

Trabajo completo

Infección por *Cryptosporidium* spp. en ganado vacuno de la cuenca lechera de la provincia de Santa Fe (Argentina)

RECIBIDO: 29/06/2011

ACEPTADO: 19/09/2011

Modini, L. B.^{1*} • Carrera, E.² • Otero, J. L.³ • Zerbato, M. G.¹ • Eliggi, M. S.¹ • Vaira, S.² • Abramovich, B. L.¹

¹Sección Aguas, Departamento de Ciencias Biológicas; ²Departamento de Matemática. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.

Ciudad Universitaria -S3000ZAA- Santa Fe. Argentina.

³Departamento de Salud Pública. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral. R.P. Kreder 2805 -S3080HDF- Esperanza. Santa Fe. Argentina.

*e-mail: lauramodini@hotmail.com

RESUMEN: Los objetivos del presente trabajo fueron estimar la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en terneros de establecimientos de la cuenca lechera santafesina y estudiar la asociación de infección por este enteroparásito con la edad y con la diarrea. Se analizaron heces de vacunos con edades comprendidas entre 1 y 60 días. Las muestras se concentraron por el método de Sheather y se empleó la coloración de Kinyoun para la identificación de los ooquistes de *Cryptosporidium*. La proporción de animales que excretaban ooquistes fue de 24%. Se encontró asociación entre edad y excreción de *Cryptosporidium* hallándose que alrededor de la segunda semana de vida la proporción de infección fue mayor. Entre los animales de 46 a 60 días ninguno

estaba infectado. Se observó que en todas las edades la proporción de infectados fue superior en los terneros que presentaban diarrea que en aquéllos con heces de consistencia normal.

Palabras clave: *Cryptosporidium*, ganado vacuno, prevalencia, cuenca lechera santafesina.

SUMMARY: *Cryptosporidium* spp. infection in cattle from dairy farms in the province of Santa Fe (Argentina).

The objectives of this study were to estimate the prevalence of *Cryptosporidium* spp. in calves from dairy farms in Santa Fe and to study the association of *Cryptosporidium* infection with age and diarrhea. A sample of 162 calves (age between 1-60 days) was analyzed. Fecal samples were first concentrated (Sheather

method) and then dyed (Kinyoun method). It was found that 24% of the animals excreted oocysts. An association between age and excretion of *Cryptosporidium* was found to exist. At an age of about two weeks, infection rates were higher. None of the animals between 46 and 60 days was

shown to be infected. It was noticed that infection rates were higher in calves with diarrhea than in those producing normal manure, regardless of age.

KEYWORDS: *Cryptosporidium*, cattle, prevalence, Santa Fe.

Introducción

Cryptosporidium es un parásito protozooario que genera una de las enfermedades emergentes de finales del siglo XX. A pesar que fue descubierto a principios de ese siglo, recién en 1971 fue reconocido como agente etiológico de diarrea en un ternero de ocho meses de edad (1).

El primer caso de criptosporidiosis humana fue reportado en 1976 en una niña de tres años (2). De este modo, además de ser un parásito identificado en un amplio rango de especies de mamíferos (mono, perro, gato, conejo, rata, ganado bovino, equino, porcino) (3), presenta gran interés en Salud Pública debido a su potencial zoonótico.

Pese a la diversidad de animales de explotación pecuaria que son susceptibles a la infección por *Cryptosporidium*, los bovinos representarían el mayor riesgo debido a su número, amplia distribución, alta incidencia y niveles de infección (4). Se considera que los vacunos constituyen una fuente importante de infección por *Cryptosporidium* spp. tanto para los animales como para el humano. Hay evidencias de criptosporidiosis humana asociadas a la exposición con ganado vacuno, alimentos y aguas contaminadas (5). Aunque los trabajadores y visitantes de granjas pueden contraer esta enfermedad por contacto directo, la transmisión indirecta de criptosporidiosis de ori-

gen vacuno a través del agua es considerada la fuente zoonótica de infección más importante (6, 7). Según diversos autores (8, 9), la mayor concentración de ooquistes de *Cryptosporidium* en aguas superficiales se halló en zonas con alta influencia de la ganadería.

