

# DINÁMICA DE LA INFECCIÓN POR *Cryptosporidium* spp. Y *Giardia* spp. EN BÚFALOS (*Bubalus bubalis*) DURANTE LOS PRIMEROS TRES MESES DE VIDA\*

## Dynamic of infections by *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in Buffaloes (*Bubalus bubalis*) During the First Three Months of Life

Adelina Díaz de Ramírez<sup>1\*\*</sup>, Jhonny Manuel Jiménez-Garzón<sup>2</sup>, Pedro Antonio Materano-Ocanto<sup>2</sup> y Lílido Nelson Ramírez-Iglesia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación en Fisiología e Inmunología, Centro de Investigaciones Agrícolas Biológicas, Educativas y Sociales, Universidad de Los Andes - Núcleo Trujillo. <sup>2</sup>Actividad Privada. \*\*adediazra@yahoo.com

### RESUMEN

La dinámica de la infección por *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. fue estudiada en 25 bucerros (*Bubalus bubalis*) de ambos sexos, mestizos Murrah y Mediterráneo, nacidos en un lapso de 45 días (d) en una finca ubicada en una zona de bosque seco tropical a 9°42'17" LN y 70° 31'58" LO (Edo. Trujillo, Venezuela). Un total de 250 muestras fecales (10 por bucerro) fueron colectadas directamente del recto, semanalmente hasta la 8ª semana de vida y cada 15 d hasta la 12ª, fueron procesadas por centrifugación-flotación con NaCl y centrifugación-sedimentación en formol-acetato de etilo, confeccionados frotis coloreados con carbol-fucsina y preparaciones húmedas teñidas con lugol. La intensidad de la infección fue establecida semi-cuantitativamente, las heces se clasificaron en diarreicas y normales según su consistencia. Se registró temperatura rectal, grado de elasticidad cutánea y se determinó el volumen celular aglomerado (VCA) en muestras de sangre. Fue confirmada la infección por *Cryptosporidium* en 88% de los bucerros, inicialmente a la edad de 5 d y antes de los 30 d, el 72% resultó positivo. Las mayores prevalencias se registraron entre 8-14 d (36%) y 15- 21 d (32%) de edad, la intensidad de la infección fue leve en el 63,6% de los positivos y cuanto más temprano adquirieron la infección, mayor resultó el número de colectas positivas. Se observó un alto grado de asociación entre infección con *Cryptosporidium* spp. y la consistencia de las heces ( $P < 0,001$ ) y el VCA ( $P < 0,05$ ). La infección por *Giardia* spp. fue comprobada en 17 (68%) bucerros, se registró a partir

de 12 d de edad, 64% resultó positivo entre 29-35 d, la mayoría con infección leve (83,5%) y fue más prevalente en las edades 15-21 d (32%) y 22-28 d (24%), mostrando asociación significativa ( $P < 0,05$ ) entre la edad y la infección. Estos resultados indican un alto porcentaje de infección con *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp en los bucerros durante sus primeros meses de vida y sugieren que *Cryptosporidium* puede tener importancia clínica.

**Palabras clave:** *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Bubalus bubalis*, prevalencia.

### ABSTRACT

The dynamics of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. infection was studied in 25 buffalo calves (*Bubalus bubalis*) of both sexes, crossbred Murrah and Mediterranean, born in a span of 45 days (d) at a farm located in an area of tropical dry forest to 9°42'17" LN and 70°31'58" LW (Trujillo State, Venezuela). A total of 250 fecal samples (10 per calf), collected directly from the rectum, weekly until the 8<sup>th</sup> week of life and every 15 d until the 12<sup>th</sup> were processed by formalin-ethyl acetate centrifugal-sedimentation and NaCl centrifugal-flotation, manufactured smear staining with carbol-fuchsin and wet preparations stained with lugol's. The intensity of infection was established semi-quantitatively, feces were classified in diarrheic and normal according to its consistency. Registered rectal temperature (TR), degree of skin elasticity, and determined agglomerate

\* Trabajo presentado en el XVI Congreso de Producción Animal, 5 y 6 de julio 2012.

cell volume (ACV) in blood samples. Infection was confirmed by *Cryptosporidium* in 88.0% of the buffalo calves, initially at 5 d of age and before 30 d old 72% was positive. The higher prevalence were registered among 8-14 d (36%) and 15-21 d (32%) old, the intensity of the infection was mild in the majority of animals (63.6%) and the more they acquire early infection, greater is the number of positive collections. A high degree of association was observed between *Cryptosporidium* spp. infection and fecal consistency ( $P < 0.001$ ), and the ACV ( $P < 0.05$ ). *Giardia* spp. infection was proven in 17 (68%) buffalo calves, recorded from 12 d old, 64% was positive between 29-35d, most presented mild infection (83.5%) and was more prevalent among 15-21 d (32%) and 22-28 d (24%) old, showing significant association ( $P < 0.05$ ) between age of buffaloes calf and the infection. These results show a high percentage of infection with *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp occurring in buffalo calves during its first months of life and suggest that *Cryptosporidium* might have clinical significance.

**Key words:** *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Bubalus bubalis*, prevalence.

## INTRODUCCIÓN

Los protozoos pertenecientes a los géneros *Cryptosporidium* y *Giardia* son enteropatógenos cosmopolitas que infectan a un amplio rango de hospedadores incluyendo seres humanos, animales domésticos y otros vertebrados [14, 26]. Las infecciones causadas por *Cryptosporidium parvum* y *Giardia duodenalis* son clínicamente importantes y pueden impactar adversamente en la producción animal [26]. En el ganado vacuno (*Bos taurus* y *Bos indicus*) son frecuentes estas parasitosis, que en muchas ocasiones resultan asintomáticas, pero se han descrito casos clínicos con síndromes de diarrea persistente, con heces mucosas, deshidratación, fiebre, apatía, alteración del apetito, pérdida de peso, lo cual conduce a un retraso en el crecimiento e incluso la muerte, especialmente en animales jóvenes [14-16, 20, 21, 25, 32, 38].

