

Prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* spp. en bovinos de dos establecimientos del Nordeste Argentino (Prevalence of *Cryptosporidium* spp. infection on cattle from two stablishment in Northeast Argentina)

Araujo, Analía Vanesa; Gómez Muñoz, María de los Ángeles; Milano, Alicia María Francisca

Laboratorio Biología de los Parásitos. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Av. Libertad 5470. 3400. Corrientes. Argentina. E-mail: analiav.araujo@gmail.com

Resumen

Con la finalidad de evaluar la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en bovinos se desarrolló una investigación en dos unidades de producción del Nordeste Argentino (SC y PL). Se evaluaron parasitológicamente 107 individuos, con edades comprendidas entre 20 días y 2 años, con y sin diarrea, 44 individuos pertenecientes al establecimiento SC y 63 a PL. Se obtuvieron muestras fecales, las que fueron analizadas individualmente mediante frotis coloreados con la técnica de Ziehl-Neelsen modificada y observadas a una magnificación de 1000x. El 27,1% (29/107) de las muestras examinadas presentó ooquistes de *Cryptosporidium* spp. En el establecimiento de SC, la prevalencia fue 29,5%, mientras que en el de PL fue 25,3%. El grupo etario "lactantes" presentó la mayor prevalencia en ambas unidades de producción, verificándose una asociación estadísticamente significativa entre la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y la edad de los animales. Se observa una prevalencia levemente mayor en los machos respecto a las hembras y en las heces diarreicas respecto a las no diarreicas, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas.

Palabras claves: Criptosporidiosis, bovinos, diarrea.

Abstract

In order to evaluate the prevalence of *Cryptosporidium* spp. in cattle, an investigation was conducted in two production units from Northeast Argentina (SC y PL). A hundred and seven individuals were evaluated parasitologically with aged between 20 days and 2 years, with and

without diarrhea, 44 individuals belonging from SC's establishment and 63 from PL's. Stool samples were showed and analyzed individually by preparing smears stained with Ziehl-Neelsen technique modified and observed at a magnification of 1000x. The samples were classified according to macroscopic features. The 27.1% (29/107) of the samples examined were found with *Cryptosporidium* spp. In SC establishment the prevalence was 29.5%, while in PL was 25.3%. There was no statistically significant difference between infection and the locations evaluated. The age group "infants" had the highest prevalence in both production units, verifying a statistically significant association between the excretion of *Cryptosporidium* spp. and age of animals. There is a slightly higher prevalence in males compared to females and in diarrhea stools compared to no diarrhea, although the differences are no statistically significant.

Key words: Criptosporidiosis, cattle, diarrhoea.

INTRODUCCIÓN

La criptosporidiosis es una enfermedad parasitaria producida por el protozoo *Cryptosporidium* spp., organismo que se desarrolla y multiplica en las células epiteliales del aparato digestivo de vertebrados (Ortega y col., 1999). Este organismo presenta interés en salud pública debido a su carácter zoonótico y ha sido identificado con frecuencia en bovinos (Becher y col., 2004; Santín y col., 2004), en los cuales constituye uno de los principales agentes etiológicos de la diarrea neonatal (De La Fuente y col., 1999; Moore y Zeman, 1991; Naciri y col., 1999; Uga y col., 2000).

El ciclo de vida de *Cryptosporidium* spp. es similar al de otros coccidios. Todas las etapas de desarrollo endógeno (asexual y sexual) del parásito, ocurren en la superficie apical de los enterocitos, dentro de una vacuola parasitófora en posición intracelular pero extra-citoplasmática (Fayer y col., 1997), culminando con la formación del ooquiste, estado infectivo del parásito, que se elimina en grandes cantidades con las heces y es capaz de sobrevivir durante largos periodos en el ambiente (Hunter y Thompson, 2005).

Se ha demostrado la existencia de al menos dos genotipos distintos ("humano" y "ganado"), que son indistinguibles morfológicamente. El genotipo ganado está presente en un amplio rango de hospedadores, según se puede determinar por los aislados obtenidos en diferentes especies de mamíferos, incluyendo humanos. Mientras que el otro genotipo, circularía solamente entre los humanos. Se estima que el mismo, sería responsable del 70 % de los casos de

criptosporidiosis en la población humana y al genotipo bovino le correspondería al menos el 30 %, con el agravante que este último infecta a una amplia gama de hospedadores y tiene importancia zoonótica (Wisnivesky, 2003).

