

Trabajo de Revisión

Situación epidemiológica de la criptosporidiosis bovina en Argentina

Epidemiological situation of bovine cryptosporidiosis in Argentina

Paloma de Alba^{1,2}, Mónica Florin-Christensen^{1,2,3}, Leonhard Schnittger^{1,2,3}

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ²Instituto de Patobiología Veterinaria, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). ³Escuela Superior de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Morón (UM).

Manuscrito recibido: 02 de abril de 2021; aceptado para publicación: 10 de junio de 2021

Autor de contacto: Dr. Leonhard Schnittger.

Instituto de Patobiología Veterinaria, CICVyA, INTA, 1686 Hurlingham, Pcia. de Buenos Aires, Argentina.

E-mail: schnittger.leonhard@inta.gob.ar

Resumen

La criptosporidiosis en terneros neonatos es causada por protozoos enteroparásitos del género *Cryptosporidium*. Es una afección caracterizada por cuadros de diarrea y deshidratación, dando lugar a una reducción en la producción y a las subsecuentes pérdidas económicas a productores ganaderos alrededor del mundo. La criptosporidiosis es además considerada una enfermedad zoonótica de relevancia para la salud pública ya que la ingesta de ooquistes puede ser fatal para niños, ancianos y personas inmunocomprometidas. El objetivo de este trabajo de revisión es estudiar la epidemiología de las infecciones producidas por *Cryptosporidium* spp. en bovinos y los factores de riesgo asociados utilizando la literatura disponible para determinar la situación en Argentina. Se determinó que la prevalencia de la infección para terneros entre 1 a 60 días de edad es variable y ronda entre 16,3 y 25,5 %. Notablemente, en un brote se encontró que 84 % de los animales estaban infectados. Estudios moleculares determinaron que *C. parvum* fue la única especie encontrada en terneros menores a 60 días en Argentina y se identificaron nueve subtipos diferentes pertenecientes a la familia Ila, incluyendo los subtipos zoonóticos IlaA16G1R1, IlaA17G1R1, IlaA18G1R1 y IlaA19G1R1. Se encontró también el subtipo IlaA24G1R1 como un nuevo subtipo reportado únicamente en Argentina hasta el presente. Estudios realizados en el país determinaron que la edad, la presencia de diarrea y los suelos pobremente drenados son factores de riesgo asociados a la infección por *Cryptosporidium* spp. Este análisis reúne información que servirá para una mayor comprensión de las características epidemiológicas y factores de riesgo, ayudando a la prevención y desarrollo de estrategias de control para la criptosporidiosis bovina.

Palabras clave: *Cryptosporidium parvum*, terneros, prevalencia, epidemiología, factores de riesgo, Argentina.

Abstract

Cryptosporidiosis in neonatal calves is caused by enteroparasites of the genus Cryptosporidium. This infectious disease is characterized by diarrhea and dehydration, leading to a reduction in production, causing economic losses in meat and

dairy farming around the world. In addition, cryptosporidiosis is considered a zoonotic disease of relevance to public health since the ingestion of oocysts can be fatal for children, the elderly and immunocompromised people. The objective of this review is to determine the situation of the epidemiology of *C. parvum*-infections in cattle and associated risk factors in Argentina, based on the literature of recent studies. The prevalence of infection for calves between 1 to 60 days of age was determined to range between 16.3 and 25.5 %. Noteworthy, in a single outbreak, 84 % of calves were found to be infected. Molecular studies determined that *C. parvum* was the only species found in calves younger than 60 days of age in Argentina and altogether nine subtypes of the Ila family were identified, including the zoonotic subtypes IlaA16G1R1, IlaA17G1R1, IlaA18G1R1 and IlaA19G1R1. Among them, the IlaA24G1R1 subtype has been exclusively reported in this country so far. Studies carried out in Argentina determined that age, occurrence of diarrhea and poorly drained soils are risk factors associated with infection by *Cryptosporidium* spp. This analysis gathers information that will aid to understand the epidemiological characteristics and risk factors, facilitating the prevention and development of control strategies for bovine cryptosporidiosis.