La mayoría de los estudios de prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* spp. en animales de producción han sido realizados en el ganado vacuno [1, 4, 8, 10, 14, 21, 25, 27, 28, 39, 40], siendo, en comparación, relativamente escasos los reportes en búfalos (*Bubalus bubalis*) de agua, sin embargo, la infección también resulta frecuente en esta especie animal y ha sido observada en países como Italia [6, 7, 9, 29], España [17], Egipto [12, 22], Cuba [31], India [5, 11], Brasil [2] y Paquistán [24]. Igualmente, en Venezuela fue reseñada la presencia del protozoo en búfalos de una finca ubicada en el estado Zulia [35]. Así mismo, la infección por *Giardia duodenalis* fue demostrada en estos rumiantes domésticos en Paquistán [3, 18] y más recientemente, en Italia [6, 29, 30].

Además de su rol como agentes patógenos, el interés en estos parásitos ha resurgido debido a que algunas especies, genotipos y ensamblajes tienen potencial zoonótico [36, 41].

La identificación de *Cryptosporidium parvum* y del subtipo A1 de *Giardia duodenalis* en búfalos de agua, indica que estos animales podrían contribuir a la contaminación ambiental con ooquistes y quistes potencialmente infecciosos para los seres humanos, si sus heces no son debidamente desechadas [6].

Una mayor comprensión del curso de las infecciones causadas por estos protozoos gastrointestinales en la ganadería bubalina, en particular durante el período de mayor riesgo, permitiría desarrollar medidas preventivas adecuadas, tendientes a reducir la contaminación ambiental y el riesgo para la salud animal y humana. En ese sentido, el objetivo de este trabajo fue estudiar la dinámica de la infección de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. en búfalos de agua durante los tres primeros meses de vida.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio y unidad de producción

El estudio se realizó en una explotación agrícola-ganadera localizada en Sabana Grande de Monay, en los municipios Candelaria, José Felipe Márquez Cañizalez y Miranda, estado Trujillo, Venezuela. La unidad posee una superficie de 5.200 hectáreas divididas para la siembra de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y la producción pecuaria. El área destinada a la cría de búfalos se encuentra ubicada en el municipio José Felipe Márquez Cañizalez, en una zona de bosque seco tropical [13] entre las coordenadas 9°42'17"LN y 70°31'58" LO, a una altura de 240 m. s. n. m. (GPS Magellan® Tritón™500, Magellan Navigation Inc., EUA) con temperatura media anual de 26°C y con una precipitación de 1.161 mm<sup>3</sup> anuales [23].

### Animales y su manejo

Fueron incorporados al estudio 25 bucerros de ambos sexos, mestizos de las razas Murrah y Mediterráneo, que nacieron en un intervalo de 45 días (d). Durante los primeros 5 d de vida, los animales permanecieron en el área de maternidad junto a sus madres y luego fueron alojados en un corral ubicado dentro de la sala de ordeño, con piso de cemento y bebederos. Las búfalas se ordeñaban manualmente, una vez al d, con apoyo de sus crías, que eran conducidas a la sala de ordeño, pasaban luego a un corral de post-ordeño, donde permanecían entre 2 a 4 horas (h) junto a sus madres. Después de los 15 d de edad, al finalizar el ordeño los bucerros son separados de las búfalas, van a pastoreo en corrales cercanos a la sala de ordeño y son recogidos en horas de la tarde, para facilitar las labores del día siguiente.

### Colecta y procesamiento de las muestras

Las muestras fecales, en número de diez por bucerro, fueron obtenidas directamente del recto usando guantes y bolsas plásticas; la primera fue colectada entre los 2 a 7 d posteriores al nacimiento, continuándose luego con una muestra

cada 7 d, con excepción de las dos últimas que fueron cada 15 d. De cada animal se anotó la identificación, sexo, fecha de nacimiento y de muestreo y una vez colectada la muestra de heces se registraron parámetros clínicos como temperatura rectal (TR) y grado de elasticidad cutánea (GEC), la cual se valoró midiendo en segundos el tiempo que demora en recobrar su forma original un pliegue de piel realizado en la región del tejido subcutáneo laxo del cuello. Al mismo tiempo se tomó una muestra de sangre de la vena yugular, previa desinfección de la zona, empleando agujas estériles 21 G × 1 pulgada y tubos colectores al vacío adicionados con sal disódica del ácido etilen-diamino-tetracético a una concentración de 1-2 mg/mL de sangre, determinándose el volumen celular aglomerado (VCA) mediante la técnica de microhematocrito, en una centrífuga Gemmy Industrial Corp. KHT-400. Taiwán. Las muestras de sangre y de heces, así como el registro de TR y GEC, fueron realizados entre 6 y 8 am. Las heces fueron examinadas macroscópicamente para establecer su consistencia y fueron clasificadas en diarreicas (líquidas y semilíquidas) y en normales (formadas y pastosas). Cada muestra fue etiquetada, sellada y transportada bajo refrigeración. A la llegada de las muestras al laboratorio, en un lapso de 3 a 4 h posterior a su obtención, fueron procesadas usando dos métodos de concentración, uno mediante centrifugación-flotación en una solución de cloruro de sodio (gravedad específica de 1,21) y el otro por centrifugación-sedimentación en formol-acetato de etilo, utilizando una centrífuga refrigerada (Damon®, IEC CENTRA-7R, International Equipment Company, EUA). Se confeccionaron frotis que fueron coloreados con la técnica de carbol-fucsina, así como preparaciones húmedas teñidas con lugol, siendo luego examinados en microscopio óptico (Olympus®, CH30 RF100, Olympus Optical CO, LTD, Japón), bajo los objetivos 40 y 100X. La identificación de los parásitos se basó en sus características morfológicas y en las mediciones biométricas. La intensidad de la infección por *Cryptosporidium* y *Giardia* fue calculada semi-cuantitativamente según el número promedio de ooquistes o quistes, contados en 50 campos microscópicos seleccionados al azar con un aumento de 1000 y 400 x, respectivamente. Las categorías establecidas fueron: 0 (ausencia de ooquistes o quistes por campo), 1 ( $\leq 1$  ooquistes o quistes por campo), 2 (2 a 5 ooquistes o quistes por campo) 3 (6 a 10 ooquistes o quistes por campo) 4 ( $> 10$  ooquistes o quistes por campo) [8].