Los animales de explotación pecuaria pueden ser importantes fuentes para la contaminación ambiental. Ovinos, caprinos, equinos y otras especies de importancia zootécnica, son susceptibles a la infección por *Cryptosporidium parvum* y eliminan ooquistes, sin embargo, a los bovinos se les atribuye el mayor riesgo, debido a su número, amplia distribución, alta incidencia y niveles de infección. En tal sentido, se calcula, que un ternero infectado puede eliminar alrededor de 6×10^{11} ooquistes durante su primer mes de vida (Uga y col., 2000). Las tasas de excreción de ooquistes disminuyen sensiblemente en animales mayores de un mes (Garber y col., 1994; Xiao y Herd, 1994), no obstante, estos animales pueden contener y eliminar ooquistes de *Cryptosporidium* spp., sin presentar sintomatología alguna actuando como portadores sanos, capaces de diseminar la infección (Naciri y col., 1999; Scott y col., 1995).

La presencia de *Cryptosporidium* spp. en las heces de los bovinos fue estudiada en muchos países, con prevalencias que oscilan entre 2,4 y 100%. En nuestro país, existe poco conocimiento sobre la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en bovinos, con excepción de los datos reportados para la provincia de Buenos Aires por Bellinzoni y col. (1990), Del Coco y col. (2008) y Pinto de Almeida Castro y col. (2009), con un rango de prevalencia entre 17 y 93,4%.

Los objetivos del presente estudio fueron evaluar la prevalencia de infección por *Cryptosporidium* spp. en bovinos de dos unidades de producción del Nordeste Argentino y evaluar las asociaciones entre *Cryptosporidium* spp. y la edad y el sexo de los bovinos y los cuadros de diarrea.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Este trabajo se llevó a cabo en dos establecimientos ganaderos. El primero "San Cayetano" (SC), ubicado en un paraje rural ubicado en el departamento San Luis del Palmar (27° 30' S y 58° 33' O), en la provincia de Corrientes, Argentina; y el segundo "Pecuaria El Loro" (PL), ubicado en Colonia Rivadavia, jurisdicción de Presidencia Roque Sáenz Peña (26° 47' S y 60° 26' O), provincia del Chaco, Argentina.

La unidad SC se encuentra ubicada al este de la ecorregión denominada Chaco Húmedo, la cual comprende llanuras extremadamente planas con pendientes muy suaves. El clima es

templado húmedo, en verano las temperaturas alcanzan máximas superiores a 40°C y una media de 22°C, mientras que en invierno se registran mínimas bajo cero. Las precipitaciones presentan registros máximos superiores a 1300 mm que decaen a 750 mm.

El establecimiento PL se encuentra ubicado en el límite oriental de la ecorregión Chaco Seco. Esta ecorregión se asienta sobre una llanura, presenta un clima cálido subtropical, con temperaturas medias que van de N a S desde 23°C a 18°C. Las lluvias en verano oscilan entre 500 y 800 milímetros anuales (Brown y col., 2006).

Los hospedadores

Se evaluaron parasitológicamente 107 individuos de bovinos *Bos taurus* mestizos. La población estudiada perteneciente a SC estuvo representada por un lote de 44 bovinos, con edades comprendidas entre 20 días y 2 años, mientras que la de PL estuvo constituida por un lote de 63 bovinos, con el mismo intervalo de edades.

En ambos grupos se verificaron condiciones sanitarias similares y se corroboró la aplicación de tratamiento farmacológico antiparasitario.

Colecta de muestras

Para la toma de las muestras fecales se utilizaron indistintamente dos técnicas. Por un lado se efectuó el seguimiento de cada uno de los individuos al momento de la defecación y la recolección inmediatamente del suelo, cuidando de extraer la materia fecal de la parte superior de la puesta que no había entrado en contacto con la tierra. Por otra parte, las muestras se extrajeron directamente del recto, cuando la ocasión fue propicia. En todos los casos las muestras fueron colocadas en frascos individuales con formol 5% y se registraron la edad y sexo del bovino y la consistencia de sus heces.

Estudio parasitológico

Las muestras fueron homogeneizadas, tamizadas y centrifugadas individualmente. El sedimento fue utilizado para la confección de frotis que se tiñeron con la coloración de Ziehl-Neelsen modificada y se observaron con microscopio óptico a una magnificación de 1000x (Henriksen y Pohlens, 1981). Las muestras se consideraron positivas para *Cryptosporidium* spp. cuando se observaron ooquistes cuya morfología, propiedades ópticas, estructura interna y tamaño coincidieron con lo descrito por Fayer (1997).