El rotavirus fue el agente infeccioso más frecuentemente detectado en rodeos de cría seguido de *Cryptosporidium*: 88,9% y 75% de los establecimientos respectivamente. En contraste, en los tambos, *Cryptosporidium* predominó sobre rotavirus (69,7% vs. 57,5%) (10). Por tanto, las aguas de escorrentía provenientes principalmente de establecimientos lecheros, representarían un alto riesgo de contaminación de los recursos hídricos con *Cryptosporidium*. Debido a que los ooquistes pueden permanecer viables en el agua durante semanas o meses y a su alta resistencia al tratamiento de potabilización, constituyen un potencial muy significativo como causantes de epidemias de origen hídrico, aún en países de avanzada tecnología (11).

La importancia sanitaria de lo anteriormente expresado justifica este estudio que tiene como objetivos estimar la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en terneros de establecimientos de la cuenca lechera santafesina y estudiar la asociación de la infección por este parásito con la edad y con la

diarrea en dichos animales. De este modo se pretende contribuir al control de la contaminación con este enteroparásito que aporta el ganado.

Materiales y métodos

Se analizaron muestras de materia fecal de 162 terneros con edades comprendidas entre 1 y 60 días de tres establecimientos tamberos, designados A, B y C, situados

en el Departamento Las Colonias, perteneciente a la principal cuenca lechera de la provincia de Santa Fe. Se registraron las características higiénico-sanitarias y condiciones de explotación de cada unidad de crianza artificial, como información complementaria de factores que puedan contribuir potencialmente a la infección (Tabla 1). El trabajo se llevó a cabo durante el año 2010.

Tabla 1. Principales características higiénico-sanitarias, condiciones de explotación y manejo de la crianza artificial de los establecimientos estudiados.

Establecimiento	A	B	C
Sistema de crianza artificial	estaca/jaula	estaca	estaca
Estado del suelo del corral	cubierto de pasto, sin barro, ni bosta, ni agua	tierra y pasto	pasto, muy buen estado
Sombra y/o reparo	Si	Si	sin sombra pero con reparo
Convivencia con otros animales	No	No	No
Presencia de moscas	No	No	No
Banco de calostro	Si	Si	Si
Alimentación	leche, heno, balanceado	leche	leche
Separación de los terneros con diarrea	Si	Si	No
Separación de los terneros por edad	Si	Si	Si
Tiempo de permanencia del ternero al pie de la madre	12 h	12 h	12 h

Obtención y procesamiento de las muestras

Las muestras de materia fecal, una por cada animal, fueron obtenidas por la maniobra de estimulación del esfínter anal empleando guantes quirúrgicos y recolectadas en recipientes que contenían formol al 5% por razones de bioseguridad. Luego, refrigeradas, se enviaron al labora-

torio donde se almacenaron a 4°C hasta su procesamiento. Junto con las muestras fue remitida una planilla conteniendo los siguientes datos: número de identificación, edad, sexo, estado de salud del ternero y características de las excretas. De acuerdo a su consistencia, las heces se clasificaron como diarreicas (líquidas y semilíquidas) o normales (formadas y pastosas).

El procesamiento consistió en la concentración de las heces por el método de Sheather (12), previo filtrado a través de gasa doble. Con el sedimento obtenido se prepararon extendidos que se colorearon con el método de Kinyoun (13) y se examinaron en microscopio óptico con aumentos de 400X y/o 1000X para detectar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. La identificación de los mismos se efectuó teniendo en cuenta su tamaño, coloración y características morfológicas (14). No se realizó la tipificación por PCR de las especies de este enteroparásito.