Key words: *Cryptosporidium parvum*, calves, prevalence, epidemiology, risk factors, Argentina.

DOI: <http://doi.org/10.34073/267>

Introducción

La diarrea infecciosa de terneros neonatales causada por enteropatógenos, constituye una preocupación constante para los sistemas productivos de carne y leche del sector ganadero en todo el mundo (Foster & Smith, 2009; Tomazic *et al.*, 2018). No existen métodos de prevención y tratamiento eficaces y los costos relacionados al cuidado de los animales afectados son altos. La diarrea lleva a un estado de deshidratación que da lugar a una disminución en la tasa de crecimiento. Además, el desenlace puede ser fatal, habiéndose reportado tasas de mortalidad en terneros menores a 8 semanas de edad del 57,0% y 52,2 % en Estados Unidos y Corea del Sur, respectivamente (Sanford & Josephson, 1982; USDA, 2008; Foster & Smith, 2009; Hur *et al.*, 2013). Existen diferentes patógenos causantes de diarrea neonatal bovina: los virus rotavirus y coronavirus, las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. y el protozoo *Cryptosporidium* spp. (Foster & Smith, 2009; Tomazic *et al.*, 2018). Entre éstos, el agente más frecuentemente detectado es *Cryptosporidium* spp., pudiendo llegar hasta porcentajes de detección tan altos como 85 % en rodeos lecheros (Pinto de Almeida Castro *et al.*, 2009; Modini *et al.*, 2010). Dentro del phylum Apicomplexa se encuentran los protozoos parásitos del género *Cryptosporidium*, los cuales infectan a

anfibios, reptiles, aves, peces y mamíferos (Fayer, 2010). En el ganado bovino, existen cuatro especies detectadas con mayor frecuencia: *C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* y *C. andersoni*, (Xiao & Feng, 2008; Xiao, 2010; Tomazic *et al.*, 2018). Dentro de estas especies, la considerada principalmente patógena para terneros es *C. parvum* (Amer *et al.*, 2013; Tomazic *et al.*, 2018). Además, diversos autores han detectado a *C. parvum* como el patógeno ubicuo más común en casos de diarrea neonatal (Nydham *et al.*, 2001; Tomazic *et al.*, 2013; Del Coco *et al.*, 2014; Cho & Yoon, 2014; Lombardelli *et al.*, 2019; Garro *et al.*, 2021). Las infecciones se caracterizan por presentar diferentes grados de diarrea, anorexia y dolor abdominal, y pueden llevar a la muerte (Fayer & Xiao, 2008). *C. parvum* puede además infectar al hombre, y ha causado importantes brotes de criptosporidiosis humana asociados al consumo de agua contaminada en países desarrollados, afectando especialmente a pacientes inmunosuprimidos y niños (Xiao & Feng, 2008).

Los parásitos del género *Cryptosporidium* poseen un ciclo de vida monóxénico, es decir, requieren de un solo huésped. El animal infectado excreta al ambiente ooquistes esporulados con sus heces. La transmisión a un nuevo huésped ocurre por la vía fecal-oral, ya sea por contacto directo con heces infectadas o indirectamente al consumir agua o ali-

mentos contaminados con ooquistes. Luego de la ingestión por el huésped, los ooquistes se exquistan e invaden las células del tracto gastrointestinal donde sufren reproducción asexual y sexual, y dan lugar a la formación de dos tipos de ooquistes de pared fina y de pared gruesa. Los primeros liberan esporozoitos que infectan nuevas células intestinales y los segundos son liberados al ambiente con las heces (Fayer & Xiao, 2008; Bouzid *et al.*, 2013; Tomazic *et al.*, 2018).