### Análisis estadístico

La estadística descriptiva fue realizada usando el programa estadístico Statistical Analysis System, (SAS) [34]. Los datos fueron analizados con la prueba de Ji-cuadrado o la prueba exacta de Fisher's cuando el número de observaciones en alguna celda fue  $\leq 5$ . Para determinar la prevalencia, las muestras se agruparon por colectas con los respectivos grupos etareos. Los parámetros investigados en relación con la infección de *Giardia* y *Cryptosporidium* fueron: prevalencia total, por edad de los bucerros y por sexo, incidencia acumula-

da, intensidad de la infección, consistencia fecal en el total de muestras, el valor del volumen celular aglomerado (VCA) para el cual se establecieron dos categorías  $\leq 34,3$  y  $> 34,3$  y la temperatura rectal. Los datos fueron procesados en el Centro de Computación de la Universidad de Los Andes (CecalULA)

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se examinaron 250 muestras en total, correspondientes a 25 bucerros; considerando que al menos una de las 10 muestras obtenidas de cada animal resultó positiva, la infección por *Giardia* spp. y/o *Cryptosporidium* spp. fue confirmada en 24 (96%) animales. Infecciones con ambos parásitos fueron registradas en 15 (60%) bucerros, ya sea de manera simultánea (28%) o en diferentes colectas (32%), mientras que 7 (28%) animales excretaron solamente ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y 2 (8%) resultaron positivos sólo para *Giardia* spp.

Durante el período de estudio, la tasa acumulada de infección para *Cryptosporidium* spp. fue del 88% (22/25) (FIG. 1), resultado muy superior a los valores reportados por otros autores [5, 9, 12, 24, 29, 35] mediante la evaluación de una única muestra por animal. De esa manera, se han referido porcentajes de infección del 42% en bucerros de 1-30 d de edad [24], de 14,19% en menores de tres meses [12] y de 14,7% entre 1 a 9 semanas de edad [9], otras referencias registran prevalencias de 38,3% en menores de 5 meses [5], de 19,8% entre 2 a 60 d de edad [29] y 23,8% en animales mayores de 4 semanas [35]. En estos estudios, el esquema de muestreo y los métodos utilizados para la detección de ooquistes difieren del presente trabajo y los resultados, por lo tanto, no son exactamente comparables.

En ganado vacuno se ha documentado que la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* puede ser intermitente [25] y relativamente de corta duración [14, 15], así la tasa de detección del parásito podría variar según el número de muestras examinadas por animal, quedando subestimado el verdadero valor de prevalencia si ésta resulta del examen de una sola muestra. En el presente estudio la presencia del parásito fue verificada mediante el análisis de diez muestras por bucerro, aumentando de ese modo la probabilidad de detectar a los positivos. Igualmente, en ganado vacuno donde los animales fueron evaluados mediante el examen de varias muestras fecales, se han referido tasas acumuladas de infección por *Cryptosporidium* de hasta 100% [1, 8, 10, 25, 40]. El número de casos prevalentes también puede ser afectado, al menos en parte, por las prácticas de manejo, parámetros geográficos y climatológicos, diferencias en el diseño de estudio, tales como la edad, el número de animales incluidos y el ensayo utilizado para el diagnóstico.

Con relación a la infección por *Giardia* spp., los resultados del presente estudio reflejan una incidencia acumulada del 68% (FIG. 2) y al igual que la infección por *Cryptosporidium*

spp., los valores de prevalencia de la giardiasis también pueden estar influenciados por los factores antes señalados, por lo que algún grado de variación debe esperarse entre los estudios que difieren en uno o más de dichos parámetros.

Aunque los trabajos que refieren la presencia de *Giardia* en el ganado bubalino aún son escasos, estudios conducidos en Italia [6, 29, 30] y Paquistán [3, 18] muestran cierta variabilidad en las tasas de prevalencia puntual. Esta ha reflejado en una región de Italia Central porcentajes de 18,1% en bucerros de 1 a 9 semanas [30] y de 19,8% en animales de 2 a 60 d [29], mediante la captura de copro-antígenos a través de un ensayo inmuno-enzimático, mientras que por inmunofluorescencia fueron reportados valores de 26,3% [6]. Porcentaje muy similar (26,1%) fue señalado en Paquistán en búfalos >1 año [3] y de 43% en ≤ 1 año de edad [18], aplicando métodos de concentración y microscopía óptica. El hecho de que estos valores sean sustancialmente menores a la tasa acumulada del 68% observada en el presente estudio, puede obedecer, al menos en parte, al número de muestras examinadas por animal, dada la naturaleza intermitente de la excreción de quistes de *Giardia* [25]. Es factible que las diez muestras recogidas de cada bucerro durante un período de tres meses, ofrezcan una imagen más precisa de la prevalencia de la infección por *Giardia* spp., en comparación a la observada con un solo muestreo por animal. Estudios longitudinales conducidos en becerros de ganadería lechera y de carne, también han revelado altas tasas de infección acumuladas, que en algunos casos alcanzan al 100% [4, 25, 28, 40].