Análisis estadístico

Se calcularon proporciones y sus intervalos de confianza del 95% ($IC_{95\%}$) para tener una aproximación al valor de la prevalencia. Las relaciones entre variables cualitativas o cuantitativas se realizaron con la prueba estadística Chi Cuadrado (χ^2) o la exacta de Fisher cuando el valor esperado por celda fuese menor que 5 y se refrendaron con la prueba de razón de verosimilitud. El riesgo de infección en terneros con diarrea versus aquellos que no la presentaron se calculó mediante el Riesgo Relativo (RR). Para una mejor estimación del riesgo, se halló también el $IC_{95\%}$ del mismo, considerándolo significativo si dicho intervalo no contiene al 1. La comparación de la variable edad para

los grupos de muestras independientes: presencia y ausencia de *Cryptosporidium* se realizó con la prueba t de Welch dada la falta de homogeneidad de varianza (15, 16, 17, 18). El nivel de significación adoptado fue $\alpha = 0,05$. Los datos fueron procesados utilizando el software SPSS (v. 17.0) y EPI-INFO (v. 3.5.3).

Resultados

Cryptosporidium spp. se detectó en los tres establecimientos muestreados (A, B y C). La cantidad de terneros estudiados por establecimiento, el número de muestras positivas y el porcentaje de animales infectados se indican en la Tabla 2. La mayor proporción de infección (38%) se encontró en el establecimiento B y la menor (11%) en el C. La comparación entre los porcentajes de infección en los tres establecimientos no arrojó diferencias estadísticamente significativas ($p=0,131$, χ^2). Este resultado permitió considerar a los tres tambos en conjunto y calcular la proporción de animales infectados en su totalidad, cuyo valor fue 24% (38/162) con un $IC_{95\%}=(17\%, 31\%)$. Dicho intervalo expresa que la prevalencia esperada de infección por *Cryptosporidium* spp. en terneros con edades comprendidas entre 1 y 60 días y bajo las mismas condiciones de crianza de los animales estudiados, se encontrará entre 17% y 31%.

Tabla 2. Cantidad de terneros por establecimiento: Proporción de infección por *Cryptosporidium* spp.

Establecimiento	Número de terneros estudiados	Número de terneros infectados	Proporción de infección (%)
A	123	28	23
B	21	8	38
C	18	2	11
Total	162	38	24

Al estudiar la relación entre infección por *Cryptosporidium* spp. y la edad de los terneros, se observó que entre el grupo de los negativos existía una mayor dispersión de edades, lo que se traduce en falta de homogeneidad de variancias al compararlo con el de los positivos. El 75% de los terneros positivos tenía menos de 18 días, resultando las edades de estos dos grupos significativamente diferentes ($p < 10^{-3}$, t de Welch) (Figura 1). Cabe aclarar que el número total de terneros en este análisis fue $n = 161$, dado que no se reportó la edad de uno de ellos. Continuando con este análisis, y en base a la observación de los cuar-

tiles de la distribución de edad de los terneros infectados y no infectados, se agrupó a los animales por edades, tomando intervalos de 15 días: 1) ≤ 15 días, 2) 16-30 días, 3) 31-45 días y 4) 46-60 días, y se calculó la proporción de infectados en cada grupo etario. El porcentaje de infección en los terneros ≤ 15 días fue 43% (24/56), mientras que en el grupo de animales entre 46 y 60 días ninguno se hallaba infectado (Tabla 3). Al comparar las proporciones de animales infectados en los tres primeros grupos de edad, se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 10^{-3}$, prueba exacta de Fisher).

Figura 1. Diagramas de caja de las edades de los terneros y su clasificación en infectados (positivos) y no infectados (negativos) con *Cryptosporidium* spp.

