

EXCRECIÓN DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp. EN BÚFALOS DE DOS EXPLOTACIONES GANADERAS DEL OCCIDENTE DEL PAÍS

Colmenares Manzanilla, Yakelin del Valle



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
NÚCLEO UNIVERSITARIO RAFAEL RANGEL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRARIAS
TRUJILLO EDO TRUJILLO

**EXCRECIÓN DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp.
EN BÚFALOS DE DOS EXPLOTACIONES GANADERAS DEL
OCCIDENTE DEL PAÍS**

BACHILLER:
YAKELIN DEL V. COLMENARES M.

TUTOR ACADÉMICO
Prof: ADELINA DÍAZ DE RAMÍREZ

TRUJILLO; DICIEMBRE 2006

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
NÚCLEO UNIVERSITARIO "RAFAEL RANGEL"
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRARIAS
TRUJILLO ESTADO TRUJILLO**

**TRABAJO DE PREGRADO PRESENTADO AL CONSEJO DE DEPARTAMENTO
DE CIENCIAS AGRARIAS COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
TÉCNICO SUPERIOR PECUARIO**

TRUJILLO; DICIEMBRE 2006

*Excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp. en búfalos de dos explotaciones ganaderas del occidente del país*



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
NÚCLEO UNIVERSITARIO "RAFAEL RANGEL"
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRARIAS
TRUJILLO ESTADO TRUJILLO.

ACTA DE EVALUACIÓN DE TRABAJO DE GRADO

Los suscritos, miembros del Jurado designado por el Consejo de este Departamento en su sesión del día 15 de noviembre de 2006, para conocer y evaluar el trabajo titulado: "**Excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp. en búfalos de dos explotaciones ganaderas del occidente del país**", presentado por la Bachiller **Yakelin del Valle Colmenares Manzanilla**, portadora de la Cedula de Identidad N° V- 13.377.799, como credencial necesaria para cumplir con el requisito de grado para optar al título de **TÉCNICO SUPERIOR PECUARIO**. Siguiendo las normas establecidas para la presentación escrita, exposición oral y evaluación de estos trabajos, este Jurado emite el veredicto de:

APROBADO

En Trujillo, a los trece días del mes de diciembre del dos mil seis.

JURADO


Prof. Laura Morón
JURADO




Prof. Eric Brown
JURADO

Prof. Adelina Díaz de Ramírez
TUTOR
COORDINADORA DEL JURADO

DEDICATORIA

A Dios quien todo lo puede, por la fuerza y voluntad que me ha dado para alcanzar mi meta.

A mi Padre Antonio Colmenares (+), que te fuiste pero te recuerdo siempre. Te extraño

A mi Madre Omaira Manzanilla, por ser tan especial y confiar en mí, lo logramos mami. Te Quiero

A mi esposo Carlos quien es una persona constante y me apoyó en todo este tiempo. Te amo

A mi hija Maria Fernanda por ser lo más hermoso que DIOS le dio a mi vida este éxito es tuyo mami. Te amo

A mis sobrinos que le sirva de ejemplo. Los quiero

A mis hermanos que siempre me dieron su apoyo sin esperar nada a cambio. Los quiero

A mis abuelos Silvia y Belarmino quienes siempre han estado a mi lado apoyándome en todo lo que hago. Los quiero

A mis tíos y tías les doy las gracias por confiar en mi.

A mi tía política Maria de Manzanilla que ha sido una de las personas que mas apoyo me ha brindado. Gracias por estar siempre a mi lado

A mis primos y primas que siempre me apoyaron. Gracias

A mis amigos(as): Zaida, Daxcely, Carolina, Laurimar, Virginia, Maraly, Leidy, Maria, Gregory, Chalino, Arturo, Gerardo, Julio, Deliana. Gracias

A mis compañeros de estudio por compartir tantas cosas hermosas.

A todas aquellas personas que de una u otra manera confiaron y colaboraron para este éxito. Gracias

AGRADECIMIENTOS

A la Celebre Universidad de Los Andes NURR

Al CDCHT-ULA por el financiamiento a través del proyecto NURR-C-386-05-03-F

Al Laboratorio de Investigación en Fisiología e Inmunología (LIFI) por su apoyo y contribución durante mis pasantías

A la señora Mary Escalona, el Técnico Superior Universitario José Gregorio Morillo y el Br. Alejandro Barreto por su valiosa colaboración

A la Profesora Adelina Díaz De Ramírez, por ser una excelente tutora de este trabajo de investigación

Al profesor Lílido Ramírez por su aporte a este trabajo de investigación

Al señor José Gutiérrez propietario de la Finca La Bendición y muy especialmente al señor Martiniano por haber colaborado con mi trabajo de campo.

A todas aquellas personas que de una u otra manera colaboraron en la realización de este proyecto. Gracias

Yakelin Colmenares, 2006; “EXCRECIÓN DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp. EN BÚFALOS DE DOS EXPLOTACIONES GANADERAS DEL OCCIDENTE DEL PAÍS” Universidad de los Andes – NURR. Trujillo Estado Trujillo. Tesis de grado para optar al Título de Técnico Superior Pecuaria.

RESUMEN

Con la finalidad de determinar la prevalencia de la infección de *Cryptosporidium* sp. y de *Eimeria* spp. en búfalos (*Bubalus bubalis*) de dos fincas de ganadería lechera ubicada en Carora, estado Lara, República Bolivariana de Venezuela, se colectaron al azar, muestras fecales de 43 animales de ambos sexos, de 3 a 360 días de edad. Las muestras fueron procesadas por el método de centrifugo-flotación con solución de NaCl (gravedad específica = 1,21) asociado con la técnica de coloración de carbol-fucsina y por el método de concentración por flotación de Willis-Molloy, para la identificación de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. y de *Eimeria* spp. respectivamente. Los resultados mostraron que 67,4 % (29 / 43) de los búfalos excretaron ooquistes de *Eimeria* spp. y 23,3 % (10 / 43) de *Cryptosporidium* sp. Aunque ambas infecciones fueron más prevalentes en una de las dos fincas estudiadas, las diferencias observadas solo fueron estadísticamente significativa ($X^2 = 4,64; P > 0,05$) para la infección por *Eimeria* spp. El mayor porcentaje de infección por este organismo, ocurre en animales menores de un mes y solamente en una de las fincas se observó asociación significativa ($X^2 = 9,91; P < 0,05$) entre la presencia de *Eimeria* y la edad de los animales expresada en meses. Por el contrario, en ninguna de las dos explotaciones se observaron diferencias significativas en la frecuencia de la infección por *Cryptosporidium* sp. y la edad de los animales ($X^2 = 0,6; p > 0,05$).

Palabras clave: *Cryptosporidium* sp., *Eimeria* spp., búfalos (*Bubalus bubalis*)

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Dedicatoria..... 67

Agradecimiento..... 67

Resumen..... 68

Índice de contenidos..... 68

Índice de tablas..... 69

1.-Introducción..... 69

1.1-Revisión bibliográfica..... 71

1.2-Justificación..... 76

1.3-Objetivo..... 77

2.-Materiales y métodos..... 77

2.1-Unidad de producción..... 77

2.2-Animales..... 78

2.3-Colectas de muestras..... 78

2.4-Diagnostico parasitológico..... 79

2.5-Método de Centrifugo-flotación en Cloruro de Sodio..... 79

2.6-Coloración de Carbol-Fucsina..... 80

2.7-Método de Willis-Molloy (Método de Concentración por Flotación)..... 80

2.8-Análisis estadístico..... 80

3.- Resultados..... 81

4.-Discusión..... 85

Conclusiones..... 87

Recomendaciones..... 87

Referencias Bibliográficas..... 88

1.- INTRODUCCIÓN

Las especies de los géneros *Eimeria* y *Cryptosporidium* figuran entre los protozoos de localización entérica que infectan a los bóvidos (Cordero Del Campillo, 2002). Estos organismos tienen gran importancia durante el período de crecimiento de los animales, momento en el cual resultan más susceptibles a las infecciones y los efectos que sobre ellos producen los enteropatógenos, pueden tener mayor gravedad.

En muchas regiones del mundo, la información sobre las pérdidas que originan estos parásitos intestinales es relativamente desconocida, sin embargo, se estima que tienen gran interés económico, particularmente en los animales jóvenes. A esta circunstancia se debe añadir el interés sanitario que presenta la especie *Cryptosporidium parvum*, ya que puede ser transmisible al hombre (Fayer et al., 1997).

EL BÚFALO DE AGUA (*Bubalus bubalis*)

El búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) tiene su origen en el norte de la India, este animal es definido como un bóvido multipropósito, debido a que es capaz de producir leche, carne y trabajo (Carrero, 1991). Se caracteriza por presentar gran adaptabilidad al medio tropical, tiene capacidad para sobrevivir en climas con alta humedad y elevada temperatura, sin afectar sus funciones de producción y reproducción (Carrero, 1991; Mckown y Ridley, 1995; McCool, 1992). Destacándose así mismo, por poseer alta resistencia a las enfermedades (Griffiths, 1974), habilidad para aprovechar los forrajes pobres en nutrientes y poder de adaptación a terrenos cenagosos (McCool, 1992).

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA I Infección por *Eimeria* spp. y *Cryptosporidium* spp en búfalos (*Bubalus .bubalis*) de dos explotaciones ganaderas semi-intensivas 81

TABLA II Prevalencia de la infección por *Eimeria* spp. y *Cryptosporidium* spp. en bucerros de la finca A.....81

TABLA III. Prevalencia de la infección por *Eimeria* spp. y *Cryptosporidium* spp. en bucerros de la finca B.....82

TABLA IV. Prevalencia de *Eimeria* spp. según los grupos etarios en búfalos de la finca A..... 83

TABLA V. Prevalencia de *Cryptosporidium* spp. según el grupo etáreo en búfalos de la finca A..... 83

TABLA VI. Porcentaje de infección por *Eimeria* spp. según la edad de los bucerros de la finca B..... 84

TABLA VII. Porcentaje de infección por *Cryptosporidium* spp según la edad de los bucerros de la finca B..... 84

En cuanto a las ventajas referidas a la producción de leche, esta se caracteriza por presentar un contenido graso de 7,1 a 9,6 %, resultando 2,5 a 3 veces superior al de la vaca, pero lo más importante, es que a pesar de la mayor cantidad de grasa butirométrica el contenido de fosfolípidos y de colesterol de la leche de búfala es menor que el de la vaca; además, los sólidos totales se ubican entre 16,8 y 20,8 convirtiéndola en una materia prima de excelente calidad para la producción de derivados lácteos.