La evolución ha llevado a que la colonización del huésped y la diseminación de estos parásitos sea altamente eficiente. Por un lado, los ciclos sucesivos de multiplicación en el huésped resultan en una enorme carga parasitaria en su tracto digestivo, asegurando una excreción eficiente de ooquistes que se diseminan en el ambiente. Así, se ha reportado que un solo ternero excreta hasta 600 millones de ooquistes por día (Zambriski *et al.*, 2013). Por otra parte, la gruesa pared de los ooquistes les permite resistir una amplia variedad de condiciones ambientales, e incluso a muchos desinfectantes. Finalmente, la dosis infectiva es muy baja, habiéndose reportado que con la ingestión de sólo 17 ooquistes puede establecerse la infección de un ternero (Nydham *et al.*, 2001). Estas características aseguran la supervivencia del parásito y la compleción de su ciclo de vida y resultan, además, en la contaminación masiva del ambiente con ooquistes, especialmente en las cercanías de establecimientos de producción ganadera (Fayer & Xiao, 2008; Wyatt *et al.*, 2010).

Para determinar la especie infectante de *Cryptosporidium* spp. se utilizan métodos moleculares, entre estos, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) la que permite obtener un gran número de copias de una secuencia específica a partir de una muestra pequeña de ADN. Actualmente, la subunidad menor del gen ribosomal 18S (18S ARNr) es el locus más utilizado por los investigadores para detectar y diferenciar las especies de *Cryptosporidium* (Santin, 2020; Xiao, 2010). En particular, se utiliza una variante de la técnica de PCR denominada PCR-RFLP, en la cual, luego de la amplificación del gen 18S ARNr por PCR, se emplean enzimas de restricción que lo cortarán en lugares específicos para dar lugar a un patrón de bandas característico y, a partir de estas, se podrá identificar a la especie de *Cryptosporidium* infectante (Xiao, 2010; Maidana *et al.*, 2014). Por otra parte, en el caso de la especie *C. parvum*, la subtipificación

es cada vez más utilizada para estudios epidemiológicos. Este tipo de métodos ha sido de gran ayuda para el estudio de transmisión, infección y búsqueda de fuentes de contaminación en el caso de criptosporidiosis endémicas. La herramienta más comúnmente utilizada para la subtipificación de *C. parvum* está basada en la amplificación por PCR del gen que codifica a la glicoproteína de 60 kDa (GP60). Luego de la amplificación del gen *gp60*, se realiza su secuenciación y, a partir de estas secuencias un alineamiento con alelos de referencia correspondientes a las familias IIa, IIb, IIc, IId, IIe y II f (Fayer & Xiao, 2008; Xiao, 2010; Maidana *et al.*, 2014). Después, mediante un análisis filogenético se puede confirmar la familia a la cual pertenece el alelo del gen *gp60* en estudio (Maidana *et al.*, 2014). Además, este gen contiene una repetición en tándem compuesta de las secuencias trinucleotídicas TCA, TCG o TCT, y la variación en el número de estas repeticiones sirve para determinar el subtipo de una familia, lo que permite a su vez identificar y diferenciar las cepas circulantes de *C. parvum*. Entonces, los subtipos se designan por la familia a la que pertenecen (por ejemplo IIa o IIb) seguido por el número de repeticiones del trinucleótido (por ejemplo 20 veces TCA y 2 veces TCG se designa A20G2). La familia IIa, se caracteriza por tener una o dos copias de la secuencia ACATCA luego de la repetición del trinucleótido y esto se representa por R1 o R2 (Xiao, 2010). Es de importancia determinar el subtipo de *C. parvum* ya que se ha establecido que algunos de ellos están asociados a zoonosis, como algunos subtipos de la familia IIa e IId (Fayer & Xiao, 2008). Por ello, analizar la epidemiología molecular de este enteroparásito es de gran relevancia tanto para el sistema de producción agropecuaria como para la salud pública.

