

EXCRECIÓN DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* spp. DURANTE EL POSTPARTO, EN VACAS MESTIZAS DE DOBLE PROPÓSITO

(Excretion of *Cryptosporidium* spp. oocysts during post-parturient, in crossbred cows of dual-purpose)

¹Díaz de Ramírez, Adelina; ¹Ramírez-Iglesia, Lilido Nelson; ²Godoy de Plaza, Reina Magaly y ³Román Rafael.

¹Universidad de Los Andes-Trujillo. ²Escuela de Bioanálisis-Universidad de Los Andes.

³Facultad de Ciencias Veterinarias, La Universidad del Zulia. e-mail: adediazra@yahoo.com

RESUMEN

En vacas de una finca de ganadería de doble propósito ubicada en el estado Trujillo (Venezuela) se determinó la presencia y niveles de excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. durante el postparto. Muestras fecales de 35 vacas mestizas (*Bos taurus* x *Bos indicus*) fueron colectadas 24 horas y 30 días postparto y procesadas por el método de centrifugo-flotación con solución de NaCl asociado con la técnica de coloración de Kinyoun modificada. Los resultados muestran que el 57 % de las vacas excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Estudios morfométricos de ooquistes aislados de tres muestras de bovinos revelaron tamaños de $5,05 \pm 0,51$ mm x $4,51 \pm 0,46$ mm; $4,98 \pm 0,72$ mm x $4,42 \pm 0,47$ mm y $7,43 \pm 0,51$ mm x $6,18 \pm 0,25$ mm, observándose diferencias significativas entre las dos primeras con respecto a la tercera, mientras que los índices de la forma (largo/ancho) fueron de $1,12 \pm 0,10$ mm, $1,13 \pm 0,14$ mm y $1,20 \pm 0,09$ mm respectivamente. Adicionalmente, el 81% de las muestras positivas mostraron una media de 445 ooquistes por gramo de heces (opg) mientras que en el 19% restante, el promedio fue de 12.000 opg. Por lo tanto, se estima que estos bovinos adultos pueden desempeñar un importante rol como fuente de infección de *Cryptosporidium* spp.

Palabras clave: Vacas, postparto, *Cryptosporidium* sp.

ABSTRACT

The presence and excretion level of *Cryptosporidium* spp. oocysts in post-parturient cows in a dual-purpose farm located at Trujillo state (Venezuela) were determined. Fecal samples of 35 crossbred cows (*Bos Taurus* x *Bos indicus*) were collected 24 hours and 30 days post-partum and processed through centrifugation-flotation method in solution of NaCl associated with modified Kinyoun stain technique. The results show 57% of cows shedding *Cryptosporidium* spp. oocysts. Morphometric studies of oocysts isolated from three samples of bovine revealed sizes of 5.05 ± 0.51 mm x 4.51 ± 0.46 mm, 4.98 ± 0.72 mm x 4.42 ± 0.47 mm and 7.43 ± 0.51 mm x 6.18 ± 0.25 mm, showing significant differences between the first two samples in relation to the third one, whereas the shape index (length / width) were 1.12 ± 0.10 mm 1.13 ± 0.14 mm and 1.20 ± 0.09 mm, respectively.

Additionally, 81% of positive samples exhibited a mean of 445 oocysts per gram of feces (opg) while the remaining 19 % had an average of 12,000 opg. Therefore, it is argued that such older cattle can become an important source of infection of *Cryptosporidium* spp.

Key words: Cows, post-parturient, *Cryptosporidium* sp.

INTRODUCCIÓN

La Cryptosporidiosis es una enfermedad emergente ocasionada por protozoarios del género *Cryptosporidium* que afectan a un amplio espectro de vertebrados y presentan una gran capacidad para reproducirse y diseminarse. En el ganado bovino, fueron reconocidas dos especies de este género: *Cryptosporidium parvum* Tyzzer, 1912 y *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (sin. *C. muris* tipo bovino) [9]. La primera, coloniza el intestino delgado y constituye un importante agente etiológico del síndrome diarreico de los becerros [11]. En los bovinos adultos también ha sido reportada esta especie, en los que generalmente cursa de forma subclínica y presenta bajos niveles de infección [7]. No obstante, en ocasiones se han señalado altas prevalencias [10] y excreción de hasta $1,8 \times 10^4$ ooquistes por gramo de heces [12].

La otra especie, se desarrolla en el abomaso, es más común en bovinos adultos y aunque presenta amplia distribución, su prevalencia es baja. Aparentemente no causa enfermedad manifiesta, pero la producción de leche se ha visto significativamente reducida en las vacas afectadas [5].