Con relación a la producción de carne, una de las características principales del búfalo es su precocidad, lo que le otorga una posición excelente para la producción de carne en menor tiempo y costo (Carvalho et al., 1980; Solórzano, 1996) El desarrollo de los cuartos traseros del búfalo es superior al de los vacunos, sin embargo (Huerta-Leidenz y Mansutti, 1997) reportan que los búfalos presentan una conformación y categoría inferior de la canal en comparación con el Cebú, pero se asemeja mucho en el rendimiento de los cortes magros.

Explotación del búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) en Venezuela

Este animal, como ya se señaló, tiene su origen en el trópico ecuatorial húmedo asiático, y llegó a Venezuela en el año de 1920, cuando el General Juan Vicente Gómez importó de Trinidad un lote de 22 búfalos, solo con interés ornamental (Ferrer et al; 1973). El destino geográfico de dichos ejemplares es difícil precisar, pues solo se sabe que algunos animales fueron trasladados a terrenos del citado gobernante en la Isla de Guara, Territorio Federal Delta Amacuro; otros a una hacienda de la familia González Gorrondona del estado

Apure, de cuya existencia se perdió información en la década del 40, igual que sobre el resto de animales en cuestión (Núñez, 2000).

Aunque la explotación económica del búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) en el país data desde 1920, es aún una especie exótica cuyo potencial productivo ha sido subutilizado. A pesar que la misma presenta grandes ventajas en la producción animal y que Venezuela cuenta con extensas regiones que poseen hábitat apropiado para la cría de búfalos, existen todavía escasas explotaciones en comparación con otros países, motivado en parte, a la falta de información sobre las bondades de este animal y lo exitosa que resulta su explotación.

En relación con la producción de leche, en Venezuela los valores oscilan entre 1200 y 1500 L/lactancia. Una característica muy peculiar e importante del búfalo, es que las hembras tienen la capacidad de aceptar de manera muy dócil el amamantamiento de bucerros pertenecientes a otras madres. En el país se ha implementado de manera satisfactoria el uso de búfalas nodrizas, facilitando de esta manera la cría de bucerros cuyas madres se encuentran bajo ordeño mecánico (Scannone, 1997).

La producción de doble propósito mediante el uso del búfalo en Venezuela ha adquirido cierto auge, debido a las particularidades propias de la leche de búfala que la hacen muy competitiva para la elaboración de ciertos tipos de quesos. Por todas las ventajas señaladas, la producción comercial del búfalo representaría para el país, una fuente alternativa de proteína animal.

1.1- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CRYPTOSPORIDIOSIS

La criptosporidiosis producida por parásitos protozoarios del genero *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidae) es una de las tantas enfermedades emergentes de finales del siglo XX. Aunque por mucho tiempo fue considerada una infección poco frecuente y asintomática, en los últimos treinta años su concepto cambio radicalmente, representando en la actualidad una importante causa de diarrea, tanto en animales como en humanos (Fayer et al., 1997; Panciera et al., 1971)

El descubrimiento de este organismo esta asociado con Tyzzer, siendo descrito inicialmente en cortes histológicos de mucosa gástrica e intestino de ratones de laboratorio (O'Donogue, 1995). La especie tipo, *Cryptosporidium muris* Tyzzer, 1907, coloniza las glándulas gástricas de los ratones de laboratorio y de otro mamíferos. Una segunda especie, *Cryptosporidium parvum* Tyzzer, 1912 se desarrolla a nivel del intestino delgado de un amplio rango de mamíferos incluyendo humanos, animales domésticos y varias especies silvestres (Fayer et al., 1997; O'Donoghue, 1995). A pesar que *Cryptosporidium parvum* fue descubierto en los albores del siglo XX, su impacto en la salud animal solo fue reconocido a partir de 1971, cuando se realiza el primer reporte de un caso de criptosporidiosis en un becerro de ocho meses de edad que padecía de diarrea crónica (Panciera et al., 1971) y cinco años más tarde, se le asigna acción patógena en los seres humanos (Nime et al., 1976; Meisell et al., 1976).

Especies de *Cryptosporidium* que afectan a los bóvidos. Tres especies del género *Cryptosporidium* con

marcadas diferencias biológicas infectan a los bovinos, estas son *Cryptosporidium parvum* Tyzzer, 1992 y *Cryptosporidium andersoni* n sp. (formalmente conocido como *Cryptosporidium muris*: Lindsay et al., 2000) y *Cryptosporidium bovis* (formalmente conocido como *Cryptosporidium* genotipo bovino B; Fayer et al., 2005). Recientemente, una cuarta especie referida como *Cryptosporidium* genotipo simil-ciervo ha sido reportado en bovinos lactantes y post destetados (Santín et al., 2004). La caracterización a través de estudios moleculares de un aislado de *Cryptosporidium* proveniente de búfalos de agua, revela la presencia de un organismo similar al genotipo suino de *C. parvum* (Gomez-Couso et al., 2005).

En la actualidad, se acepta a *C. parvum* como uno de los principales agentes etiológicos del síndrome diarreico de los becerros (de la Fuente et al., 1999; Moore y Zeman, 1991; Naciri et al., 1999; Uga et al., 2000). Este organismo coloniza las células epiteliales del intestino delgado (Current y Resse, 1986), aunque en ocasiones, se ha señalado su localización extra-intestinal (Fayer et al., 1997). Es más prevalente en animales menores de 30 días y además de constituir un agente etiológico importante en la diarrea neonatal de los becerros, presenta gran interés en Salud Pública, debido a su potencial zoonótico.

Se considera que los bóvidos constituyen una fuente importante de infección de *C. parvum*, tanto para los animales como para el humano. En tal sentido se ha demostrado la existencia de un genotipo de origen bovino, el cual ha sido identificado en un amplio rango de especies de mamíferos, incluyendo humanos. Se estima que dicho genotipo, sería responsable de al

menos el 30 % de los casos de la criptosporidiosis humana.

La especie *C. andersoni* fue denominada durante mucho tiempo *C. muris* por su semejanza con los criptosporidios descritos en los ratones de laboratorio (Anderson, 1981; Esteban y Anderson, 1995; Lindsay et al., 2000; Koudela et al., 1999). Sin embargo, estudios morfológicos, moleculares y de transmisión experimental, demostraron que existen diferencias biológicas y genéticas entre las especies que infectan a los bovinos y a los ratones (Anderson, 1991; Koudela et al., 1999). Por tal motivo, se ha propuesto que las mismas sean consideradas especies diferentes, asignándole el nombre de *C. andersoni* a la que se observa en los bovinos (Lindsay et al., 2000). Esta se desarrolla en las células epiteliales del abomaso, aparentemente, no causa infección clínica, pero afecta la digestión de las proteínas en el abomaso y como consecuencia, se reduce significativamente la producción de la leche en las vacas crónicamente afectadas (Esteban y Anderson, 1995).

Ciclo biológico. *Cryptosporidium* presenta un ciclo de vida monoxeno donde todos los estados de desarrollo, ocurren en el mismo hospedador, y se inicia con la ingestión de ooquistes esporulados, estados exógenos excretados en las heces o secreciones respiratorias, siendo la transmisión oro-fecal la que se acepta comúnmente (Fayer et al., 1997). Cada ooquiste contiene cuatro esporozoitos, estos últimos son los estados infectivos, que al quedar en libertad (exquistación) por el efecto combinado de tripsina y sales biliares, invaden las células epiteliales y experimentan multiplicación asexual (merogonía o

esquizogonía). Como resultado de esta fase se originan merontes tipo I que contienen a su vez seis u ocho merozoítos, los que al liberarse reinician nuevos ciclos como merontes tipo I o dan origen a merontes tipo II que poseen cuatro merozoítos. Estos últimos darán inicio a la fase sexual (gametogonía) en la cual se terminarán produciendo micro y macrogametos, que luego de la fecundación formarán el cigoto, único estado diploide del ciclo. Se forma luego la pared y ocurre esporulación de los ooquistes con producción de cuatro esporozoitos. Como los ooquistes esporulan dentro del hospedador, son eliminados en estado infeccioso, presentando además, gran resistencia para sobrevivir en el ambiente externo por un largo período de tiempo (Current y Resse, 1986).

Del total de ooquistes producidos, se estima que el 80% presenta doble pared y son eliminados con las heces, constituyendo de esa manera, las formas de resistencia capaces de infectar a otros hospedadores. Alrededor del 20% restante, posee una sola membrana y reciben el nombre de ooquistes de paredes delgadas, los cuales son capaces de liberar los esporozoitos y originar un ciclo auto-infectivo (Current y Resse, 1986).

En conclusión, *C. parvum* resulta extremadamente infeccioso, ya que por un lado, presenta dos ciclos capaces de perpetuar la auto-infección, el primero por reciclamiento continuo de los merontes Tipo I y el segundo, a través de los esporozoitos liberados por la ruptura de los ooquistes de paredes delgadas. Y por otro lado, a diferencia de los demás coccidios, los ooquistes esporulan dentro del huésped infectado y son eliminados en estado infeccioso en la materia fecal.

Epidemiología. En todas la especies animales la infección por *Cryptosporidium parvum* se establece preferentemente después de la ingestión de ooquistes esporulados, y la ruta más común está en estrecho contacto con las heces de los animales clínicamente afectados o de portadores inaparentes o asintomáticos.