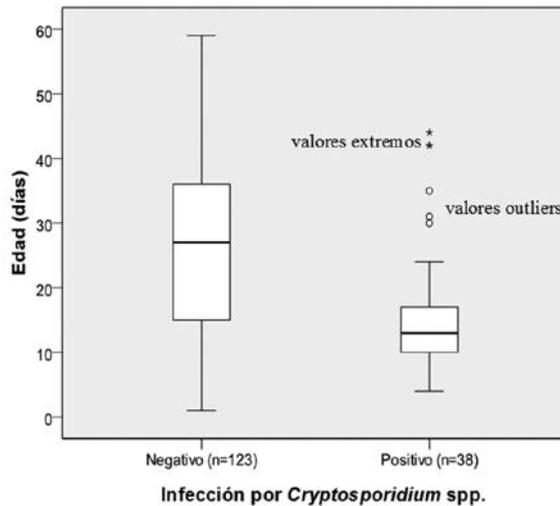


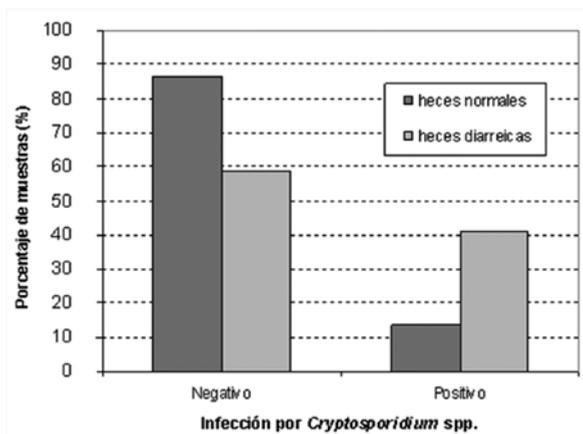
Tabla 3. Agrupación de los terneros por rangos de edades: Proporción de infección por *Cryptosporidium* spp.

Intervalos de edades (días)	Número de terneros estudiados	Número de terneros infectados	Proporción de infección (%)
≤ 15	56	24	43
16 a 30	52	9	17
31 a 45	46	5	11
46 a 60	7	0	0

El examen macroscópico de las características de las heces permitió detectar que 6 eran excretas de meconio. Debido a la particular consistencia de las heces de meconio no se clasificaron en diarreicas o normales, razón por la cual se excluyeron en el análisis de la relación entre infección y diarrea. No obstante, se destaca que el examen parasitológico de las mismas fue negativo. De las 156 muestras restantes, 39% eran diarreicas. Posteriormente se calculó la proporción de *Cryptosporidium* spp. según la consistencia de la materia fecal, hallándose que en las calificadas como diarreicas, el 41% presentaba ooquistes de este

enteroparásito. En contraste, sólo se encontraron ooquistes en el 14% de las muestras de heces normales (Figura 2). Se halló una asociación altamente significativa ($p < 10^{-3}$, χ^2) entre infección por *Cryptosporidium* spp. y consistencia de las heces. Además, el análisis del riesgo de infección por *Cryptosporidium* en animales diarreicos reveló un $RR=2,995$ con un $IC_{95\%}=(1,66; 5,39)$ que no contiene el 1; siendo por lo tanto significativo. Es decir, la prevalencia de infección por *Cryptosporidium* spp. en los terneros con diarrea, fue significativamente mayor con respecto a los que no presentaban esa condición.

Figura 2. Relación entre presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y consistencia de las heces de terneros.



A continuación se estudió la relación entre infección por *Cryptosporidium* spp. y la ocurrencia o no de diarrea según la edad (Tabla 4). En cada grupo etario, de los ya analizados por intervalos de 15 días, se encontró que la proporción de infectados fue mayor en los terneros con diarrea que en aquellos cuyas heces presentaban consistencia normal. El RR fue superior a 2 en todos los grupos, aunque sólo resultó significativo en los terneros cuya edad era ≤ 15 días ($RR=2,85$;

$IC_{95\%}=(1,44-5,64)$), por lo cual se decidió seguir con este análisis tomando intervalos más pequeños en días. Se obtuvo así que el 13% (4/31) de los terneros menores de 8 días registró infección. En el grupo entre 8 y 14 días de edad, 86% (19/22) estaban infectados y en los animales de 15 a 22 días, 33% (8/24) resultaron positivos. Como se destaca, la mayor proporción de infección se encuentra en la segunda semana de vida.