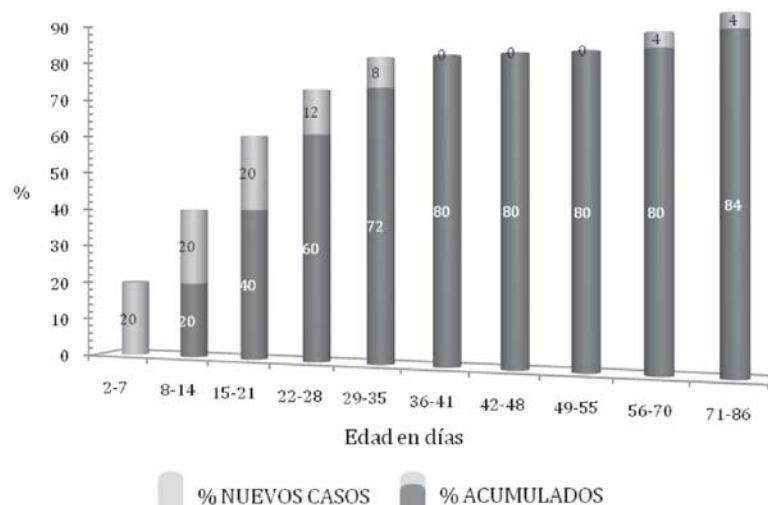
De los 25 bucerros evaluados, 10 fueron hembras, resultando 100% positivas para *Cryptosporidium* spp., mientras que de los 15 machos, el 80% (12/15) presentaron ooquistes. Igualmente, el porcentaje de infección por *Giardia* spp. en hembras con 80% (8/10) fue superior al registrado en machos con 60% (9/15), no observándose asociación significativa entre el sexo de los animales y la infección en ambos parásitos

( $P > 0,05$ ). Resultados similares fueron señalados para la infección por *Cryptosporidium* en bucerros [12, 24], por el contrario, en animales infectados con *Giardia*, las hembras resultaron más susceptibles [3].

La excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* se apreció inicialmente a la edad de 5 d en 12% (3/25) de los bucerros y la incidencia acumulada muestra que entre 2 a 14 d, el 40% (10/25) resultó positivo, a los que se sumaron 8 nuevos casos antes de los 30 d, alcanzando 72% (18/25), y para la 5ª colecta, cuando tenían entre 29-35 d, el 80% (20/25) de los animales hizo patente la infección (FIG. 1). El periodo infectivo medio, es decir la edad en d en que el 50% de los animales estaría infectado, fue de 10,6.

Estos resultados muestran que los bucerros pueden adquirir tempranamente la infección por *Cryptosporidium* y es posible que gran parte de los animales evaluados en este estudio se infectaron poco tiempo después del nacimiento, teniendo en cuenta que, una alta proporción la hicieron patente en los primeros 15 d de vida. De esta forma, se confirman hallazgos previos [1, 40] donde se demuestra que la infección por *Cryptosporidium* es, principalmente, un problema neonatal. En el ganado vacuno se ha señalado la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* en becerros de sólo 3 d de edad [8, 10, 27], e incluso se han reportado tasas de infección que alcanzan el 44,4% en animales de apenas 3-4 d de nacidos [27]. En becerros experimentalmente infectados, el período prepatente está en el rango de 3 a 6 d [14], mientras que en infecciones naturales se estima que fluctúe entre 3 a 12 d [1].

La presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* fue observada en una única colecta en el 22,7% (5/22), en dos, tres o cuatro colectas consecutivas en 18,2% (4/22); 27,3% (6/22) y 4,5% (1/22), respectivamente, o de manera intermitente en el 27,3% (6/22) de los bucerros. Además se constató que, cuando los animales excretaron ooquistes tempranamente (media: 7,9 d de edad), se incrementa el número de colectas que re-



**FIGURA 1. INCIDENCIA ACUMULADA DE LA INFECCIÓN POR *Cryptosporidium* spp. EN 25 BUCERROS (*Bubalus bubalis*) EVALUADOS DURANTE LOS TRES PRIMEROS MESES DE VIDA.**



sultan positivas (media: 2,6 colectas) en relación a los que comienzan a excretar más tarde (media: 29,7 d de edad) con una media de 1,4 colectas. Por lo tanto, en los bucerros que se infectaron tempranamente, entre 5 y 11 d de edad, mayor resultó el número de colectas positivas. Castro-Hermida y col. [8] encontraron correlación significativa entre el inicio de la excreción de ooquistes y la duración del período patente, por lo que consideran que éste será más prolongado cuanto más joven resulte el animal en el momento de adquirir la infección.

La mayor prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* spp. se apreció cuando los animales tenían edades comprendidas entre 8-14 y 15-21 d y correspondieron a la 2ª y 3ª colecta, con 36,0 y 32,0%, respectivamente. Luego el porcentaje declina a medida que aumenta la edad de los animales (TABLA I), debido posiblemente, a la inmunidad adquirida como resultado de una exposición previa al parásito, la cual induce resistencia a la infección, como ha sido demostrada en el ganado vacuno [19]. Sin embargo, no se observó una asociación significativa ( $P > 0,05$ ) entre la infección por *Cryptosporidium* spp. y la edad de los bucerros.