Aunque todavía no se ha establecido cuales son las principales fuentes de infección, se considera que pueden ser muy diversas, teniendo en cuenta que el parásito es capaz de desarrollarse en numerosas especies de mamíferos, las cuales eliminan ooquistes con capacidad infectiva para todas ellas. Los animales de explotación pecuaria pueden ser importantes fuentes para la contaminación ambiental, considerando que los bovinos, ovinos, caprinos, equinos y otras especies de importancia zootécnica, son susceptibles a la infección por *C. parvum* y eliminan ooquistes esporulados.

En los últimos años, dicho parásito ha emergido como un enteropatógeno prevalente, asociado con frecuencia con el síndrome de diarrea neonatal en becerros (de la Fuente *et al.*, 1.999; Moore y Zeman, 1.991; Naciri *et al.*, 1999; Reynolds *et al.*, 1986; Uga *et al.*, 2000) y la mayoría de los datos sobre la incidencia de infección en los animales domésticos son referidos a los bovinos, en los cuales, la enfermedad ha sido detectada, prácticamente, en todos los países en los que ha sido investigada (Reynolds *et al.*, 1986; Gorman *et al.*, 1989; Bellinzoni *et al.*, 1990; García y Lima, 1993; Pavlasek, 1995; de la Fuente *et al.*, 1999; Fayer *et al.*, 2.000; Maldonado-Camargo *et al.*, 1998; Mohammed *et al.*, 1999; Naciri *et al.*, 1999; Surumay y Alfaro, 1999; Varela *et al.*, 2001; Uga *et al.*, 2000). Incluso, en la actualidad se reconoce a *C. parvum*, como un enteropatógeno causante de cuadros de diarrea, tanto en

hospedadores inmunocomprometidos como en inmucompetentes (Gorman *et al.*, 1989; O'Donoghue 1995). En estos últimos, por lo general, la infección es asintomática o tiene un curso benigno autolimitado. En ocasiones, sin embargo, la evolución del proceso puede agravarse conduciendo a cuadros agudos con diarrea severa y mortalidad (Moore y Zeman, 1991), señalándose con relativa frecuencia, que los becerros infectados con *C. parvum*, tienen un riesgo mayor de manifestar diarrea que aquellos que no lo están (de la Fuente *et al.*, 1999; Moore y Zeman, 1991; Naciri *et al.*, 1.999; Reynolds, 1986; Uga *et al.*, 2.000).

En contraste con la amplia información sobre la criptosporidiosis bovina, los estudios referentes a la infección por *Cryptosporidium* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) son muy escasos, a pesar que esta enfermedad parasitaria tiene importancia en salud pública por tratarse de una zoonosis. Trabajos relacionados con esta entidad nosológica en becerros de dicha especie de rumiantes, han sido conducidos en algunos países tales como Italia, Egipto, Cuba e India (Canestri y Quesada, 1983; Canestri *et al.*, 1984; Iskander *et al.*, 1987; Rodríguez –Diego *et al.*, 1991; Dubey *et al.*, 1992) Un estudio llevado a cabo en Italia señala que el 7,4% de los animales menores de 15 días de edad y que manifestaron diarrea, excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* (Canestri y Quesada, 1983). En Egipto se registró una mayor prevalencia (21%) en becerros menores de 12 días de edad, en los cuales la mortalidad fue cercana al 6% (Iskander *et al.*, 1987). Porcentajes de infección semejantes (20%) fueron reportados en Cuba, en búfalos menores de cuatro meses de edad (Rodríguez –Diego *et al.*, 1991),

mientras que en la India un estudio señala que el 14% de los animales evaluados excretaron ooquistes del parásito. (Dubey *et al.*, 1992).

EIMERIOSIS

La eimeriosis es una enfermedad parasitaria producida por protozoarios del género *Eimeria* (Eimeriina – Eimeidae) que afecta a los animales domésticos a los cuales ocasiona una enteritis contagiosa (Blood, Radostits y Henderson, 1983). Es una infección cosmopolita que presenta un ciclo estacional en los países de clima templados e interrumpido en los países tropicales y subtropicales (Fayer, 1989). Solo excepcionalmente se presentan brotes clínicos, pero siempre origina descenso de las producciones y con mayor frecuencia está asociada a sistemas intensivos de explotación. Si bien la información sobre las pérdidas que origina esta enfermedad parasitaria, es relativamente desconocida en muchas regiones del mundo, se estima que la misma pueda ser importante debido a que disminuye la capacidad productiva de los animales y generan gastos, derivados del tratamiento y control a nivel de las explotaciones ganaderas (Cordero Del Campillo, 2002).

En algunas regiones del mundo se ha señalado, que la eimeriosis constituye una de las principales enfermedades parasitarias de los rebaños de búfalos, y puede ser una importante causa de mortalidad entre los animales jóvenes (Biswal, 1948, Shastri *et al.*, 1974; Bahirathan *et al.*, 1995). En Venezuela, esta enfermedad ha sido diagnosticada en bovinos de casi todas las regiones agropecuarias del país, y se han visto muchos casos clínicos en fincas ubicadas en el Sur de

Lago de Maracaibo, Mene Grande, Carora y Yaracuy (Contreras, 2.000).

Especies de *Eimeria* que afectan a los bóvidos.

A nivel Mundial han sido descritas 22 especies de *Eimeria* que comprometen a los bovinos (Fayer, 1989) considerándose a *E. bovis* y *E. zuernii* como las más patógenas (Blood, Radostits y Henderson, 1983). Estos organismos constituyen la principal causa de coccidiosis clínica, pudiendo conducir rápidamente a la pérdida de la condición en los bovinos severamente afectados (Fitzgerald y Mamfield, 1972. Radostits y Stockdale, 1980).

En la explotación de búfalos, se han descrito varias especies de *Eimeria*, algunas de ellas se consideran específicas del búfalo, mientras que otras, pueden encontrarse también en bovinos y en otros rumiantes. Hasta el presente han sido citadas alrededor de trece especies de *Eimeria* que infectan a los búfalos, incluyéndose *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. bareillyi*, *E. cylíndrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. canadensis*, *E. auburnensis*, *E. ankarensis*, *E. azerbaidshanicana*, *E. gokaki*, *E. ovoidalis*, *E. thianethi*. (Soulsby, 1987; Bahirathan, Weilgama, Wijesundera y Miller, 1995). Al respecto, es necesario clarificar la validez de algunas de ellas, ya que, en muchos casos la descripción se basa en los ooquistes y no existe información aceptable del ciclo de desarrollo.

Las especies de *Eimeria* muestran una alta especificidad de hospedador, de tejido y de célula (Hammond y Long, 1973) y están asociadas con diferentes tipos de patogénesis, de manera tal que, en las infecciones ocasionadas por múltiples especies, todas

ellas pueden contribuir al debilitamiento general del animal (Middleton, 1993).

En general, existe poca información relacionada con la eimeriosis búfalina y en Venezuela, no se han encontrado datos sobre la prevalencia de dicha infección así como tampoco se conocen las especies de *Eimeria* que afectan a estos animales. Por el contrario, estudios realizados en el ganado bovino han permitido identificar diez especies del género *Eimeria* resaltando *E. zuernii*, *E. alabamensis*, *E. subspherica*, *E. bovis*, *E. auburnensis* como las más prevalentes o frecuentes, donde *E. zuernii* y *E. bovis* son las que se les atribuyen mayor acción patógena (Vogelsang y Gallo; 1950; Mayaudon y Ayala, 1960; Urriola y Rivera, 1990; Tamasaukas y Roa, 1996; Díaz de Ramírez y col., 1998; 2001).

Si bien, todos los animales domésticos son susceptibles de adquirir la infección, las especies del género *Eimeria* demuestran una alta especificidad de hospedador y la infección no pasa fácilmente de una especie animal a otra. Tampoco ocurre inmunidad cruzada entre ellas, cada especie de coccidia desarrolla inmunidad específica, y se señala el desarrollo de inmunidad de tipo pasivo que permite al becerro cierta protección durante los primeros meses de vida (Contreras, 2000).

La principal fuente infecciosa la constituye las heces de animales enfermos clínicamente o los portadores sanos que contaminan el espacio físico, el alimento y el agua (Blood, Radostits y Henderson, 1983).

Ciclo Biológico: El ciclo biológico de los miembros del género *Eimeria* consta de dos fases, una que ocurre

fuera del huésped (fase exógena o preparasítica del ciclo) y la otra fase se desarrolla dentro del hospedador (fase endógena o parasítica). Básicamente la multiplicación de *Eimeria* tiene lugar en las células intestinales, los ooquistes que aquí resultan en forma no esporulada, son excretados en las heces del animal infectado, y bajo condiciones adecuadas de temperatura, humedad y tensión de oxígeno, en el medio ambiente, esporulan en un tiempo variable según la especie, constituyendo el ooquiste esporulado el estadio infeccioso del parásito. Este proceso exógeno recibe el nombre de *esporogonia*, concluyendo en la formación de cuatro esporoquistes, cada uno de ellos con dos esporozoítos.

El ciclo de vida se inicia con la ingestión de ooquistes esporulados, los cuales son ingeridos por los hospedadores susceptibles a través del alimento, pasto o agua contaminados, o con partículas de polvo inhaladas del medio ambiente. Una vez en el tracto digestivo, por la acción de la bilis y varias enzimas y gases presentes en el mismo, ejercen su influencia sobre las paredes de los ooquistes y de los esporoquistes, debilitándolas lo suficiente para que los esporozoítos escapen activamente hacia el lumen intestinal; a este proceso se le denomina *exquistación*. Luego los esporozoítos invaden las células del epitelio del intestino delgado, principalmente a nivel de la segunda mitad, donde empiezan a redondearse y se transforman en trofozoítos.

Posteriormente se desarrollan en esquizontes, que al madurar contienen en su interior a los merozoítos, correspondiendo todas estas formas evolutivas a la primera generación esquizogónica. Estos merozoítos de primera generación se liberan e invaden nuevas células de intestino delgado y grueso, dando lugar a una

segunda generación de trofozoitos, esquizontes y merozoitos. Constituyendo los dos últimos periodos la fase asexual del ciclo, denominada *esquizogonia*; luego de la cual comienza la fase sexual, la gametogonia, que resulta en el desarrollo y maduración de los gametos (macro y microgametocitos; macro y microgametos).