Tabla 4. Infección por *Cryptosporidium* spp. en terneros menores de 45 días con cuadros de diarrea por rango de edades: Cálculo del Riesgo relativo (RR) y su intervalo de confianza de 95% (IC95%).

Intervalos de edades (días)	Terneros con diarrea			Terneros con diarrea			RR	IC _{95%}
	n	Infectados (%)	No infectados (%)	n	Infectados (%)	No infectados (%)		
≤15 ⁽¹⁾	23	73,9	26,1	27	25,9	74,1	2,85	1,44-5,64
16 - 30	17	29,4	70,6	35	11,4	88,6	2,57	0,79-8,38
31 - 45	18	16,6	83,4	28	7,1	92,9	2,33	0,43-12,63

Por último, se separaron los terneros por sexo y se calculó la proporción de los que excretaron ooquistes. Para los machos fue de 32% y para las hembras de 21%. No obstante ser mayor dicha proporción en los machos, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,142$, χ^2) y no se detectó un riesgo asociado al sexo. Tal vez esto se deba a la menor cantidad de terneros machos ($n=37$) con respecto a las hembras ($n=125$), como ocurre en todos los establecimientos lecheros.

Discusión

La excreción de *Cryptosporidium* spp. por el ganado bovino se halló en todos los establecimientos tamberos muestreados. Esto coincide con la bibliografía (19, 20) donde se afirma que la alta concentración de animales de rodeos lecheros generaría condiciones propicias para su transmisión.

Como se señaló anteriormente la prevalencia de infección en los tres establecimientos muestreados fue 24%. Por otro lado, Modini et al. (5), en una unidad de crianza artificial de terneros en sistema de "estaca" cuyos animales provenían de distintos tambos del Departamento Las Colonias (perteneciente a la cuenca lechera santafecina), hallaron que sobre un total de 106 terneros del mismo rango de edad (1-60 días) la proporción que eliminaba *Cryptosporidium* spp. en las heces fue 84%. Este

valor, notoriamente superior al del presente trabajo, podría ser atribuido a las diferentes condiciones sanitarias de los establecimientos de ambos estudios. La mencionada unidad de crianza artificial (5) tenía las siguientes características: a) el suelo del corral era de tierra con zonas de barro, b) se observó la presencia de moscas, c) en el lugar convivían otras especies animales (bovinos adultos, equinos, asnos y búfalos), d) los terneros no contaban con ningún tipo de refugio, ni se separaban los mismos por edad, e) parte de los animales no había sido castrado correctamente, demostrado a través del "test de glutaraldehído" (21). En cambio, los establecimientos relevados en esta investigación contaban con mejores condiciones higiénico-sanitarias y de manejo del ganado que la referida unidad.

Medidas adecuadas de higiene ayudarían a reducir la carga ambiental de ooquistes de *Cryptosporidium* y de otros patógenos, ya que los terneros se infectan a través de la materia fecal eliminada por los enfermos y portadores sanos, contaminándose así los espacios físicos, el agua y los alimentos. Los ooquistes de este enteroparásito, que son eliminados por millones en la materia fecal de los animales enfermos, son altamente infecciosos porque a diferencia de otras especies de coccidios intestinales no requieren un estadio externo para la esporulación (22). Además, pueden per-

manecer viables durante muchos meses en ambientes barrosos y húmedos. De ahí la importancia de contar con establecimientos que mantengan secos y limpios los lugares destinados a la cría de ganado.

