovino no representaría una fuente importante de contaminación ambiental con *Giardia* sp y *Blastocystis* sp, por el contrario, la mayor prevalencia de *Cryptosporidium* spp. indica que este organismo podría tener una implicación ambiental potencialmente mayor.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se evidenció la presencia de estadios fecales de *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp., *G. duodenalis* y *B. hominis* en becerros de ganadería lechera y de doble propósito. El porcentaje de infección de *G. duodenalis* fue similar en los dos tipos de explotaciones, mientras que *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp. y *B. hominis* fueron más prevalentes en la ganadería lechera.

Literatura Citada

- 1) ABE, N., Z. WU y H. YOSHIKAWA. Zoonotic genotypes of *Blastocystis hominis* detected in cattle and pig by PCR with diagnostic primers and restriction fragment length polymorphism analysis of the small subunit ribosomal RNA gene. **Parasitol. Research.** 90:124-128. 2003.
- 2) ANDERSON B.C. Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, 78: 982-984. 1981.
- 3) BECHER K.A., I.D. ROBERTSON, D.M. FRASER, D.G. PALMER y R.C.A. Thompson. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. **Vet. Parasitology**, 123: 1-9. 2004.
- 4) CASTRO-HERMIDA J.A., Y. A., GONZÁLEZ-LOSADA, M. MEZO-MENÉNDEZ y E. ARES-MAZÁS. A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. **Vet. Parasitology**, 106: 11-17. 2002.
- 5) 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. *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-dayold diarrheic dairy calves in central Spain. **Vet. Parasitology**, 80: 179-185. 1999.
- 6) DÍAZ DE RAMÍREZ, A., J. JUSTO, M. GONZÁLEZ, E. PIÑA y L.N. RAMÍREZ-IGLESIA. Prevalencia de coccidiosis en bovinos de los llanos de Monay, estado Trujillo, Venezuela. **Revista Científica**, FCV-LUZ. 8: 346-353. 1998.
- 7) DÍAZ DE RAMIREZ, A., A. HERNÁNDEZ, A. GARCÍA y L.N. Ramírez-Iglesia. Excreción de oocistos de *Eimeria* spp. durante los tres primeros meses de vida en becerros de fincas lecheras del occidente de Venezuela. **Revista Científica**, FCV-LUZ. 11:207-212. 2001.
- 8) DÍAZ DE RAMÍREZ A., L.N. RAMÍREZ-IGLESIA, O. HERNÁNDEZ y N. MONTILLA. *Cryptosporidium* spp. en becerros neonatos de ganadería lechera y de doble propósito del estado Trujillo, Venezuela. **Zootecnia Trop.**, 22(2): 125-132. 2004.
- 9) GOW, S. y C. WALDNER. 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 Parasitology**, 137: 50-61. 2006.
- 10) HAMMES, I. S., B. GJERDE y L. ROBERTSON. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in three areas of Norway. **Vet Parasitology**, 140: 204-216. 2006.
- 11) JÄGER, M., M. GAULY, C. BAUER, K. MAILING, G. ERHARDT y H. ZAHNER. Endoparasites in calves of beef cattle herds:

- Management systems dependent and genetic influences. **Vet Parasitology**, 131: 173-191. 2005.
- 12) MADOOX-HYTTEL, C., R. B. LANKJAER, H. L. ENEMARK y H. VIGRE. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs-Occurrence and management associated risk factors. **Vet Parasitology**, 141: 48-59. 2006.
- 13) O`HANDLEY, R.M., C. COKWILL, T.A. MCALLISTES, M. JELINSKI, D.W. MORCK, y M.E. OLSON. Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 214:391-396. 1999.
- 14) OLSON, M.E., R. M. O`HANDLEY, B.J. RALSTON, T.A. MCALLISTES y R.C. A. THOMPSON. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. **TRENES in Parasitology**, Vol. 20:185-191. 2004.
- 15) QUÍLEZ J., C. SÁNCHEZ-ACEDO, A. CLAVEL y A.C. CAUSAPÉ. Ocurrence of *Blastocystis* sp. in cattle in Aragón, northeastern Spain. **Parasitol, Res.** 81: 703-705. 1995.
- 16) SAS Institute. SAS/STAT User's Guide. Version 6, 4ta ed. SAS Inst. Cary, NC. 1989.
- 17) SURUMAY V.Q. y L. POTE. Concurrent infections of *Cryptosporidium* and *Giardia* in dairy farms, Mississippi State, USA. **Revista Científica, FCV-LUZ.** 6:519-523. 1999.
- 18) VALERA Z., W. QUINTERO, R. VILLARROEL y E. HERNÁNDEZ. *Cryptosporidium* Sp. en becerros neonatos de una finca del Municipio Rosario de Perijá, estado Zulia, Venezuela. **Rev. Cientif. FCV-LUZ**, 11(3): 213-218. 2001.
- 19) XIAO L. y R.P. HERD. Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. **Vet Parasitology**, 55: 257-262. 1994.
- * Trabajo (SA-022) presentado en el XX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA). XXX Reunión Asociación Peruana de Producción Animal (APPA). Cusco-Perú. del 21 al 25 de octubre de 2007.