Posteriormente, los microgametos (gametos masculinos) encuentra a los macrogametos (gametos femeninos), penetran su membrana, y los materiales nucleares de ambos se fusionan formando un cigote (fecundación) y la formación del oocysto inmaduro intracelular que después de un periodo de maduración, la célula hospedadora se rompe, y el oocysto maduro no esporulado es excretado por las heces al exterior; comenzando así un nuevo ciclo. (Tamasaukas y Roa, 1996).

Epidemiología y prevalencia de *Eimeria*

En los bovinos, varios estudios han señalado que las infecciones por *Eimeria* se presenta principalmente en animales jóvenes, sobre todo de tres semanas a seis meses de edad, y los de mayor edad pueden enfermar en condiciones especiales ya que estos animales se comportan como portadores y diseminadores del parásito (Mayaudon, 1974; Lima, 1980; Fayer, 1989).

Las grandes densidades poblacionales y condiciones precarias de higiene, aumentan considerablemente la frecuencia de aparición de esta afección parasitaria; y el pasaje sucesivo de coccidias de un animal a otro susceptible, por lo general, eleva la infección a niveles patógenos (Lima, 1980). En la epidemiología de la eimeriosis en búfalos, se ha señalado que el confinamiento de los bucerros es uno de los factores que debe ser considerado, sobre todo

cuando se encuentran alojados en ambientes cuya temperatura y humedad crean condiciones favorables para la esporulación de los ooquistes (Bahirathan *et al.*, 1995).

Varios autores reportan que los bucerros pueden comenzar a excretar ooquistes de *Eimeria* a los quince días de edad, cada especie de *Eimeria* desarrolla inmunidad específica, y se señala el desarrollo de inmunidad de tipo pasivo que permita al becerro cierta protección durante los primeros meses de vida (Blood, D.C., Radostits. O.M., and Henderson, J.A., 1983). Aunque hay evidencias de un cierto grado de inmunidad cruzada sobre todo entre *E. bovis* y *E. zuernii* (Eness, 1985; Fayer, 1989); y que tanto la inmunidad humoral, la local y la celular están involucradas en mayor o menor grado en el establecimiento de la resistencia a la reinfección (Fayer, 1989).

En un estudio sobre la prevalencia de *Eimeria* conducido en Sri Lanka en bucerros desde el nacimiento y hasta los 130 días de edad, Bahirathan *et al.* (1995) encontraron una morbilidad y una mortalidad del 71,1% y 24,2% respectivamente. Los autores señalan que los animales comenzaron a excretar ooquistes a partir de los 15 días de vida, resultando *E. bareillyi*, *E. subspherica* y *E. cilíndrica* las especies más prevalentes hasta los 40 días de edad de los animales. Además, consideran que *E. bareillyi* fue la principal causa de los episodios de diarrea observados en criaderos en explotaciones bajo sistemas intensivos de manejo.

1.2- JUSTIFICACIÓN

A pesar de la gran rusticidad de los búfalos, estos animales también se ven afectados por las distintas

patologías que afectan a otras especies de bóvidos. Con relación a la criptosporidiosis en Venezuela, en 1997 se señala por primera vez el aislamiento e identificación de *C. parvum* en becerros de explotaciones ganaderas del estado Falcón (Chirinos *et al.*, 1997) y más recientemente se ha reportado la presencia del parásito en becerros de fincas lecheras del estado Monagas (Surumay y Alfaro, 1999) y de ganadería doble propósito del estado Zulia (Valera *et al.*, 2001). Un estudio reciente en el estado Trujillo, muestra que el 57% de las vacas excretan ooquistes de *Cryptosporidium* spp. durante el posparto (Díaz de Ramírez *et al.*, 2002) y aunque en su mayoría los recuentos fueron bajos, no se desestima el potencial de riesgo que dichos animales representan para el rebaño y en particular para los becerros.

El estudio sobre *Cryptosporidium* spp. en búfalos, es incipiente, sin embargo, el protozoo ya ha sido reportado en una explotación del estado Zulia en la cual resultaron positivas 23,8 % de las muestras analizadas (Surumay-Vilchez y Sandoval, 2000), presumiéndose por lo tanto, que este patógeno sea frecuente en los rebaños del país.

Un mayor conocimiento de la frecuencia y del curso de la infección de la eimeriosis y de criptosporidiosis en la especie bubalina, permitiría una mejor conducción del control de las mismas, contribuiría a reducir las pérdidas económicas en las explotaciones ganaderas, así como la contaminación ambiental y el riesgo para la salud animal y humana, como es el caso de la coccidiosis causada por *Cryptosporidium parvum*.

1.4- Objetivo: En el presente trabajo se ha propuesto como objetivo determinar la prevalencia de la infección por parásitos de los géneros *Eimeria* y *Cryptosporidium* en búfalos de dos explotaciones ganaderas del occidente de Venezuela.

2.- MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.- Unidades de producción:

Este trabajo fue realizado en dos fincas con sistema de explotación semi-intensiva dedicada a la producción de leche y elaboración de queso, situadas en el municipio Torres de Carora, estado Lara, enmarcada dentro de un área ecológica de bosque seco tropical entre las coordenadas 9° 55' latitud norte y 70° 10' longitud oeste.

Una de las fincas, identificada como finca A, dispone aproximadamente de 60 ha para la explotación de los búfalos. En esta, las hembras próximas al parto eran alojadas en un corral cercano a las instalaciones principales. Los primeros días de vida, los bucerros consumieron calostro, luego fueron separados de la madre y conducidos a un corral ubicado dentro de la sala de ordeño donde permanecían durante tres días junto a otros bucerros. Los animales fueron descornados por el método de panela caliente, recibían alimentación natural, con amamantamiento restringido y se les suministraba heno de la gramínea *Panicum maximum*. Las búfalas se alimentaban de plantas acuáticas, enredaderas, juncos, hojas y raíces de sauce. Alrededor de los 6 meses de edad los animales eran destetados. La limpieza de los corrales no se realizaba de forma continua ya que no se contaba con servicio de agua disponible para ello.

La otra finca, designada como B posee alrededor de 190 ha. el manejo de las búfalas y los bucerros presenta algunas diferencias con relación a la finca A. El nacimiento ocurría en los potreros y luego las búfalas con sus crías eran trasladadas a un corral cercano a las instalaciones principales, donde permanecían por aproximadamente 15 días e igual que en la finca anterior los bucerros recibían calostro durante los primeros días de nacidos. La finca además disponía de tres potreros para la rotación de los bucerros y sus madres mientras estas permanecen en ordeño, actividad que se inicia a los 15 días posparto, A partir de los tres meses de edad los bucerros comienzan a recibir alimento concentrado y en este momento eran vacunados contra la brucelosis, luego a los seis meses se les aplicaba la anti-aftosa y al año la anti-rábica, se les administra vitaminas y eran desparasitados después de consumir el calostro, al destete y al año de edad. También fueron descornados por el método de panela caliente, aproximadamente a los cuatro meses de edad, y

el destete se realizaba de manera natural. Las hembras permanecían en la finca para la reproducción y los machos eran vendidos. La limpieza de los corrales se realizaba todos los días.

2.2.- Animales:

Se tomo muestras de heces de un lote de 43 búfalos, pertenecientes a las dos fincas estudiadas. En la finca A fueron evaluados 27 animales (15 hembras y 12 machos) con edades comprendidas entre 6 y 360 días y en la B se estudiaron 16 bucerros (7 hembras y 9 machos) entre 3 y 120 días de edad. En ambas unidades de producción, los animales pertenecían a un lote de bucerros mestizos de las razas Murrah, Niliravi y Trinitaria con predominancia de las dos primeras.

2.3.- Colecta de muestras:

La colecta de heces fue iniciada en la finca A, en esta se tomó una muestra aleatoria, incluyéndose 27 búfalos de diferentes edades de los cuales se colectó una única muestra por animal. En la finca B, se estudiaron 16 bucerros nacidos durante cinco meses consecutivos. Las muestras fecales, en número de seis a siete por animal fueron tomadas de la siguiente manera: durante los primeros 30 días de vida se colectaron tres muestras, luego, entre los 31 y 60 días de edad fueron tomadas dos, entre la edad de 61 a 90 días una sola muestra y la última colecta se realizó cuando los bucerros tenían de 91 a 120 días de edad.



Las muestras, fueron obtenidas directamente del recto, utilizando guantes quirúrgicos y bolsas de polietileno rotulados con la identificación del bucerro y fecha del muestreo. Al tomar las muestras, en la hoja de trabajo de campo se registraron los datos de cada animal, especificando el nombre, raza, sexo, edad. Las muestras de heces fueron transportadas bajo refrigeración hasta el Laboratorio de Investigación en Fisiología e Inmunología (L.I.F.I.) del Núcleo Universitario “Rafael Rancel” (NURR), fueron conservadas a 4°C y procesadas dentro de las 24 h de su colecta.

2.4.- Diagnóstico parasitológico:

Para determinar la presencia de ooquistes de *Eimeria* se emplearon muestras de heces frescas, utilizando el método de Willis-Malloy (método de concentración por flotación). Igualmente el diagnóstico de *Cryptosporidium* fue realizado con muestras de heces

frescas, y procesadas por un método centrífugo-flotación en asociación con la técnica de coloración con carbol- fucsina. El primero permite separar los ooquistes de los detritos fecales, incrementando de esta forma la posibilidad de detección del organismo. Para ello se utilizó el método de centrífugo- flotación en cloruro de sodio (Kuczynska y Shelto, 1999), el cual se describe a continuación.