Algunos autores han referido variaciones en la susceptibilidad a la infección por *Cryptosporidium* spp. entre bucerros de diferentes grupos etarios, coincidiendo en señalar a los menores de un mes como los más susceptibles. El Khodery y col. [12] indican que, animales de 1-15 d de edad fueron los más afectados con 61,4%, en tanto que Nasir y col. [24] y Bhat y col. [5] registran la mayor prevalencia en menores de 30 d con 42 y 65,7%, respectivamente. Al respecto, en el presente estudio los mayores porcentajes de infección también se evidenciaron cuando los bucerros tenían menos de 30 d de edad, y aunque el porcentaje de positividad se redujo con el incremento de la edad de los animales, éstos continuaron excretando

ooquistes durante todo el período de estudio, no observándose asociación significativa entre la infección y la edad de los animales. Por el contrario, se ha señalado que la edad afecta significativamente la prevalencia, no registrándose excreción de ooquistes en bucerros entre 60-90 d de edad [12].

De los 22 bucerros que resultaron positivos con *Cryptosporidium* spp., 14 (63,6%) presentaron muestras fecales cuya intensidad de la infección, valorada semi-cuantitativamente, quedó incluida en las categoría 1 y solamente 2 (9%) presentaron algunas muestras en la 4, en edades  $\leq 15$  d (TABLA II).

En cuanto a la infección por *Giardia* spp., la excreción de quistes o trofozoítos se registró a partir de los 12 d de edad, con un período infectivo medio de 17,6 d. La incidencia acumulada muestra que el 12% (3/25) de los animales se infectaron en edades de 8-14 d, mientras que entre 15 a 21 d se presentó el mayor número de nuevos casos con 28% (7/25), y con 29-35 d de edad el 64% (16/25) resultó positivo (FIG. 2).

Así mismo, la infección por *Giardia* spp. fue más prevalente durante la 3ª y 4ª colecta cuando los bucerros tenían entre 15-21 y 22-28 d de edad, con 32% (8/25) y 24% (6/25), respectivamente, porcentajes que disminuyen según aumenta la edad de los animales. Se detectó asociación significativa ( $P < 0,05$ ) entre la edad y la infección por *Giardia* (TABLA I). Estos resultados indican que los animales jóvenes representan una importante fuente de infección para los hospedadores susceptibles, considerando que los quistes de *Giardia* spp. fueron observados en los bucerros a partir de los 12 d de edad y cerca del 50% hizo patente la infección antes de cumplir el mes. Además, entre los 15 a 21 d de edad se presenta el mayor número de casos nuevos coincidiendo con el pico de prevalencia. No se disponen de otros datos que aporten información sobre la evolución de la infección por *Giardia* en búfalos du-

TABLA I  
EVOLUCIÓN DE LA PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN CON *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. EN BUCERROS (*Bubalus bubalis*) DURANTE LOS TRES PRIMEROS MESES DE VIDA

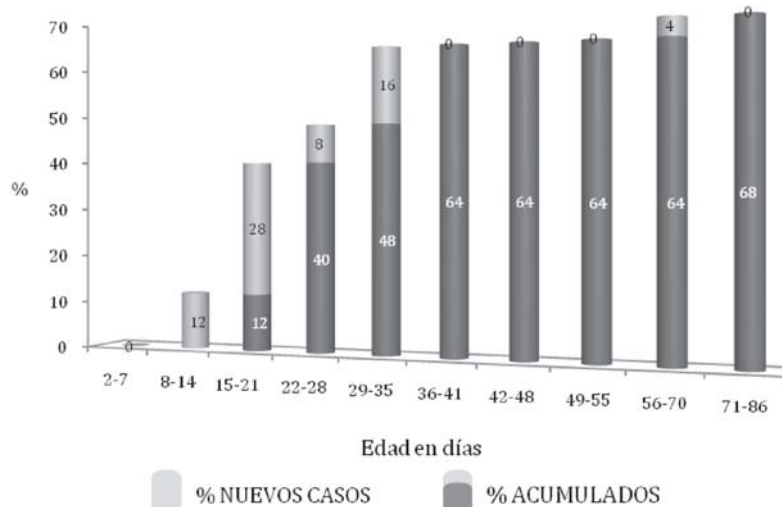
Colecta	Edad en días	Bucerros examinados	Bucerros positivos			
			<i>Cryptosporidium</i> spp.		<i>Giardia</i> spp.*	
			Nº	%	Nº	%
1	2-7	25	5	20	0	0
2	8-14	25	9	36	3	12
3	15-21	25	8	32	8	32
4	22-28	25	7	28	6	24
5	29-35	25	6	24	4	16
6	36-41	25	6	24	5	20
7	42-48	25	4	16	2	8
8	49-55	25	4	16	2	8
9	56-70	25	3	12	2	8
10	71-86	25	4	16	1	4

\* $P < 0,05$ .

**TABLA II**  
**PORCENTAJE DE MUESTRAS SEGÚN LA INTENSIDAD DE LA INFECCIÓN POR *Cryptosporidium* spp. Y *Giardia* spp. EN BUCERROS (*Bubalus bubalis*)**

Categoría (Ooquiste/Quiste)*	Muestras positivas			
	<i>Cryptosporidium</i> spp.		<i>Giardia</i> spp.	
	Nº	%	Nº	%
1 (≤ 1)	44	63,6	14	83,5
2 (2-5)	7	18,2	3	17,6
3 (6-10)	3	9,1	0	0
4 (>10)	2	9,1	0	0
Total	56		17	

\*Promedio en 50 campos microscópicos.