En Venezuela la investigación relacionada con cryptosporidiosis en los bovinos es incipiente, sin embargo, la presencia de *Cryptosporium* sp. ya ha sido reportada en becerros de explotaciones ganaderas de los estados Falcón, Monagas y Zulia [2,13,14].

Considerando que existen pocos datos referentes a la cryptosporidiosis bovina en vacas postparto y que estos animales pueden desempeñar un rol importante como fuente de infección para los becerros neonatos, así como en la contaminación ambiental, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia y los niveles de excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en dichos animales.

MATERIALES Y MÉTODOS

En una tinca de ganadería de doble propósito ubicada en el estado Trujillo (Venezuela) localizada en un área de bosque húmedo tropical, entre 9° 25' latitud norte y 70° 50' longitud oeste, con precipitaciones que oscilan entre 2.000 y 2.500 mm al año y temperaturas anuales de 26 a 29 °C, se estudiaron 35 vacas mestizas (*Bos taurus x Bos indicus*) aparentemente sanas. Las muestras fecales fueron colectadas del recto a las 24 horas y a los 30 días postparto, transportadas bajo refrigeración y procesadas de inmediato por la técnica de centrifugo-flotación en una solución de cloruro de sodio con gravedad específica de 1.210 [8]. De cada muestra de heces, se procesó en paralelo, dos porciones de 3g. cada una, previo tratamiento con peróxido de hidrógeno para incrementar la posibilidad de detección de ooquistes [4]. Una vez concentrados, estos fueron resuspendidos en 300 ml de agua destilada, depositándose en láminas portaobjetos alícuotas de 50 y 10 ml sobre áreas de 1 cm. y 5 mm. de diámetro respectivamente, la primera para la detección y la segunda para el conteo de ooquistes. Las preparaciones fueron coloreadas con la técnica de Kinyoun modificada [3] y examinadas en microscopio óptico, bajo el objetivo de inmersión 100X. Para el cálculo del número de ooquistes por gramo de heces (opg), se consideró el promedio de dos Lecturas.

Se realizaron estudios morfométricos en ooquistes de *Cryptosporidium* sp. aislados de tres muestras de vacas con edades de 5, 7 y 8 años. El largo, ancho e índice de la forma (largo / ancho) de los ooquistes de cada muestra, se compararon usando ANOVA no paramétrico de Kruskal-Wallis. Las diferencias individuales se determinaron por múltiple comparación de rangos de media y los valores fueron considerados diferentes a un nivel de significancia ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

57% (20/35) de las vacas excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp., al menos en una ocasión, con una media de 2.798 opg. Durante la 1 y 2 colecta, las prevalencias fueron de 29% (10/35) y de 46% (16/35) respectivamente.

En vacas periparturientas, Atwiil y col. [1] no detectaron ooquistes de *C. parvum*, mientras que Faubert y Litvinsky consideran que los neonatos adquieren la infección con este protozoo poco tiempo después de su nacimiento como consecuencia de la eliminación fecal de ooquistes por vacas periparturientas, especialmente durante el periodo de parto [6]. Como los resultados de este trabajo indican que una alta proporción de las vacas al postparto, excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp., no se desestima el rol que dichos animales pueden desempeñar en la epidemiología de la cryptosporidiosis en becerros neonatos.

En la TABLA I se aprecian las dimensiones medias de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. aislados de las tres muestras de bovinos (A1, A2 y A3). No se observaron diferencias significativas entre los valores morfométricos de los ooquistes aislados de dos de las muestras estudiadas (A1 y A2), sin embargo, estos fueron significativamente diferentes ($P < 0,05$) a los de la muestra A3, con la excepción del índice de la forma (ancho / largo) la cual difirió sólo entre A2 y A3. Estos resultados sugieren que se puede estar en presencia de ooquistes de *C. parvum* y *C. andersoni*, no obstante, futuros estudios de transmisión experimental y análisis moleculares podrían aportar datos más específicos.