2.5.- Método de Centrifugo-flotación en Cloruro de Sodio:

Para su realización se homogenizaron mediante agitación, 3 gramos de heces de cada muestra con 45 mL de agua destilada. La suspensión resultante fue filtrada a través de varios coladores de malla fina y trozos de gasa, centrifugándose luego en tubos de polipropileno de 50 mL, aforados con agua destilada hasta 45 mL, a 500 X g por 10 minutos. Luego de



Excreción de ooquistes de Cryptosporidium spp. y Eimeria spp. en búfalos de dos explotaciones ganaderas del occidente del país

descartar el sobrenadante, el sedimento resultante fue resuspendido en 45 mL de una solución de cloruro de sodio (360g./ Litro; gravedad específica, 1,21) y fue centrifugado a 500 X g durante 10 minutos. 5 mL del sobrenadante de cada muestra fue transferido para tubos de 50 mL a los cuales se les adicionó 40 mL de agua destilada y nuevamente se centrifugaron a 500 X g por 10 minutos. El sedimento fue lavado dos veces más con agua destilada, posteriormente centrifugado en tubo Eppendorf de 1 mL a 1.500 X g por 3 minutos y finalmente resuspendido en 100µl de agua destilada. Para concluir, una alícuota de esta suspensión es depositada en láminas portaobjetos y las preparaciones se colorearon mediante la técnica de tinción carbol-fucsina, (Arrowood, 1997) descrito a continuación:

2.6.- Coloración de Carbol-Fucsina:

Las preparaciones resultantes del procedimiento anterior fueron secadas, fijadas con metanol durante 30 segundos, y coloreadas con carbol fucsina por 1 minuto. Luego, se lavaron ligeramente con agua destilada, fueron secadas y cubiertas con una solución de ácido sulfúrico al 10% en etanol, durante 2 minutos. Las láminas se lavan nuevamente con agua destilada, se secan y luego se tiñen con verde de malaquita por 2 minutos y por último se lavan con agua destilada, se secan y se examinan bajo el microscopio óptico, usando inicialmente objetivo de menor aumento (400 x) y luego el objetivo de inmersión en aceite (1.000 x).

2.7.- Método de Willis-Molloy (Método de Concentración por Flotación):

Para su ejecución, se mezcló 1 g de heces fecales con 10 a 20 volúmenes de solución saturada de

cloruro de sodio homogeneizándose mediante agitación, la suspensión resultante es luego filtrada a través de un colador de malla fina cubierto con gasa. El líquido fue transferido a un tubo de ensayo y se le adicionó solución saturada de cloruro de sodio hasta llenarlo completamente. Luego de un reposo por espacio de 15 minutos, fue colocada una lámina cubreobjeto sobre la superficie del menisco de manera que el líquido ubicado en la superficie se adhiere a la cara del cubre-objeto. Por último, el cubre-objeto es depositado sobre un porta-objeto, y la muestra es examinada bajo el microscopio de luz usando el objetivo de 40 x (Narvaez, 1988). Los ooquistes de *Eimeria* fueron identificados en base a las características morfológicas de estos estadios.

2.8.- Análisis estadísticos:

La estadística descriptiva fue realizada usando el programa estadístico SAS (1989). Los datos fueron analizados realizando tablas de frecuencia y aplicando la prueba de ji-cuadrado cuando el número de observaciones en alguna celda supera a 10, o empleando la corrección de Yates cuando el valor de dichas observaciones es menor de diez. Además, los resultados de prevalencia se agruparon dentro de varios grupos de edad de los animales. Fueron consideradas como variables dependientes la infección por *Cryptosporidium sp* y *Eimeria*, mientras que la edad, niveles de excreción de ooquistes y consistencia de las heces de los bucerros, fueron las variables independientes.

3.- RESULTADOS

En total, el 67,4 % (29 / 43) de los búfalos examinados excretaron ooquistes de *Eimeria* spp, mientras que el 23,3 % (10 / 43) presentó muestras positivas para ooquistes de *Cryptosporidium* spp (Tabla I).

Tabla I. INFECCIÓN POR <i>Eimeria</i> spp. Y <i>Cryptosporidium</i> spp EN BÚFALOS (<i>Bubalus bubalis</i>) DE DOS EXPLOTACIONES GANADERAS SEMI-INTENSIVA			
Protozoario	Búfalos		
	Examinados	Positivos	
	N°	N°	%
<i>Eimeria</i> spp	43	29	67,4
<i>Cryptosporidium</i> spp	43	10	23,3

En la Tabla II se aprecia la prevalencia de la infección por *Eimeria* spp. y por *Cryptosporidium* spp. en búfalos de la finca A, la cual fue determinada mediante el examen de una única muestra de heces por animal. Los resultados muestran que el 55,5% (15 / 27) excretaron ooquistes de *Eimeria* spp., mientras que el porcentaje de infección de *Cryptosporidium* spp se ubicó en 14,8% (4 / 27).

Tabla II. PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR <i>Eimeria</i> spp. Y <i>Cryptosporidium</i> spp. EN BUCERROS DE LA FINCA A			
Protozoario	Bucerros		
	Examinados	Positivos	
	N°	N°	%
<i>Eimeria</i> spp	27	15	55,5
<i>Cryptosporidium</i> spp	27	4	14,8

Los porcentajes de infección observados en la finca B fueron superiores, pero la mayoría de los bucerros de esta explotación fueron evaluados a través de un acompañamiento continuo, mediante el examen de aproximadamente 7 muestras por animal. Teniendo en consideración que al menos una de estas muestras resultara positiva, la prevalencia de la infección por *Eimeria* spp. en los animales de la mencionada finca alcanzó el 87,5% (14/16) mientras que el 37,5% (6/16) presentaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. (Tabla III).

Tabla III. PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR <i>Eimeria</i> spp. Y <i>Cryptosporidium</i> spp. EN BUCERROS DE LA FINCA B			
Protozoario	Bucerros		
	Examinados	Positivos	
		N°	N°
<i>Eimeria</i> spp	16	14	87,5
<i>Cryptosporidium</i> spp	16	6	37,5

Las infecciones por *Eimeria* spp. y por *Cryptosporidium* spp. fueron más prevalente en la finca B (Figura 1). No obstante, las diferencias observadas entre ambas explotaciones solamente fue estadísticamente significativa ($X^2 = 4,64$; $P > 0,05$) para la infección por *Eimeria*.

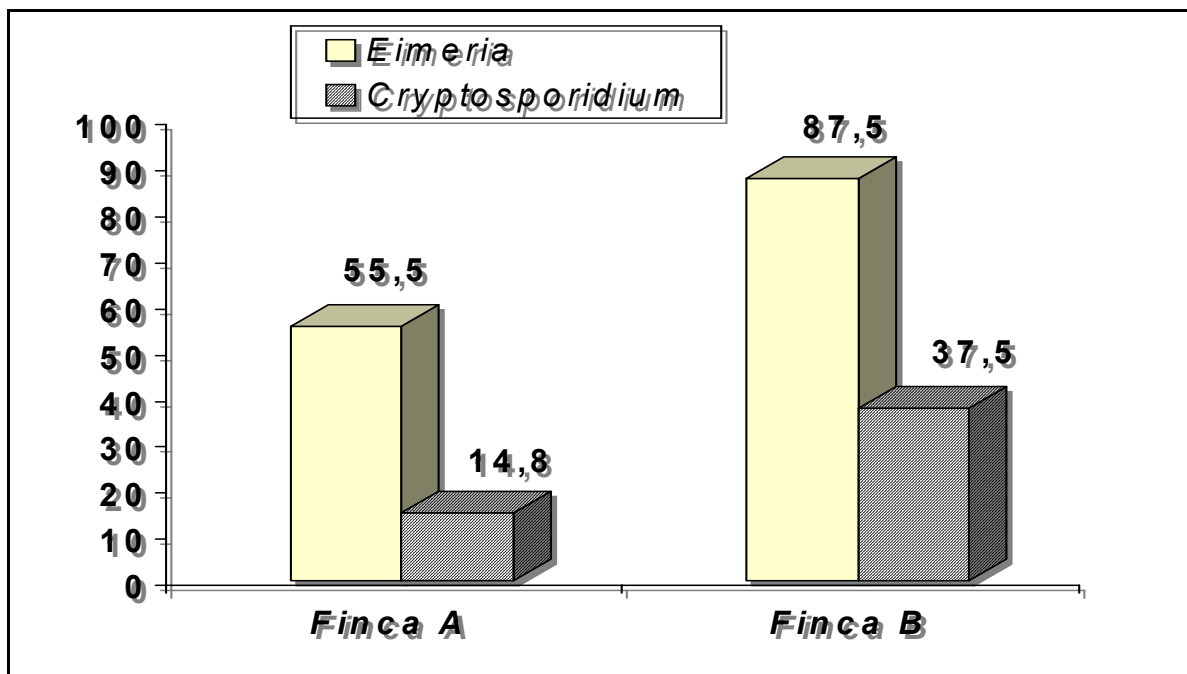


FIGURA 1. COMPARACIÓN DE LA INFECCIÓN POR *Eimeria* spp. Y POR *Cryptosporidium* spp. EN BÚFALOS DE DOS EXPLORACIONES GANADERAS

Excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp. en búfalos de dos explotaciones ganaderas del occidente del país

En cuanto a la edad y la excreción de ooquistes de *Eimeria* en los búfalos de la finca A, los resultados indican que la mayor prevalencia ocurre en los animales < 1 mes de vida con 77,8%, luego en los búfalos agrupados en las escalas de edad >1 - < 3 y > 3 meses el porcentaje de infección fue de 33,3% y 55,5% respectivamente (Tabla IV).

Sin embargo, las diferencias observadas en la frecuencia de animales infectados por *Eimeria* entre los distintos grupos etareos, no resultaron significativas ($X^2=3,6; p >0.05$).