**FIGURA 2. INCIDENCIA ACUMULADA DE LA INFECCIÓN POR *Giardia* spp. EN 25 BUCERROS EVALUADOS (*Bubalus bubalis*) DURANTE LOS TRES PRIMEROS MESES DE VIDA.**

rante las primeras semanas de vida y, a diferencia de lo observado en el presente trabajo, en el ganado vacuno se ha documentado que la prevalencia incrementa a partir de 2 a 4 semanas de edad, manteniéndose los altos porcentajes de infección hasta las 7 a 10 semanas [25, 33, 37, 40] pudiendo persistir la excreción de quistes, en animales de 4 meses o más [25, 33, 40].

Los resultados del presente trabajo también señalan que los quistes de *Giardia* spp. se detectaron en una sola colecta en 41,2% (7/17), en dos, tres y cuatro colectas seguidas en 11,8% (2/17), 17,7% (3/17) y 5,9% (1/17), respectivamente, y en 29,4% (5/17) de los animales la excreción resultó intermitente. Del total de animales que quedaron positivos, la mayoría (83,5%) presentaron muestras cuya intensidad de la infección fue clasificada dentro de la categoría 1 (TABLA II), considerada la más leve.

El examen de la consistencia de las heces indica que, de las 250 muestras, 102 (40,8%) fueron clasificadas como diarreicas, de éstas 32,4% (33/102) presentaron ooquistes de

*Cryptosporidium* spp., en tanto que entre las muestras de consistencia normal, el parásito fue observado en 15,5% (23/148), mostrando una asociación altamente significativa entre infección con *Cryptosporidium* y la consistencia de las heces ( $P < 0,001$ ) (TABLA III). A su vez, 64,4% de las muestras que no presentaron ooquistes eran de consistencia normal (pastosas o formadas).

Diversos signos clínicos han sido descritos en la infección por *Cryptosporidium*, sin embargo la diarrea constituye la principal manifestación, siendo por lo general moderada e intermitente, pero en algunos casos llega a ser profusa y acuosa. A veces la diarrea está acompañada de fiebre, anorexia, deshidratación, debilidad y pérdida de peso [14, 20]. En becerros de rebaños lecheros se ha señalado que existe asociación significativa entre la infección por *Cryptosporidium* spp. y los cuadros de diarrea [10, 21, 25]. Los resultados del presente estudio corroboraron que la proporción de muestras positivas fue significativamente mayor ( $P \leq 0,001$ ) entre las clasificadas como diarreicas que entre las de consistencia normal, datos que están en consonancia con los reportados previamente en

**TABLA III**  
**RELACIÓN ENTRE PRESENCIA DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* spp. y QUISTES DE *Giardia* spp. Y DIARREA EN MUESTRAS FECALES OBTENIDAS EN DIEZ COLECTAS, DURANTE LOS TRES PRIMEROS MESES DE VIDA EN BUCERROS (*Bubalus bubalis*)**

Consistencia de las heces	Muestras examinadas	Muestras positivas			
		<i>Cryptosporidium</i> spp.*		<i>Giardia</i> spp.	
		Nº	%	Nº	%
Normales	148	23	15,5	18	12,2
Diarreicas	102	33	32,4	16	15,7
Total	250	56		34	

\* P < 0,001.

bucerros, en Egipto Medio [12], en Paquistán [24] y en un distrito de la India [5]. Adicionalmente, estos últimos autores constataron que los animales que excretaron ooquistes tenían mayor riesgo (1,906 veces) de manifestar diarrea que los animales no infectados.

En el presente estudio también se apreció una asociación significativa ( $P < 0,05$ ) entre el VCA y la infección por *Cryptosporidium* spp., con mayor proporción de muestras positivas (35%) en los bucerros que presentaron VCA inferior a < 34,3 con relación a los animales con VCA  $\geq 34,3$  (19,6%). Por el contrario, no hubo asociación significativa entre la infección por *Cryptosporidium* spp. y la TR y el GEC ( $P > 0,05$ ), resultados que concuerdan con los reportados por El Khodery y col. [12], quienes no registraron asociación entre la infección y presencia de fiebre y deshidratación.

Por otro lado, quistes o trofozoítos de *Giardia* spp. fueron vistos en 15,7% (16/102) de las muestras que resultaron clasificadas como diarreicas y en 12,2% (18/130) incluidas en consistencia normal, no observándose asociación significativa entre la infección por *Giardia* spp. y la consistencia de las heces ( $P > 0,05$ ) (TABLA III). Por el contrario, se ha reportado que búfalos con heces de consistencia anormal tenían una prevalencia significativamente mayor ( $P < 0,01$ ) que aquellos con heces normales [18].

En el presente trabajo no se observó asociación significativa entre la infección por *Giardia* spp. y el valor de VCA, la TR y el GEC ( $P > 0,05$ ). La infección por *G. duodenalis* en ruminantes es a menudo asintomática, sin embargo, en becerros se ha señalado que puede estar asociada con la aparición de diarrea [16, 25]. Si bien, todavía no está claramente definido si el parásito es un patógeno primario en animales de producción, se ha documentado la manifestación de signos clínicos causados por *Giardia*, tanto en infecciones naturales como en condiciones experimentales [16, 25].