Ovinos, caprinos, equinos, porcinos, búfalos y otras especies de mamíferos también son susceptibles a la infección por este enteroparásito; de modo que la convivencia con otros animales favorece la difusión de esta infección. Además, existen insectos transportadores de ooquistes como las moscas, que pueden contribuir a incrementar su diseminación en el ambiente (23).

El calostro contiene anticuerpos (inmunoglobulinas) que reducen significativamente el riesgo de infección por *Cryptosporidium*. Esto indica que la madre ha tenido una exposición previa al parásito y ha generado dichos anticuerpos. Las inmunoglobulinas adquiridas a través del calostro son re-excretadas a la luz intestinal neutralizando a los patógenos que ingresan por vía oral al intestino. Algunas haciendas, como las aquí estudiadas, cuentan con bancos de calostro y suministran el mismo a los recién nacidos con mamadera o sonda. Según Fayer et al. (24) la administración temprana de calostro hiperinmune bovino preparado contra *C. parvum* disminuye los síntomas y duración de la enfermedad.

La diarrea de los terneros ocasiona un grave problema de índole económico en los productores, además del mencionado potencial zoonótico. Los episodios diarreicos causan en los animales afectados un desarrollo corporal más restringido, a lo cual deben añadirse los gastos en medicamentos y tratamiento veterinario, así como la demanda de horas de trabajo del personal del establecimiento.

Sin ignorar que la diarrea es un síndrome de etiología multifactorial en el cual pueden contribuir varios agentes infecciosos (rotavirus, cepas patógenas de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., coronavirus bovino) (25), en este trabajo se halló una fuerte asociación entre infección por *Cryptosporidium* y diarrea. Además, se calcula que un ternero infectado puede eliminar alrededor de 6.10^{11} ooquistes durante su primer mes de vida (26). Este valor puede ser superado en los cuadros de diarrea; siendo indudable que los animales diarreicos desempeñan un papel importante en la diseminación del parásito y en la transmisión directa de ternero a ternero.

Con respecto a la relación de esta infección y la edad de los terneros, se halló que el mayor porcentaje (43%) correspondía a menores a 15 días, decreciendo hasta desaparecer en los vacunos mayores a este grupo etario. Este resultado coincide con otros autores (27) que encontraron que los terneros menores de un mes son más susceptibles a la infección por *Cryptosporidium*. Dado que alrededor de la segunda semana de vida se constataron los mayores valores de prevalencia, se recomienda que las medidas adoptadas para reducir la morbilidad y la difusión de este parásito deben estar dirigidas especialmente hacia este grupo de alto riesgo. La separación de terneros por edad disminuye la probabilidad de infección, porque como se detalla en resultados, hay asociación entre edad y excreción de ooquistes de *Cryptosporidium*, y por lo tanto esta práctica sería efectiva para controlar el contagio. Otras fuentes (4) sugieren que gran parte adquiere la infección poco tiempo después del nacimiento durante su permanencia en el área de maternidad. El consejo en este sentido,

es separar lo antes posible a los terneros de las vacas, para evitar contaminaciones del adulto a su cría (28). Esta tendencia es seguida en los establecimientos A, B y C donde el tiempo que el ternero permanece con su madre es de 12 horas (Tabla 1).

En Argentina hay escasos trabajos acerca de la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en terneros. En 1990, Bellinzoni et al. (29), en un estudio donde sólo se muestrearon animales con cuadros de diarrea de establecimientos lecheros de varias provincias (Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe, Entre Ríos y La Pampa), reportaron un porcentaje global de infección de 29,6%. En el presente trabajo se encontró *Cryptosporidium* spp. en 39% de las muestras diarreicas y una proporción de infección de 24% ($IC_{95\%} = (17\%, 31\%)$) en terneros con y sin ocurrencia de diarrea (edad ≤ 60 días) procedentes de tres establecimientos de la provincia de Santa Fe. Por su parte, en el año 2007, Del Cocco et al. (30) estudiaron un único tambo de la provincia de Buenos Aires, hallando que 17% de los terneros (edad ≤ 30 días) estaban infectados con *Cryptosporidium* spp. Este resultado se encuentra dentro del intervalo de confianza de la prevalencia esperada en el presente estudio. Pinto de Almeida Castro et al. (31) analizaron este tema desde otro punto de vista, estudiando la evolución de la parasitosis desde el nacimiento del ternero hasta los 37 días de edad, hallando 93,4% de terneros infectados.