Tabla IV. PREVALENCIA DE <i>Eimeria</i> spp. SEGÚN LOS GRUPOS ETARIOS EN BÚFALOS DE LA FINCA A			
Grupo etareo (meses)	Bucerros		
	Examinados	Positivos	
	N°	N°	%
≤1	9	7	77,8
>1≤4	9	3	33,0
>4	9	5	55,5
$X^2=3,6; p > 0.05$			

El mayor porcentaje de infección por *Cryptosporidium* en dicha finca, correspondió al grupo etario >4 meses con 22%, seguido de 14,3% observado en los bucerros < 1 mes, mientras que el menor porcentaje se observó en los animales agrupados en la escala de 1 a 4 meses edad, con un porcentaje de 11,1 (Tabla V). Tampoco se observaron diferencias significativas en la prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* entre los distintos grupos de edad de los animales ($X^2= 0,6; p >0.05$).

Tabla V. PREVALENCIA DE <i>Cryptosporidium</i> spp. SEGÚN EL GRUPO ETAREO EN BÚFALOS DE LA FINCA A			
Grupo etareo (meses)	Bucerros		
	Examinados	Positivos	
	N°	N°	%
≤1	9	1	14,3
>1≤4	9	1	11,1
>4	9	2	22,2
$X^2= 0,6; P >0.05$			

Los resultados mostrados en la Tabla VI indican el porcentaje de infección por *Eimeria* spp. en los animales de la finca B, en la misma se aprecia que la mayor proporción de positivos se presentó cuando los bucerros tenían menos de un mes de vida y en >1-< 2 meses de edad con 53,3 % y 62,5 %, respectivamente. Después de esa edad, ocurre una disminución de la frecuencia de animales que excretaron ooquistes de *Eimeria* spp. de manera que entre los dos y tres meses de edad el 27,3 % resultó positivo y cuando los animales se encontraban entre los tres y cuatro meses de edad el 14,3% presentó la infección.

Tabla VI. PORCENTAJE DE INFECCIÓN POR <i>Eimeria</i> spp. SEGÚN LA EDAD DE LOS BUCERROS DE LA FINCA B			
Edad en Meses	Bucerros		
	Examinados	Positivos	
	N°	N°	%
≤1	15	8	53,3
>1≤2	16	10	62,5
>2≤3	11	3	27,3
>3≤4	14	2	14,3
X ² = 9,91; D.S. (P< 0,05)			

A diferencia de lo observado en la finca A, en la B los resultados mostraron que existe una asociación significativa (X²= 9,91; P< 0,05) entre la presencia de *Eimeria* y la edad de los animales expresada en meses.

Por el contrario, la prueba de Chi cuadrado no mostró una asociación significativa (P< 0,05) entre infección por *Cryptosporidium* spp. y la edad de los bucerros, observándose que el porcentaje de infección varió apenas entre 9,1 y 14,3 % cuando los animales presentaban diferentes edades (Tabla VII).

Tabla VII. PORCENTAJE DE INFECCIÓN POR <i>Cryptosporidium</i> spp SEGÚN LA EDAD DE LOS BUCERROS DE LA FINCA B			
Edad en Meses	Bucerros		
	Examinados	Positivos	
	N°	N°	%
≤1	15	2	13,3
>1≤2	16	2	12,5
>2≤3	11	1	9,1
>3≤4	14	2	14,3

4.- DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que los búfalos de las dos explotaciones ganaderas excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y de *Eimeria* spp. y, aunque estos parásitos circulan entre los animales evaluados, la prevalencia de ambas infecciones fueron mayores en la finca B. No obstante, las diferencias observadas entre las dos fincas solo fueron significativas para la infección por *Eimeria* spp.

Son diversos los factores que pueden afectar los resultados de prevalencia de estas parasitosis, incluyéndose la zona geográfica estudiada, las condiciones epidemiológicas, la historia clínica del rebaño, el sistema de explotación, las prácticas de higiene, el manejo, la edad al momento del muestreo, e incluso, el número de muestras examinadas por animal.

A través del examen de muestras fecales durante un período de tiempo, en el ganado bovino se han detectado tasas acumulativas de infección por *Cryptosporidium* del 100% (Anderson, 1981; Xiao y Herd, 1994; O'Handley, *et al.*, 1999). Esto es posible, debido a que 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). Al respecto, se piensa que el verdadero valor de prevalencia de la infección puede quedar subestimado, si resulta del examen de una sola muestra por animal (Fayer *et al.* 1998; Castro-Hermida *et al.*, 2002b). Esta puede ser la razón de la menor prevalencia registrada en la finca A, mientras que en la finca B 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.

Las infecciones ocasionadas por especies del género *Eimeria* son relativamente frecuentes en el ganado bovino (Tamasaukas, R., Roa, N. A., 1992; Diaz de Ramírez *et al.*, 1998; 2001). De forma similar, el gran número de trabajos publicados en los últimos años sobre infecciones por *Cryptosporidium* en rebaños y estudios epidemiológicos confirman el interés de la criptosporidiosis bovina y ponen de manifiesto su amplia distribución geográfica (Atwill *et al.*, 1998; 1999; De la Fuente *et al.*, 1999; Faubert, G. M., Litvinsky, Y. 2000; Fayer *et al.*, 2000; Maldonado-Camargo *et al.*, 1998; Mohammed *et al.*, 1999; Naciri *et al.*, 1999; Pavlasek, I. 1995; Surumay, Q., Alfaro, C. 1999; Uga *et al.*, 2000; Valera *et al.*, 2001). Por el contrario, los antecedentes sobre el encuentro de estos parásitos en explotación de búfalos son muy escasos, a pesar que la criptosporidiosis es una infección parasitaria que tiene importancia en salud pública por tratarse de una zoonosis.

En el presente trabajo se observó una alta prevalencia de la infección por *Eimeria* spp. alcanzando a 55,5% en la finca A y a 87,5% en la B. Estos datos proporciona evidencias para reafirmar lo señalado por Bahirathan *et al.* (1995) quienes consideran que las coccidias del género *Eimeria* son parásitos muy comunes en los búfalos. En un estudio realizado en Sri Lanka, los mencionados autores encontraron que el 100% de los bucerros examinados, provenientes de fincas con sistemas de manejo intensivo estaban infectados. También en fincas del estado de Sao Paulo, Brasil, el género *Eimeria* spp. fue el patógeno de origen

parasitario más frecuentemente identificado en búfalos (Ribeiro *et al.*, 2000).

Del total de animales examinados en este estudio, con edades comprendidas entre los 3 y 360 días de edad, el 23,3 % presentaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Resultados similares fueron reportados por Surumay y Sandoval (2000), para búfalos jóvenes de 2 a 24 semanas de edad, provenientes de cuatro fincas de los municipios Mara y Páez del estado Zulia, en donde las autoras señalan porcentajes de infección del 22,1%. Una prevalencia semejante (20%) también fue reportada en Cuba, en búfalos menores de cuatro meses de edad (Rodríguez –Diego *et al.*, 1991), mientras que en Tanzania, Mtambo *et al.* (1997) encontraron que el 22% de los búfalos estudiados excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Una prevalencia menor fue reportada en un estudio realizado en la India, en el cual se señala que el 14% de los animales evaluados presentaron ooquistes del parásito (Dubey *et al.*, 1992).

En el ganado bovino se ha reportado que la edad de los animales esta estrechamente asociada con el riesgo de excretar ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y de *Eimeria* spp. (Tamasaukas, R., Roa, N. A., 1992; Díaz de Ramírez *et al.*, 1998; 2001; Contreras, 2000; Garber *et al.*, 1994; Fayer, 1989; Lima, 1980; De la Fuente *et al.*, 1999; Maldonado-Camargo *et al.*, 1998; Uga *et al.*, 2000; Mayaudon, H., Ayala. R. 1960), razón por la cual, en el presente trabajo el porcentaje de infección fue calculado según los grupos etarios. Así fue observado que los animales menores de un mes de la finca A, manifestaron los mayores porcentajes de excreción de ooquistes de *Eimeria* spp. con 77,8%. De forma similar, Ribeiro *et al.* (2000) indican la mayor

prevalencia de infección por *Eimeria* spp. en bucerros de 3 semanas de edad. En cuanto a la finca B, el mayor porcentaje de infección con dicho organismo correspondió a los bucerros menores de dos meses de edad, ya que, cuando estos tenían menos de un mes de vida la proporción de positivos fue del 53,3 % y alcanzó a 62,5 % cuando los animales tenían entre uno y dos meses de edad.

En el presente trabajo, la prevalencia de infección por *Cryptosporidium*, fue de 14.8% y 37.5% para la finca A y B respectivamente, no observándose marcada diferencia entre los distintos grupos de edad, la cual varió desde 9 a 22%. En los bucerros < 1 mes de edad el porcentajes de infección fue de 14,3 y 13,3 % para la finca A y B respectivamente. Estos valores son superiores a los reportados en un estudio conducido en Italia por Canestri y Quesada (1983), para bucerros menores de 15 días de edad, en el cual los autores señalan que el 7,4% de los animales excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* y manifestaron cuadros de diarrea. Un estudio realizado en Egipto registró una prevalencia del 21% en animales menores de 12 días de edad, en los cuales la mortalidad fue cercana al 6% (Iskander *et al.*, 1987). *Cryptosporidium* también figura entre los parásitos identificados por Ribeiro *et al.* (2000), y fue observado en bucerros tanto con manifestación o no de diarrea. Este organismo fue encontrado en muestras tomadas entre la tercera y sexta semana de edad, con mayor frecuencia en esta última semana.

Entre las condiciones que favorecen al desarrollo de esta enfermedad figuran el hacinamiento, el mantenimiento de los animales de diferentes edades en un mismo lugar, las prácticas inadecuadas de limpieza

en los corrales o sitios de alojamiento de los becerros y la insuficiente inmunidad desarrollada por los animales (Blodd, 1983; Contreras, 1992). Probablemente, las prácticas de manejo establecidas en las explotaciones ganaderas estudiadas, constituyen un factor importante que favorece la infección de *Cryptosporidium* y de *Eimeria*, permitiendo la diseminación de estos parásitos entre los bucerros evaluados. De forma similar, las condiciones higiénico-sanitarias deficientes en las áreas frecuentadas por los animales, pueden afectar el riesgo de infección y probablemente contribuyeron con las altas tasas de prevalencia registradas en esta investigación. El control de dichos parásitos en las fincas depende, en gran parte, del manejo sanitario que se lleve a cabo, ya que los animales se infectan a través de la materia fecal eliminada por los enfermos y por los portadores sanos, contaminándose así, los espacios físicos, el agua y el alimento.