Análisis estadístico

Para su análisis, los datos se registraron en una base de datos diseñada en una planilla de Excel. Se consideraron tres clases de edad: lactantes (entre un día y cuatro meses), juveniles (más de cuatro hasta doce meses) y adultos (más de doce meses). Para el análisis estadístico se agruparon a juveniles y adultos dentro de una misma clase, quedando únicamente lactantes dentro de otra. Las heces fueron agrupadas según su consistencia en diarreicas (líquidas y semilíquidas) y en no diarreicas (sólidas).

Para comparar los resultados de acuerdo a la población, sexo de los animales y consistencia de las heces se utilizó el paquete estadístico computarizado EPIDAT 3.1 realizando pruebas de comparación de dos proporciones (Z) con muestras independientes, con un intervalo de confianza de 95%.

RESULTADOS

El examen de las 107 muestras de materia fecal de bovinos mostró que el 27,1% (29/107) presentaron formas identificadas como ooquistes de *Cryptosporidium* spp. De las 44 muestras analizadas pertenecientes a SC, 13 presentaron ooquistes (29,5%), mientras que de las 63 muestras de PL analizadas 16 resultaron positivas, revelando una prevalencia de 25,3%. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la infección ($Z=0,25$; $P = 0,79$) en las distintas unidades de producción.

Tabla 1. Prevalencia de infección por *Cryptosporidium* spp. en bovinos, distribuidos por grupos etarios

Grupo Etario	SC			PL			TOTAL		
	E	Positivos		E	Positivos		E	Positivos	
		n	P		n	P		n	P
Lactantes	3	2	66.6	13	7	53.8	16	9	56.2
Juveniles	32	9	28.1	34	7	20.5	66	16	24.2
Adultos	9	2	22.2	16	2	12.5	25	4	16
TOTAL	44	13	29.5	63	16	25.3	107	29	27.1

E= número de individuos examinados; n= número de individuos; P=prevalencia

La Tabla 1 muestra la proporción de animales positivos a *Cryptosporidium* spp. según la edad en ambas poblaciones. Estos resultados indican que la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. varía con la edad de los bovinos, ya que el grupo etario "lactantes" presentó

la mayor prevalencia en ambos establecimientos. El análisis estadístico mostró que existe una asociación altamente significativa entre la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y la edad de los animales ($Z=2,53$; $P = 0,01$).

Tabla 2. Prevalencia de infección por *Cryptosporidium* sp. en bovinos, separados por sexo

Sexo	SC			PL			TOTAL		
	E	Positivos		E	Positivos		E	Positivos	
		n	P		n	P		n	P
Hembras	16	3	18.7	32	6	18.7	48	9	18.7
Machos	28	10	35.7	31	10	32.2	59	20	33.8
TOTAL	44	13	29.5	63	16	25.3	107	29	27.1

E= número de individuos examinados; n= número de individuos; P=prevalencia

Analizando las muestras de ambos sitios se observó que existen diferencias de prevalencia en relación al sexo, debido a que en los machos es mayor (33,8%). En la Tabla 2 se aprecia la prevalencia de infección por *Cryptosporidium* spp. en hembras y en machos en los distintos establecimientos. Los análisis estadísticos no mostraron una asociación estadísticamente significativa ($Z=1,53$; $P=0,12$) entre el sexo de los animales y la infección.

Se determinó la consistencia en todas las muestras de heces, observándose que el 45,8% (49/107) fueron diarreicas (líquidas o semi-líquidas), de éstas, el 30,6% (15/49) resultaron positivas para *Cryptosporidium* spp., mientras que el 24,1% (14/58) de las muestras no diarreicas fueron positivas. No se observó asociación estadísticamente significativa entre la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y las heces diarreicas ($Z=0,53$; $P=0,59$).

DISCUSIÓN

El porcentaje total de infección por *Cryptosporidium* spp. registrado en este estudio fue superior al observado en un área rural de Buenos Aires, Argentina, en la que la prevalencia de infección fue del 17% (Del Coco y col., 2008).