TABLE I
CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS DE OOQUISTES DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. AISLADOS DESDE TRES MUESTRAS FECALES DE BOVINOS ADULTOS

Características de los ooquistes	Ooquistes de <i>Griptosporidium</i> sp.		
	A1	A2	A3
Largo X ± DE	5,05 ± 0,51 ^a	4,98 ± 0,72 ^a	7,43 ± 0,51 ^b
Mínimo-Máximo	4,00 - 6,0	4,0 - 6,0	6,5 - 8,0
Ancho X ± DE	4,51 ± 0,46 ^a	4,42 ± 0,47 ^a	6,18 ± 0,25 ^b
Mínimo-Máximo	4,0 - 5,0	4,0 - 5,0	6,0 - 6,5
Índice de La forma*	1,12 ± 0,10 ^a	1,13 ± 0,14 ^a	1,20 ± 0,09 ^{a(1)}
Mínimo	1,0 - 1,25	1,0 - 1,45	1,0 - 1,33
N	15	17	14

X ± DE: Media, Desviación Estándar; *(Largo / Ancho); N: Número de ooquistes examinados,

^{ab}Letras diferentes en la misma línea difieren ($P < 0,05$) 1: diferente de A2

A1, A2, A3 = Aislados

En vacas aparentemente sanas se han reportado entre 25 a $1,8 \times 10^4$ opg, con un media de 900 opg de *C. parvum* [10]. En este trabajo, el 81% (21/26) de las muestras positivas presentaron bajos niveles de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. (media = 445 opg.); mientras que el 19% (5/26) alcanzó un promedio de 12.600 opg. Tomando sólo en consideración, el recuento medio de 445 opg observado en la mayoría de las muestras positivas y una producción media de 30 Kg / día de heces por vaca, se estima que estas pueden, potencialmente, excretar más 13 millones de ooquistes por día. Dichos cálculos, aunque conservadores, indican que estos bovinos durante el postparto, pueden desempeñar un rol importante como fuente de infección de *Cryptosporidium* spp.

CONCLUSIONES

En un alto porcentaje de las vacas de la población estudiada, se observó la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. y aunque, en su mayoría los recuentos fueron bajos, no se desestima el potencial de riesgo que estos animales representan para el resto del rebaño.

Considerando que existen diferencias morfológicas entre los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. aislados desde animales distintos, sería importante realizar estudios moleculares y de transmisión experimental con el fin de aportar datos más precisos para la identificación de las especies que circulan en los bovinos de la región estudiada.

AGRADECIMIENTO

A la Agropecuaria Santa Teresa, C. A. por el apoyo brindado por la revisión del texto en inglés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] 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.
- [2] CHIRINOS, Y.; CASTEJON, 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.
- [3] Diagnostic Procedures. Diagnostic Procedures for Stool Specimens. <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Frames/DiagnosticProcedures/bodydpstoolstainin...> Consultada el 06/ 04/ 2001
- [4] ENTRALA, E.; RUEDA-RUBIO, M.; JANSSEN, D.; MASCARO, O. Influence of hydrogen peroxide on acidfast staining of *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Int. J. Parasitol** 25:1473-1477, 1995.
- [5] ESTEBAN, E.; ANDERSON, B.C. *Cryptosporidium muris*: prevalence, persistency, and detrimental effect on milk production in a drylot dairy. **J. Dairy Sci.** 78. 1068-1072. 1995.
- [6] FAUBERT, G.M.; LITVINSKY, Y. Natural transmission of cryptosporidium parvum between dams and calves on a dairy farm. **J. Parasitol.** 86:495-500. 2000.
- [7] FAYER, R.; TROUT J. M.; GRACZYK I. 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.
- [8] KUCZYNSKA, E.; SHELTON, D. Method for detection and enumeration of Cryptosporidium parvum oocysts in feces, manures and soils. **Appl. Environ. Microbiol.** 65:2820-2826, 1999.
- [9] 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.
- [10] LORENZO, M. J.; ARES-MAZAS, E.; VILLACORTA, I. Detection of oocysts and IgG antibodies to *Cryptosporidium parvum* in asymptomatic adult cattle. **Vet. Parasitol.** 47: 9-15. 1993.
- [11] 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. **Ver. Parasitol.** 85:245-257. 1999.
- [12] SCOTT, C.A; SMITH, H. y.; GIBBS, H. A. Excretion of *Cryptosporidium parvum* oocysts by a herd of beef suckler cows. **Vet. Rec.** 134: 172. 1994
- [13] SURUMAY, O.; ALFARO, C. Cryptosporidium spp. en bovinos jóvenes de fincas de la región oriental de Venezuela. **IV Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias. VII Congreso Nacional SOVVEC.** Mayo 17-21, Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. 222pp. 1999..
- [14] VALERA, Z.; QUINTERO, W.; VILLARROEL. R.; HERNANDEZ, E. Cryptosporidium sp. en becerros neonatos de una finca del Municipio Rosario de Perijá, estado Zulia, Venezuela. **Revista Científica, FCV-LUZ** 11:213-216. 2001.