Futuros estudios serán necesarios para evaluar el impacto que las infecciones por *Giardia* y *Cryptosporidium* tienen en la salud y producción animal y en particular los efectos de las infecciones subclínicas. Así mismo, sería conveniente llevar a cabo estudios adicionales de prevalencia de estas para-

sitosis en la población bufalina y los factores de riesgo para estimar el alcance de las infecciones que permitan desarrollar medidas de control para limitar la posibilidad de contaminación ambiental. El uso de técnicas moleculares para determinar especies y genotipos de *Giardia* y *Cryptosporidium* que circulan en estos animales, ayudaría a mejorar la comprensión del cuadro epidemiológico de estos parásitos.

## CONCLUSIONES

Los hallazgos del presente estudio mostraron que *Cryptosporidium* spp. y *Giardia* spp. fueron altamente prevalentes en los búfalos de agua y sugieren la importancia del *Cryptosporidium* como causa de diarrea durante los primeros meses de vida de los bucerros, datos que representan un importante punto de partida para proseguir estudios dirigidos a la caracterización genética de los aislados, a fin de mejorar la comprensión acerca del rango de hospedador, vías de transmisión y el potencial zoonótico de estos protozoos parásitos.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Unidad de Producción Centro Socialista Primario Jirajara, de Sabana Grande de Monay, Edo. Trujillo, por el apoyo brindado para la ejecución de este trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANDERSON, B.C. Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 78:982-984. 1981.
- [2] ARAUJO, F.A.P.; PAIVA, M.D.G.S.; ANTUNES, R.L.; CHAPLIN, E.E.; SILVA, N.R.S. Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium muris* in buffalos (*Bubalus bubalis*) at Amapá state. Brazil. **Arq. Fac. Vet. UFRG.** 24: 85-90. 1996.
- [3] AYAZ, S.; ULLAH, M.; ULLAH-KHAN, F.; BIBI, A.; NOREEN, S.; RAHIM, H.; AKHTAR, M. Epidemiological

- Studies and Molecular Diagnosis of Giardiasis in Bovine. **Pak. J. life Soc. Sci.** 8(2):148-155. 2010.
- [4] 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. **Vet. Parasitol.** 123: 1-9. 2004.
- [5] BHAT, S.A.; JUYAL, P.D.; SINGLA, L.D. Prevalence of Cryptosporidiosis in Neonatal Buffalo Calves in Ludhiana District of Punjab, India. **Asian J. Anim. and Vet. Adv.** 7: 512-520. 2012.
- [6] CACCIÒ, S.M.; RINALDI, L.; CRINGOLI, G.; CONDOLEO, R.; POZIO, E. Molecular identification of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in the Italian water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Vet. Parasitol.** 150:146-149. 2007.
- [7] CANESTRI-TROTTI, G.; QUESADA, A. Primo reperto di *Cryptosporidium* sp. in bufali italiani (*Bubalus bubalis*). **Atti. Soc. Ital. Sci. Vet.** 3: 737. 1983.
- [8] CASTRO-HERMIDA, J.A.; GONZÁLEZ-LOSADA, Y.A.; MEZO-MENÉNDEZ, M.; ARES-MAZÁS, E. A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. **Vet. Parasitol.** 106:11-17. 2002.
- [9] CONDOLEO, R.U.; RINALDI, L.; SARALLI, G.; MORGOLIGLIONE, M.E.; SCHIOPPI, M.; CONDOLEO, R.; MUSELLA, V.; CRINGOLI, G. An updating on *Cryptosporidium parvum* in the water buffalo. **Ital. J. Anim. Sci.** 6 (Suppl. 2): 917-919. 2007.
- [10] DÍAZ DE R., A.; RAMÍREZ-IGLESIA, L.N.; MORILLO, J.G.; BARRETO, A.J. Infección con *Cryptosporidium* sp. y su asociación con diarrea en becerros de ganadería de doble propósito. **Zoot. Trop.** 25(1):29-36. 2007.
- [11] DUBEY, J.P.; FAYER, R.; RAO, J.R. Cryptosporidial oocysts in faeces of water buffalo and zebu cattle in India. **J. Vet. Parasitol.** 6: 55-56. 1992.
- [12] EL-KHODERY, S.A.; OSMAN, S.A. Cryptosporidiosis in buffalo calves (*Bubalus bubalis*): Prevalence and potential risk factors. **Trop. Anim. Health Prod.** 40:419-426. 2008.
- [13] EWEL, J.J., MADRIZ, A.; TOSI Jr., J.A. **Zonas de Vida de Venezuela. Memoria Explicativa Sobre el Mapa Ecológico.** Ediciones del Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Editorial Sucre. Caracas. Pp 76-88. 1976.
- [14] FAYER, R.; SPEER, C.A.; DUBEY, J.P. The general biology of *Cryptosporidium*. In: Fayer R. (Ed.) **Cryptosporidium and Cryptosporidiosis.** CRC Press, Boca Raton, USA, Pp 1-41. 1997.
- [15] FAYER, R.; GASBARRE, L.; PASCUALI, P.; CANALS, A.; ALMERIA, S.; ZARLEGA, D. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patters. **J. Parasitol.** 28 (1): 49-56. 1998.
- [16] GEURDEN, T.; CLAEREBOU, E.; DURSIN, L.; DEFLANDRE, A.; BERNAY, F.; KALTSATOS, V.; VERCRUYSSSE, J. The efficacy of an oral treatment with paromomycin against an experimental infection with *Giardia* in calves. **Vet. Parasitol.** 135:241-247. 2006.
- [17] GÓMEZ-COUSO, H.; AMAR, C.F.L.; MCLAUCHLIN, J.; ARES-MAZÁS, 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.** 131:139-144. 2005.
- [18] GORAYA, K.; SAEED, K.; HASHMI, H.A.; KHAN, M.S.; HUSSAIN, M.H. Prevalence and Shedding Intensity of Giardiasis in Naturally Infected Buffaloes. **Int. J. Agr. Biol.** 6 (3):471-473. 2004.
- [19] HARP, J. A.; WOODMANSEE, D.B.; MOON, H.W. Resistance of calves to *Cryptosporidium parvum*: effects of age and previous exposure. **Infect. Immun.** 58 (7): 2237-2240. 1990.
- [20] HEINE, J.; POHLENZ, J.F.L.; MOON, H.W.; WOODE, G.N. Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. **J. Infect. Dis.** 150:768-775. 1984.
- [21] HUETINK, R.E.; VAN DER GIESSEN, J.W.; NOORDHUIZEN, J.P.; PLOEGER, H.W. Epidemiology of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. **Vet. Parasitol.** 102:53-67. 2001.
- [22] ISKANDER, A.R.; TAWFEEK, A.; FARID, A.F. Cryptosporidial infection among buffalo calves in Egypt. **Indian J. Anim. Sci.** 57: 1057-1059. 1987.
- [23] MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES. Dirección de Hidrología y Meteorología. SINAIHME. Estación Sabana Grande, Estado Trujillo. 2000-2010.
- [24] NASIR, A.; AVAIS, M.; KHAN, M.S.; AHMAD, N. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Lahore (Pakistan) and its association with diarrhea in dairy calves. **Int. J. Agric. Biol.** 11: 221-224. 2009.
- [25] O'HANDLEY, R.M.; COCKWILL, C.; MCALLISTER, T.A.; JELINSKI, M.; MORCK, D.W.; OLSON, M.E. Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. **JAVMA.** 214 (3): 391-396. 1999.
- [26] OLSON, M.E.; O'HANDLEY, R.M.; RALSTON, B.J.; MCALLISTER, T.A.; THOMPSON, R.C.A. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. **Trends in Parasitol.** 20 (4 ) 185-191. 2004.
- [27] QUÍLEZ, J.; SANCHEZ-ACEDO, C.; DEL CACHO, E.; CLAVEL, A.; CAUSAPE; A.C. Prevalence of *Cryptosporidium*