Estudios realizados en otros países informan diferentes porcentajes de prevalencia. En Canadá, Olson y col., (1997), encontraron una prevalencia de 4 y 5% para animales menores y

mayores de 6 meses respectivamente, y en Francia, Lefay y col., (2000), reportaron una prevalencia de 17,9 y 43,4%. Porcentajes más elevados fueron observados por Valera y col., (2001) en Venezuela, Romero Martínez y col., (2001) en Paraguay y Lippi Ortolani y Castro Soares (2003) en Brasil, que muestran prevalencias de 50,8%, 87% y 38%, respectivamente. Estas diferencias en la prevalencia podrían ser atribuidas, por un lado a los criterios de selección de la población analizada, ya que Lippi Ortolani y Castro Soares (2003) estudiaron solo terneros de 0-60 días y Romero Martínez y col., (2001) terneros de hasta 15 semanas de vida y por otro lado a la utilización de métodos diagnósticos más sensibles y específicos como la técnica de ELISA empleada por Lefay y col., (2000) e inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales por Olson y col., (1997) y Valera y col., (2001).

La edad de los animales es considerada como un factor de riesgo para la infección por *Cryptosporidium* spp. En el presente estudio se comprobó que más de la mitad de los lactantes presentaron infecciones patentes, encontrándose una fuerte asociación entre la variable edad y la criptosporidiosis; pudiéndose afirmar la particular susceptibilidad a la infección de esta franja etaria. Hecho que coincide con diversos autores que señalan que la mayor prevalencia ocurre en bovinos menores de 30 días (Castro Hermida y col., 2002; Fayer y col., 1998; De la Fuente y col., 1999; Mohammed y col., 1999; Naciri y col., 1999).

Al analizar la variable sexo en relación con la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. se observa que éste no fue un factor condicionante. Este resultado es coincidente con otros trabajos que afirman que tanto hembras como machos son susceptibles de igual forma a esta infección parasitaria (Valera y col., 2001; Díaz de Ramírez y col., 2004).

Las diferencias en las condiciones ambientales en ambos sitios de muestreo está dada principalmente por las precipitaciones, siendo inferiores en la localidad de Sáenz Peña; dicho factor no condiciona la presencia de *Cryptosporidium* spp. ya que los ooquistes son altamente resistentes a la falta de humedad (Causape Valenzuela, 1997). De este modo, se sugiere que las condiciones ambientales, referidas a temperatura y humedad, serían favorables en ambas localidades para la transmisión y el establecimiento de esta parasitosis.

Numerosos estudios señalan que *Cryptosporidium* spp. desempeña un papel importante como agente etiológico de la diarrea de los bovinos (De la Fuente y col., 1999; Fayer y col., 1998; Moore y Zeman, 1991; Naciri y col., 1999; Uga y col., 2000). Si bien en el presente estudio no se demostró que la presencia de *Cryptosporidium* spp. sea un factor relacionado a la diarrea de estos animales, se

reconoce como un síntoma a tener en cuenta en esta parasitosis y pensamos que aumentando el número de muestras analizadas esta asociación podría ser significativa.

A pesar de que pasaron muchos años desde el descubrimiento de *Cryptosporidium* spp. no se hallaron publicaciones formales referidas a su presencia en bovinos en el Nordeste Argentino. A partir de los resultados de este trabajo surge la necesidad de ampliar el número de muestras y de los sitios de muestreo, identificar las especies de *Cryptosporidium* spp. involucradas en la parasitosis y evaluar su papel zoonótico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los propietarios y personal de los establecimientos "San Cayetano" y "Pecuaría El Loro". A la Lic. Clara Etcheverri por el apoyo logístico.