Los resultados del presente estudio demostraron la presencia de *Cryptosporidium* spp. y de *Eimeria* spp. en búfalos de las dos fincas evaluadas, constatándose que en ambas explotaciones, existe una alta proporción de animales que excretaron ooquistes de *Eimeria* spp.

CONCLUSIONES

- En la población de búfalos de las dos fincas estudiadas, se evidenció la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y de *Eimeria* spp., predominando la infección por este último organismo.

- La prevalencia de la infección por ambos enteropatógenos fue superior en la finca B.
- El mayor porcentaje de bucerros positivos por *Eimeria* spp. ocurrió en el grupo etario < 1 mes (77,8%) para la finca A, y entre 2 a 3 meses para la B (62,5%).
- En general, la infección por *Cryptosporidium* spp. fue más prevalente en los búfalos de mayor edad.
- Las prácticas de manejo y las condiciones de higiene utilizadas en las fincas estudiadas, pueden favorecer la diseminación de los ooquistes de *Eimeria* y *Cryptosporidium* dentro del rebaño.

RECOMENDACIONES

- Son necesarias futuras investigaciones tendientes a determinar las potenciales implicaciones de la infección por *Cryptosporidium* y *Eimeria* sobre la producción animal, así como, identificar los factores que puedan estar asociados con el riesgo de adquirir dichas parasitosis.
- Para reducir el riesgo de infección de los animales por ambos parásitos, es recomendable limpiar con frecuencia las áreas donde permanecen los bucerros, separar a estos de los de mayor edad y evitar el hacinamiento.
- Llevar registros de los animales para un mejor funcionamiento de la unidad de producción.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. ANDERSON, B.C. Patterns o shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. J. Am. Vet. Med. Assoc. 78:982-984. 1981.
2. ANDERSON, B.C. Prevalence of *Cryptosporidium muris*-like oocysts among cattle populations of the Unites States: preliminary report. J. Protozool. 38:4S-15S. 1991.
3. ARROWOOD, M. J. Diagnosis. 64pp. In R. Fayer (ed) *Cryptosporidium* and Criptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton. 1997.
4. ATWILL, E. R.; HARP, J. A.; JONES, T.; JARDON, P. W.; CHECEL, S.; ZYLSTRA, M. Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhoo infection. Am. J. Vet. Res. 59: 1116-1121. 1998.
5. ATWILL, E. R.; JOHNSON, E.; KLINGBORG, D. J.; VESERAT, G. M.; MARKEGARD, G.; JENSEN, W. A.; PRATT, D. W.; DELMAS, R. E.; GEORGE, H. A.; FORERO, L. C.; PHILIPS, R. L.; BARRY, S. J.; McDOUGALD, N. K.; GILDERSLEEVE, R. R.; FROST, W. E. Age, geographic, and temporal distribution of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cow-calf herds. Am. J. Vet. Res. 60; 420-425. 1999.
6. BAHIRATHAN, M.; WEILGAMA, D. J.; WIJESUNDERA, M. K.; MILLER, J. E. Prevalence and abundace of Eimerian oocysts in buffalo calves on a farm in Sri Lanka. Buffalo J., 2: 183-191. 1995
7. BELLINZONI R. C.; BLACKHALL J.; TERZOLO H. R.; MOREIRA A. R.; AUZA N.; MATTION N.; MICHEO GL.; LA TORRE J. L.; SCODELLER E. A. Microbiology of diarrhoea in young beef and dairy calves in Argentina. Rev Argent Microbiol 22: 130-6. 1990.
8. BISWAL, G. Coccidiosis in buffalo calves. Indian Vet. J., 25: 36-38. 1948; citado por Solusby, 1987.
9. BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O. M.; HENDERSON, J. A. Diseases caused by protozoa in Veterinary Medicine. Sixt Edition. Bailliere. Tindall. London, 887-888. 1973.
10. BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O. M.; HENDERSON, J. A. Mastitis in Veterinary Medicine. Sixth Edition. Bailliere. Tindall, London; 451- 500. 1983.
11. CANESTRI-TROTTI. G.; QUESADA, A. Primo reperto di *Cryptosporidium* sp. In bufali italiani (*Bubulus bubalis*). Atti Soc. Ital. Sci. Vet. 3, 737. 1983.
12. CANESTRI-TROTTI. G.; QUESADA, A.; VISCONTI, S. Ricerche sulla fauna protozoaria intestinale del Buffalo (*Bubulus bubalis*), Atti Soc. Ital. Baitaria, 16, 433. 1984.
13. CARRERO, P. J. C. Búfalo de agua “El Oro Negro” de las zonas marginales venezolanas II Jornadas Nacionales de Investigación en la Reproducción Animal. Maracaibo, Venezuela. 29-30. Noviembre 1-27. 1991.
14. CARVALHO, L. O. D. de M.; COSTA, N. A.; LOURENCO JÚNIOR, J. de B.; BATISTA, H. A. M.; NASCIMENTO, C. N. B. Comportamento productivo de bufalos do tipo Bajo para la producao de leite e carne em pastagem natural de terra inundável. Belém. EMBRAPA-CPATU, 3 p. (Bubalinos;Resumos informativos.1981. Empresa

- Brasileira de Pesquisa Agropecuaria (Brasilia) N° 047). 1980
15. CASTRO-HERMIDA J. A.; Y. A. GONZÁLEZ-LOSADA, E. ARES-MAZAS. Prevalence of and risk factors involved in spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (N W Spain) *Veterinary Parasitology*, 106: 1-10. 2002b.
 16. CHIRINOS, Y.; CASTEJÓN. O. C.; RUIZ, H.; ROJAS, V.; SALCEDO, P. Primer aislado e identificación en Venezuela de *Cryptosporidium parvum* en becerros. *Acta Científica Venezolana*. 48 (Supl. 1):181. 1997.
 17. CONTRERAS, J. A. Enfermedades de los bovinos. Segunda edición. Empresa Editora Apilit. Venezuela., 678-692pp. 2000.
 18. CORDERO DEL CAMPILLO, M.; ROJO VAZQUEZ, F. A. Parasitología Veterinaria. Tercera Reimpresión. McGraw-Hill. Interamericana. España., 195-201. 2002.
 19. CURRENT, W. L.; RESSE, N.C. A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. *J. Protozool.* 33:98-108. 1986.
 20. DE LA FUENTE, R.; LUZÓN, M.; RUIZ-SANTÁQUITERIA, J. A.; GARCIA, A., CID, D.; ORDEN, J. A.; GARCIA, S.; SANZ, R.; GÓMEZ-BAUTISTA, M. *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Vet. Parasitol.* 80:179-185. 1999.
 21. DÍAZ DE RAMÍREZ, A.; JUSTO. J.; GONZÁLEZ, M.; PIÑA. E.; RAMÍREZ, L. Prevalencia de coccidiosis en bovinos de los Llanos de Monay Trujillo, Venezuela. *Revista Científica. FCV-LUZ.* 8:346-353. 1998.
 22. DÍAZ DE RAMÍREZ, A.; RAMÍREZ-IGLESIA, L. N.; GODOY DE PLAZA, R. M.; ROMÁN, R. Excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. durante el posparto, en vacas mestizas de doble propósito. *Revista Científica* 12(Supl. 2):614-616. 2002.
 23. DÍAZ DE RAMÍREZ, A.; HERNÁNDEZ, A.; GARCÍA, A.; RAMÍREZ, L. 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* 3: 207-212. 2001.
 24. DUBEY, J.P.; FAYER, R.; RAO J.R. Cryptosporidial oocysts in faeces of water buffalo and zebu cattle in India. *J. Vet. Parasitol.*, 6, 55. 1992.
 25. ENESS, P. G. Clinical considerations of bovine coccidiosis. *Bov. Pract.* 17: 144-146. 1985.
 26. ESTEBAN, E.; ARDERSON, B.C. *Cryptosporidium muris*: prevalence, persistency, and detrimental effect on milk production in a drylot dairy. *J. Dairy Sci.*, 78:1068- 1072. 1995.
 27. FAUBER, G. M.; LITVINSKY, Y. Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. *J. Parasitol.* 86: 495-500. 2000.
 28. FAYER, R; TROUT, J. M.; GRACZYK, T. K.; LEWIS, E. J. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Eimeria* infections in post-weaned and adult cattle on three Maryland farms. *Vet Parasitol.* 93:103-112. 2000.