- ridium* and *Giardia* infection in cattle in Aragón (north-eastern Spain). **Vet. Parasitol.** 66:139-146. 1996.
- [28] RALSTON, B.J.; MCALLISTER, T.A.; OLSON, M.E. Prevalence and infection pattern of naturally acquired Giardiasis and Cryptosporidiosis in range beef calves and their dams. **Vet. Parasitol.** 114:113-122. 2003.
- [29] RINALDI, L.; CONDOLEO, R.U.; CONDOLEO, R.; SARALLI, G.; BRUNI, G.; CRINGOLI, G. *Cryptosporidium* and *Giardia* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) of the Italian Mediterranean bred. **Vet. Res. Comm.** 31(Suppl. 1): 253-255. 2007a.
- [30] RINALDI, L.; MUSELLA, V.; CONDOLEO, R.U.; SARALLI, G.; BRUNI, G.; MAURELLI, M.P.; CRINGOLI, G. First studies on *Giardia duodenalis* in the water buffalo. **Ital. J. Anim. Sci.** 6 (Suppl. 2): 923-925. 2007b.
- [31] RODRÍGUEZ-DIEGO, J.; ABREU, J.R.; PÉREZ, E.; ROQUE, E.; CARTAS, O. Presencia de *Cryptosporidium* sp. en búfalos (*Bubalus bubalis*) en Cuba. **Rev. Salud Anim.** 13, 78-80. 1991.
- [32] RUEST, N.; COUTURE, Y.; FAUBERT, G.M.; GIRARD, C. Morphological changes in the jejunum of calves naturally infected with *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. **Vet. Parasitol.** 69 (Issues 3-4): 177-186. 1997.
- [33] SANTÍN, M.; TROUT, J.M.; FAYER, R. A longitudinal study of *Giardia duodenalis* genotypes in dairy cows from birth to 2 years of age. **Vet. Parasitol.** 162:40-45. 2009.
- [34] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). User's Guide Statistics, Cary, North Caroline (version 9.0). 2002.
- [35] SURUMAY-VÍLCHEZ, Q.; SANDOVAL, Y. *Cryptosporidium parvum* en búfalos de una finca del municipio Mara, estado Zulia-Venezuela. **Vet. Trop.** 25(2):285-290. 2000.
- [36] THOMPSON, R.C.A.; PALMER, C.S.; O'HANDLEY, R. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. **Vet. J.** 177 (Issue 1) 18-25. 2008.
- [37] TROUT, J.M.; SANTIN, M.; GREINER, E.; FAYER, R. Prevalence of *Giardia duodenalis* genotypes in pre-weaned dairy calves. **Vet. Parasitol.** 124: 179-186. 2004.
- [38] TZIPORI, S.; SMITH, M.; HALPIN, C.; ANGUS, K.W.; SHERWOOD, D.; CAMPBELL, I. Experimental Cryptosporidiosis in calves: clinical manifestations and pathological findings. **Vet. Rec.** 112:116-20. 1983.
- [39] VALERA, Z.; QUINTERO, W.; VILLARROEL, R.; HERNÁNDEZ, E. *Cryptosporidium* spp. en becerros neonatos de una finca del municipio Rosario de Perijá, estado Zulia, Venezuela. **Rev. Cientif. FCV-LUZ** XI(3): 213-218. 2001.
- [40] XIAO, L.; HERD, R.P. Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. **Vet. Parasitol.** 55:257-262. 1994.
- [41] XIAO, L.; FAYER, R. Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. **Int. J. Parasitol.** 38:1239-1255. 2008.