Trabajo subsidiado por SGCyT. UNNE. F 008/09.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Becher, K. A., Robertson, I. D., Fraser, D. M., Palmer, D. G., Thompson, R. C. A. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. *Veterinary Parasitology*, 2004, vol. 123, p. 1-9.
- Bellinzoni, R. C., Blackhall, J., Terzolo, H. R., Moreira, A. R., Auza, N., Mattion, N., Micheo, G. L., La Torre, J. L., Scodeller, E. A. Microbiology of diarrhoea in young beef and dairy calves in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 1990, n° 22, p. 130 -136.
- Brown, A., Ortiz, U. M., Acerbi, M., Corcuera, J. La situación ambiental argentina 2005. Editado por Brown, A., Ortiz, U. M., Acerbi, M., Corcuera, J. 1° Ed. Buenos Aires (Argentina): Fundación vida silvestre Argentina, ISBN 950-9427-14-4, 2006, p. 73 -118.
- Castro Hermida, J. A., González Losada, Y. A., Mezo Menéndez, M., Ares Mazás, E. A study of criptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. *Veterinary Parasitology*, 2002; vol. 106 p. 7-11.
- Causape Valenzuela, A. Contribución al conocimiento de la criptosporidiosis ovina y métodos de control. Tesis doctoral inédita, Universidad de Zaragoza, 1997.
- De La Fuente, R., Luzón, M., Ruiz Santa Quiteria, J. A., García, A., Cid, D., Orden J. A., García, 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. *Veterinary Parasitology*, 1999, vol. 80, p. 179 - 185.
- Del Coco, V. F., Córdoba, M. A., Basualdo, J. A. *Cryptosporidium* infection in calves from a rural area of Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 2008, vol. 158, p. 31-35.
 - Díaz De Ramírez, A., Ramírez Iglesia, L. N., Hernández, O., Montilla, N. *Cryptosporidium* sp. en becerros neonatos de ganadería lechera y de doble propósito del estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 2004, vol. 22, n° 2, p. 125 -132.
 - Fayer, R., Speer, C. A., Dubey, J. P. The general biology of *Cryptosporidium*. Editado por Fayer R. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. Boca Raton y Boston. *CRC Press*, 1997, p. 1-41.
 - Fayer, R., Gasbarre, L., Pasquali, P., Canals, A., Almeria, S., Zarlenga, D. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *International Journal Parasitology*, 1998, vol. 28, p. 49 -56.
 - Garbert, L. P., Salman M. D., Hurd H. S., Keefe T., Schlater J. L. Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1994, vol. 205, p. 86 -91.
 - Henriksen, S. A., Pohlens J. Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet Scand*, 1981, vol. 22, p. 594 -596.
 - Hunter P. R., Thompson R. C. The zoonotic transmisión of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *International Journal Parasitology*, 2005, vol. 35, n° 11-12, p. 1181-1190.
 - Lefay, D., Naciri, M., Poirier, P., Chermette, R. Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. *Veterinary Parasitology*, 2000, vol. 89, n° 1-2, p. 1-9.
 - Lippi Ortolani, E., Castro Soares, P. Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en becerros de rebaños lecheros. *Parasitología Latinoamericana*, 2003, vol. 58, p. 122-127.
 - Mohammed, H. O., Wade, S. E., Schaaf, S. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Veterinary Parasitology*, 1999, vol. 83, p. 1-13.
 - Moore, D. A., Zeman, D. H. *Cryptosporidiosis* in neonatal calves: 227 cases (1986-1987). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1991, vol. 198, p. 1969 -1971.
 - 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. *Veterinary Parasitology*, 1999, vol. 85, p. 245 -257.
 - Olson, M. E., Thorlakson, C. L., Deselliers. L., Morck, D. W., Mc Allister, T. A. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. *Veterinary Parasitology*, 1997, vol. 68, n° 4, p. 375 - 381.

- Ortega, L. M., Gómez Bautista, M., Rojo Vázquez, F. A. Criptosporidiosis de los rumiantes. En: Parasitología Veterinaria (Cordero Del Campillo y col.). Parte III: Parasitosis de los rumiantes. *McGraw-Hill · Interamericana de España, S.A.U.*, Madrid, ISBN 84-486-0236-6, 1999, p. 213 -221.
- Pinto De Almeida Castro, A., Bilbao G., Echevarria, H., Moran, P., Catena, M., Cacciatto, C., Monteavaro, C. *Livestock Research for Rural Development*, 2009, vol. 2, p. 168.
- Romero Martínez, R. D., Pedrozo Prieto, R. H., Vera, H. La cryptosporidiosis en los terneros recién nacidos. Su etiología, patogenia, síntomas, tratamiento y profilaxis. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 2001, vol. 1, n° 3, p. 99 -108.
- Santín, M., Trout, L., Xiao, L., Zhou, L., Greiner, E., Fayer, R. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Veterinary Parasitology*, 2004, vol. 122, p. 103 -117.
- Scott, C. A., Smith, H. V., Mtambo, M. M. A., Gibbs, H. A. An epidemiological study of *Cryptosporidium parvum* in two herds of adult beef cattle. *Veterinary Parasitology*, 1995, vol. 57, p. 227-288.
- 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 in calves in Japan. *Veterinary Parasitology*, 2000, vol. 94, p. 27-32.
- 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*, 2001, vol. 11, p. 213 -218.
- Wisnivesky C. Ecología y epidemiología de las infecciones parasitarias. *Libro Universitario Regional (EULAC-GTZ)*. 1° Ed. Costa Rica, 2003, p. 257-262.
- Xiao, L., Herd, R.P. Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. *Veterinary Parasitology*, 1994, vol. 55, p. 257-262.