29. FAYER, R. Epidemiology and control of bovine coccidiosis. In: *Coccidia and intestinal coccidiomorphs*. Vth. Intern. Coccidiosis Conf. (17-20 Oct. 1989; Tours, France): 445-456. 1989.
30. FAYER, R.; SANTÍN, M.; TROUT, J. M.; GREINER, E. Prevalence of species and genotypes of *Cryptosporidium* found in 1-2-year-old dairy cattle in the eastern United States. *Veterinary Parasitology*, 135: 105-112. 2006.
31. FAYER, R.; SPEER, C.A.; DUBEY, J.P. The general biology of *Cryptosporidium*. 41pp. In R. Fayer (ed) *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. CRC Press, Boca Raton. 1997.
32. FERRER, A.; SÁNCHEZ, G.; MORENO, J. Informe sobre búfalos. Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas. Venezuela., Pág. 34. 1973.
33. FITZGERALD, P. R.; MANSFIELD, M. E. Control of bovine coccidiosis with monensin: in noresistant newborn calves. *Am. J. Vet. Res.* 45(10): 599-603. 1972.
34. GARBER, L.P.; SALMAN, M. D.; HURD, H. S.; KEEFE, T.; SCHLATER, J. L. Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. *JAVMA* 205: 86- 91. 1994.
35. GARCÍA, A.M.; LIMA, J. D. Frequência de *Cryptosporidium* en becerros lactantes de rebanho leiteiro de Minas Gerais. *Arquivo Bras. Med. Vet. Zoot* 45: 193-198. 1993.
36. GOMEZ-COUSO H.; AMAR C.F.; McLAUHLIN J.; ARES-MAZAS E. Characterisation of a *Cryptosporidium* isolate from water buffalo (*Bubalus bubalis*) by sequencing of a fragment of the *Cryptosporidium* oocyst wall protein gene (COWP). *Vet Parasitol.* 131 (1-2): 139-44. 2005.
37. GORMAN, T.; ALCAINO, H.; SANTELICES, J. *Cryptosporidium* y otras coccidias intestinales en terneros de lechería, Región Metropolitana. Chile. *Arch. Med. Vet.* 21:29-34. 1989.
38. GRIFFITHS, R. B. Parasites an parasitic disease In: Cockrill, W.R. *The husbandry and health of the domestic buffalo*. Roma, FAO 995 p. 1974.
39. HAMMOND, D. M.; LONG, P. L. The coccidia: *Eimeria*, *Isospora*, *Toxoplasma*, and related genera. D. M. Hammond & P. L. Long (eds). University Park Press. Baltimore, USA.: 482 pp. 1973.
40. HUERTA-LEIDENZ, N.; MANSUTTI, D. Producción de carne y potencialidad industrial del búfalo asiático. I Foro-Taller Producción de Leche con Búfalos Asiáticos. 11-12 de Junio, San Cristóbal, Táchira, Venezuela., pág. 61. 1997.
41. ISKANDER, A. R.; TAWFEEK, A.; FARID, A. F. 1987. Cryptosporidial infection among buffalo calves in Egypt. *Indian J. Anim. Sci.* 57. 1057.
42. KOUDELA. B.; MODRY, D.; VITOVEC, J. Infectivity of *Cryptosporidium* muris isolated from cattle. *Vet. Parasitol.* 76: 181-188. 1999.
43. KUCZYNSKA, E.; SHELTON, D. R. Method for detection and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in feces, manures and soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 2820-2826. 1999.
44. LIMA, J. D. Eimerose dos rumiantes. In: Seminario Brasileiro de Parasitologia Veterinaria, 2 Fortaleza (1980). *Anais. Brasilia*, 79-97. 1980.
45. LINDSAY, D. S.; UPTON, S. J.; OWENS, D.S.; MORGAN, U. M.; MEAD, J. R.; BLAGBURN, B. L. *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. *J.*

- Eukaryot Microbiol. 47: 91-95. 2000.
46. MALDONADO-CAMARGO, S.; ATWILL, E. R.; SALTIJERAL-OAXACA, J. A.; HERRERA-ALONSO, L.C. Prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium parvum* in Holstein Freisian dairy calves in central Mexico. *Prev. Vet. Med.* 36:95-107. 1998.
47. MAYAUDON, H. Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos de Venezuela. Vol. I. *Fac. Cienc. Vet. Univ. Centr. Vzla. Maracay, Venezuela.*: 165. 1974.
48. MAYAUDON, H.; AYALA, R. Contribución al conocimiento de los coccidios de los animales domésticos de Venezuela. *Rev. Med. Vet. y Paras.* 18: 35-40. 1960.
49. McCOOL, C. Buffalo and Bali cattle exploration their in reproductive behaviour and physiology. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 24: 165-172. 1992.
50. McKOWN, R.D.; Ridley, R. K. Distribution of Fasciolosis in Kansas, with results of experimental snail susceptibility studies. *Vet. Parasitol.* 56(4). 281-291. 1995.
51. MEISEL, J. L.; PERERA, D. R.; MELIGRO, C.; RUBIN, C. E. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology* 70: 1156 - 1160. 1976.
52. MOHAMMED, H. O.; WADE, S. E.; SCHAAF, S. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Vet. Parasitol.* 83:1-13. 1999.
53. MOORE, D.A.; ZEMAN, D. H. Cryptosporidiosis in neonatal calves: 277 cases (1986-1987). *JAVMA* 198: 1969-1971. 1991.
54. MTAMBO, M. M.; SEBATWALE, J. B.; KAMBARGE, D. M.; MUHAIRWA, A. P.; MAEDA, G. E.; KUSILUKAL, J.; KAZWALA, R.R. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in cattle and wildlife in Morogoro region, Tanzania. *Prev Vet Med.* (3-4): 185-90. 1997.
55. NACIRI, M.; LEFAY, M. P.; MANCASSOLA, R.; POIRIER, P.; CHERMETTE, R. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet. Parasitol.* 85: 245 - 257. 1999.
56. NARVÁEZ, D. Métodos de diagnóstico en parasitología. Universidad De Los Andes Mérida-Venezuela, Consejo Editorial 253. 1988.
57. NIME, F. A.; BUREK, J.D.; PAGE, K. L.; HOLSCHER, J. H. YARDLEY, M. A. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology* 70: 592 - 598. 1976.
58. NÚÑEZ, L. O. EL Increíble Búfalo. 1era Edición. Venezuela., pág. 139. 2000.
59. O'DONOGHUE, P. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int. J. Parasitol.* 25:139-195. 1995.
60. O'HANDLEYk, R. M.; COCKWILL, C.; McALLISTER, T. A.; JELINSKI, M.; MORCK, D. W.; OLSON, M. E. Duration of naturally acquired giardosis and criptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. *JAVMA*, 214(3): 391-396. 1999.
61. PANCIERA, R.J.; THOMASSEN, R. W.; GARNER, F. M. Cryptosporidial infection in a calf. *Vet. Pathol.* 8: 479-484. 1971.

62. PAVLASEK, I. Cryptosporidia and other endoparasites in heifers imported in the Czech Republic. *Vet. Med (Praha)*. 40: 333-336. 1995.
63. RADOSTIST, O. M.; STCKDALE, P. H. G. A brief Review of bovine coccidiosis in wstwrn Canada. *Can. Vet. J.* 21:227-230. 1980
64. REYNODS, D. J.; MORGAN, J. H.; CHANTER, N.; JONES, P. W.; BRIDGER, J.C.; DEBNEY, T. G.; BUNCH, K. L. Microbiology of calf diarrhoea in southern Britain. *Vet. Rec.* 119: 34-39. 1986.
65. RIBEIRO, M; LANGONI, H; JEREZ, J. A.; DOMINGOS da SILVA LEITE; FERREIRA, F.; GENNARI, S. Identification of enteropathogens from buffalo calves with and without diarrhoea in the Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* vol.37 n.2 São Paulo 2000.
66. RODRÍGUEZ DIEGO, ABREU J. R.; PÉREZ, E.; ROQUE, E.; CARTAS O. Presencia de *Cryptosporidium* sp. en búfalos (*Bubalus bubalis*) en Cuba. *Rev. Salud. Anim.* 78. 1991.
67. SANTÍN, M.; TROUT, J. M.; XIAO, L.; ZHOU, L.; GREINER, E.; FAYER. R. Prevalence and age – related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Veterinary Parasitology*, 122:103-117. 2004.
68. SAS Institute Inc., SAS/STAT® User's Guide, Version 6, Fourth Edition, Volume 1, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1989. 943 pp.
69. SCANNONE, P. Consideraciones en el manejo de bufalos. II Jornadas de Actualización en Medicina y Producción de Rumiantes. 26-27 de Junio. FCV-UCV. Maracay., pag 2. 1997
70. SHASTRI, U.; KRISHNAMURTHI, R.; GHAFLOOR, M. Anote on clinical coccidiosis in buffalo calves due to *Eimeria bareilly gill*, chharbra and hall, 1963 in Maharashtra Indian Vet. J. 51 April 1974.
71. SOLÓRZANO, C. La explotación del búfalo de agua. Impreso en División de Ediciones MAC Caracas Venezuela. 61-72. 1996.
72. SOULSBY, E. J. L. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Séptima ed. Nueva Editorial Interamericana. México., 601-623. 1983.
73. SURUMAY, Q.; ALFARO, C. *Cryptosporidium* sp en bovinos jóvenes de fincas lecheras de la región oriental de Venezuela (Resumen). En IV Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias. VII Congreso SOVVEC. Mayo 17-21. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. 222 pp. 1999.
74. SURUMAY-VILCHEZ, Q.; SANDOVAL, Y. *Cryptosporidium parvum* en Búfalos de una Finca del Municipio Mara, Estado Zulia-Venezuela. *Veterinaria trop.* 25(2):285-290.2000.
75. TAMASAUKAS, R.; ROA, N. Coccidiosis bovina realidad subestimada en la ganadería venezolana, Maracay, FONAIAP. Universidad Romulo Gallegos, Calabozo; Guarico. 40p. 1996.
76. TAMASAUKAS, R.; ROA, N. Evaluación de la eficiencia del aprotium contra la coccidiosis bovina. *Rev. Fac. Ciencs. Vets. UCV.* 38: 31-51. 1992.
77. UGA, S.; MATSUO, J.; KONO, E.; KIMURA, K.; INOUE, M.; RAI, S. K.; ONO, K. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocysts shedding calves in Japan. *Vet. Parasitol.* 94: 27-32. 2000.

78. URRIOLO, L.; RIVERA, M. Tipificación de las especies de coccidias *Eimeria spp.*, en bovinos jóvenes del rebaño lechero de la estación experimental “La Antonia”, Yaracuy -Venezuela Rev. Fac. Cienc. Vets 37: 54-64. 1990.
79. VALERA, Z.; QUINTERO, W.; VILLARROEL, R.; HERNÁNDEZ, H. *Cryptosporidium* sp. en becerros neonatos de una finca del Municipio Rosario de Perijá, estado Zulia. Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ. 11: 213-218. 2001.
80. VOGELSANG, E. G.; GALLO, P. Protozoarios en animales domésticos observadas en Venezuela. Rev. Med. Vet. y Paras. 9: 133-135. 1950.
81. XIAO, L., R. P. Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* incalves. Vet. Parasitol. 55: 257- 262. 1994.