Al presente, no existen vacunas ni otros métodos establecidos para el control de la criptosporidiosis bovina (Florin-Christensen *et al.*, 2021). Es necesario aumentar el conocimiento sobre esta parasitosis, su prevalencia y factores de riesgo asociados, para establecer estrategias eficientes que permitan disminuir la diseminación del parásito. El objetivo de esta revisión es analizar diversos aspectos de la epidemiología de las infecciones por *Cryptosporidium* spp. en bovinos y de factores de riesgo asociados a las mismas, utilizando la literatura disponible, para obtener un análisis más detallado de la situación de la criptosporidiosis bovina en Argentina.

Desarrollo

Prevalencia de Cryptosporidium spp.

El trabajo que determinó por primera vez la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en bovinos de nuestro país fue realizado por Bellinzoni *et al.* en 1990. Este estudio analizó los microorganismos presentes en la materia fecal de pequeños terneros de rodeos de cría y de tambo que sufrían diarrea. Para este estudio, se tomaron muestras provenientes de diversas provincias del país incluyendo Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe, Entre Ríos y La Pampa. Se analizaron muestras de materia fecal diarreica obtenidas de un total de 452 terneros, pertenecientes a 36 granjas y 33 tambos, para determinar la presencia de los microorganismos comunes causales de la infección como lo son Rotavirus, *Escherichia coli*, *Cryptosporidium* spp. y *Salmonella* spp. Entre estos enteropatógenos, *Cryptosporidium* spp. tuvo una prevalencia del 30,5 % y 29,6 % en terneros de rodeos de cría y tambos, respectivamente. Además, se identificó en 27 granjas y en 23 tambos. Este estudio demostró por primera vez que las infecciones por *Cryptosporidium* spp. se encontraban altamente diseminadas en la Argentina. En los siguientes años, se determinó la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en determinadas zonas con producción de bovinos, principalmente analizando la situación de terneros menores a 60 días. A continuación, se realizará una breve descripción de los trabajos realizados en las provincias de Córdoba (Tiranti *et al.*, 2011; Lombardelli *et al.*, 2019), Santa Fe (Modini *et al.*, 2010; Modini *et al.*, 2011) y Buenos Aires (Del Coco *et al.*, 2008; Garro *et al.*, 2016).

Tiranti *et al.* (2011) analizaron muestras de materia fecal de terneros menores a 7 semanas de edad (n=620) provenientes de 43 establecimientos lecheros del distrito de San Martín, Córdoba. Determinaron una prevalencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en materia fecal del 19,4 %. El promedio de terneros analizados por rodeo fue de 13, encontrándose prevalencias desde 0 % a 58,3 %, con una media de 14,3 %. Posteriormente, Lombardelli *et al.* (2019), hallaron una prevalencia algo superior, de 25,5 %, al analizar un total de 1073 muestras de materia fecal de terneros de tambo menores a 60 días de la misma zona, correspondientes a 54 rodeos. En 48 de los 54 rodeos al menos un ternero fue positivo.

Por otro lado, en la cuenca lechera de la provincia de Santa

Fe se realizaron dos estudios. En el primero (Modini *et al.*, 2010), se obtuvieron muestras de materia fecal de 106 terneros de crianza artificial de edades comprendidas entre 2 semanas a 2 meses (n=60) y menores a dos semanas (n=46). Se hallaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en 85 % y 83 % en el primer y segundo grupo, respectivamente. En el segundo artículo, se analizaron las heces de terneros de 1 a 60 días de edad, pertenecientes a tres establecimientos. Se identificó que el 24 % de los animales excretaban ooquistes de *Cryptosporidium* spp. La mayor proporción de infección fue de 38 % y la menor de 11 % (Modini *et al.*, 2011). El autor atribuye las diferencias encontradas en ambos estudios al ambiente en donde se desarrollaban los terneros en cada establecimiento.