Conclusiones

Las aguas de escorrentía proveniente de establecimientos ganaderos pueden contener una elevada concentración de ooquistes y contaminar de esta manera los recursos hídricos. El conocimiento de algunos

de los factores (como edad y diarrea) asociados a la infección de los terneros, permitirá desarrollar medidas tendientes a reducir la contaminación ambiental y el riesgo de infección humana y animal.

Agradecimientos

Al Licenciado en Biotecnología Diego Manni por su importante colaboración. El trabajo fue realizado en el marco del proyecto CAI+D 2009 "Inactivación de ooquistes de *Cryptosporidium* en estiércol de ganado para la protección de los recursos hídricos", a través de los cuales la Universidad Nacional del Litoral financia y promueve la investigación.

Bibliografía

1. Panciera, R.J., Tomasen, R.W., Garner, F.M., 1971. Cryptosporidial infection in a calf. *Vet Pathol.* **8**: 479 - 484.
2. Nime, F.A., 1976. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology.* **70**, 4: 592 - 598.
3. Lerman de Abramovich, B., Lura, M.C., Gilli, M.I., Haye, M.A., 1999. *Cryptosporidium* y agua. *Rev Argent Microbiol.* **31**, 2: 97-105.
4. Díaz de Ramírez, A., Ramírez Iglesia, L.N., Morillo Luque, J.G., Barreta Bastidas, A.J., 2007. Infección con *Cryptosporidium* sp. y su asociación con diarrea en becerros de ganadería de doble propósito. *Zootecnia Trop.* **25**, 1: 29 - 36.
5. Modini, L., Otero J.L., Carrera, E., Zerbato, M., Eliggi, S., Abramovich, B., 2010. *Cryptosporidium* spp. en ganado bovino: Su potencial como contaminante de los recursos hídricos. *Rev. FAVE.* **9**, 1: 47 - 52.
6. O'Handley, R.M., 2007. *Cryptosporidium* parvum infection in cattle: are current perceptions accurate?. *Trens Parasitol.* **23**: 477 - 480.

7. Olson, E.M., O'Handley, R.M., Ralston, B.J., McAllister, T.A., Thompson, A., 2004. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. *Trends Parasitol.* **20**, 4: 185 - 191.
8. Mons, C., Dumetre, A., Gosselin, S., Gallito, Ch., Moulin, L., 2009. Monitoring Of *Cryptosporidium* and *Giardia* river contamination in Paris area. *Wat Environ Res.* **43**, 1: 211 - 217.
9. Solarte, Y., Peña, M., Madera, C., 2006. Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. *Colomb. Med.* **37**, 1: 74 - 82.
10. Parreño, V., 2008. Diarrea neonatal bovina: protegerlos desde la panza. *Rev Angus.* 241: 61 - 65.
11. Kramer, M.; Quade, G., Hartemann, P., 2001. Waterborne disease in Europe. *J. AWWA.* **93**, 1: 48 - 53.
12. Garcia, L.S., 2007. "Diagnostic Medical Parasitology" American Society for Microbiology Press (Washington DC), **V**. 1 - 1202.
13. Henriksen, S.A., Pohlenz, J.F.L., 1981. Staining of *Cryptosporidia* by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet Scand.* **22**, 594 - 596.
14. Fayer, R., 2007. "*Cryptosporidium* and cryptosporidiosis" CRC Press (Boca Raton, FL), **I**. 1 - 41.
15. Agresti, A., 2002. "Categorical Data Analysis" Wiley Interscience (New Jersey), **II**. 36 - 70.
16. Agresti, A., 2002. "Categorical Data Analysis" Wiley Interscience (New Jersey), **II**. 71-115.
17. Altman, D.; Machin D; Bryant, T., Gardner, S., 2000. "Statistics with Confidence: Confidence intervals and statistical guidelines" *BMJ* (United Kingdom), **II**. 1 - 240.
18. Sawilowsky, S.S., 2002. Fermat, Schubert, Einstein, and Behrens-Fisher: The Probable Difference between Two Means When $\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$. *J Mod Appl Stat Methods.* **1**, 2: 461 - 472.
19. Santín, M., Trout, J.M., Xiao, L., Zhou, L., Greiner, E., Fayer, R., 2004. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves; *Vet Parasitol.* **122**, 2: 103 - 117.
20. Sischo, W.M., Atwill, E.R., Lanyon, L.E., George, J., 2000. Cryptosporidia on dairy farms and the role these farms may have in contaminating surface water supplies in the northeastern United States. *Prev Vet Med.* **43**, 4: 253 - 267.
21. Navarro, F., Trotti, N., Raviolo, J.M., 2008. Evaluación del calostro por el test del glutaraldehído en terneros de crianzas artificiales de la provincia de Córdoba. Comunicación. *Revista Argentina de Producción Animal.* **28**, 1: 303 - 334.
22. Diarrea neonatal. Novedades sobre etiología y control. <http://ebookbrowse.com/701-actualización-tenica-veterinaria-diarrea-neonatal-pdf-d89257388>. Fecha de acceso: 15 de abril de 2011.
23. Díaz de Ramírez, A., 2002. Criptosporidiosis en el ganado bovino. XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal, Conferencia. ULA-Trujillo, Venezuela.
24. Fayer, R., Andrews, C., Ungar, B.L., Blagburn, B., 1989. Efficacy or hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *J Parasitol.* **75**, 3: 393 - 397.
25. Quílez, J., Sánchez-Acevedo, C., del Cacho, E., Clavel, A., Causapé, A.C., 1996. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragón (northeastern Spain). *Vet Parasitol.* **66**, 1-2: 139 -146.
26. Uga, S., Matsuo, J., Kono, E., Kimura, K., Inoue, M., Rai, S.K., Ono, K., 2000. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocysts shedding calves in Japan. *Vet Parasitol.* **94**, 1-2: 27 - 32.
27. Sturdee, A.P., Bodley-Tickley, A.T., Archer, A. y Chalmers, R.M., 2003. Long-term study of *Cryptosporidium* prevalence on lowland farm in the United Kingdom. *Vet Parasitol.* **116**, 2: 97 - 113.

- 28.** Ganadería: separar los terneros de sus madres. Revista Producción Agroindustrial del NOA. [Online]: (http://www.produccion.com.ar/1999/99abr_14.htm).
- 29.** Bellinzoni R.C., Blackhall, J., Terzolo, H.R., Moreira, A.R., Auza, N., Mattion, N., Micheo, G.L., La Torre, J.L., Scodoller, E.A., 1990. Microbiology of diarrhea in young beef and Dairy calves in Argentina. *Rev Argent Microbiol.* **22**, 3: 130 - 136.
- 30.** Del Coco, V.F., Córdoba, M.A., Basualdo, J.A., 2008. *Cryptosporidium* infection in calves from a rural area of Buenos Aires, Argentina. *Vet Parasitol.* **158**, 1-2: 31 - 35.
- 31.** Pinto de Almeida Castro, A., Bilbao, G., Echevarría, H., Morán, P., Catena, M., Cacciatto, C. y Monteavaro, C., 2009. *Cryptosporidiosis*: caracterización de la infección en terneros de rodeos lecheros. *Livestock research for rural development.* 21, 10. [Online]: <http://www.lrrd.org/lrrd21/10/pint21168.htm>.