Finalmente, en la provincia de Buenos Aires se encontraron valores similares de prevalencia de 17 % y 16,3 % en los trabajos realizados por Del Coco *et al.* (2008) y Garro *et al.* (2016), respectivamente. En el primero, se analizó la materia fecal de 280 terneros de tambo menores a 30 días de vida, pertenecientes al área rural de General Mansilla, distrito de Magdalena. Mientras que Garro *et al.* (2016), analizaron un total de 552 muestras de terneros de tambo menores a 70 días de diferentes distritos de la provincia de Buenos Aires, incluyendo Exaltación de la Cruz, General Belgrano, Lobos, Luján, Marcos Paz, Monte, Navarro y San Miguel del Monte.

Factores de riesgo de Cryptosporidium spp.

Para comprender el análisis de factores de riesgo, es importante tener en consideración los conceptos de riesgo relativo (RR) y *odds ratio* (OR) que se utilizan para evaluar la significancia de los mismos. Se denomina RR a la razón entre proporciones en cada grupo, es una medida del riesgo de un grupo comparado con el otro. Por otro lado, OR es la razón entre dos probabilidades de presentar un evento o de no presentarlo (Altman, 1991). En ambos casos, valores mayores a 1 indican que el factor se asocia a mayor ocurrencia del evento y, por consiguiente, es significativo.

En Argentina, solamente tres autores han analizado los potenciales factores de riesgo asociados a la criptosporidiosis. Por un lado, Modini *et al.* (2011) realizaron el análisis de riesgo de infección en terneros con y sin diarrea y presencia y ausencia de *Cryptosporidium* spp., obteniendo un RR del 2,85 para terneros infectados menores a 15 días de edad

que presentaban diarrea y un RR de 3,00 para riesgo de infección con *Cryptosporidium* spp. en animales con diarrea. Por otro lado, Tiranti *et al.* (2011) evaluaron diversas características del ternero, entre éstas el número de parición de la vaca, dificultades durante el parto, edad, y tipo de suelo. Únicamente la edad se encontró asociada con la liberación de ooquistes, con una mayor probabilidad de encontrar un ternero positivo si éste era menor de 15 días de edad (RR de 3,8). Con respecto al tipo de suelo, se halló que los rodeos tienen hasta tres veces más riesgo de una mayor prevalencia si los establecimientos están localizados en áreas con suelos pobremente drenados (RR: 2,9). Finalmente, Garro *et al.* (2016) analizaron diversas variables categóricas de cada ternero y calcularon el OR. A partir de este análisis, se halló que la edad del animal, la ocurrencia de diarrea y la observación de sangre en las heces están altamente asociados con la liberación de ooquistes. Según su estudio, la edad del ternero y la liberación de ooquistes están fuertemente asociadas, obteniéndose su mayor frecuencia en terneros de menos de 20 días de edad (OR de 7,4).

Epidemiología molecular

Algunos estudios analizaron la especie de *Cryptosporidium* spp. infectante de terneros de Argentina mediante métodos moleculares. Así, utilizando PCR-RFLP, se determinó la infección exclusiva por *C. parvum* en todas las muestras analizadas (n= 393). Si bien no puede descartarse la presencia de otras especies de *Cryptosporidium* en bovinos de nuestro

país, estas no han sido detectadas hasta el momento en terneros menores de 2 meses de edad (Tomazic *et al.*, 2013; Del Coco *et al.*, 2014; Lombardelli *et al.*, 2019).

La caracterización molecular de *C. parvum* es de importancia para determinar factores epidemiológicos y, como fue mencionado previamente, para establecer la posible ruta de transmisión basándose en la subtipificación de *gp60* (Xiao, 2010). En Argentina, los subtipos hallados por Tomazic *et al.* (2013), Del Coco *et al.* (2014) y Lombardelli *et al.* (2019) pertenecen a la familia Ila, la cual incluye subtipos zoonóticos (Fayer & Xiao, 2008). Tomazic *et al.* (2013) analizaron muestras de materia fecal de terneros (n=45) de 5 a 60 días de edad pertenecientes a granjas de Buenos Aires (n=9), Santa Fe (n=6) y Córdoba (n=3). Por otro lado, Del Coco *et al.* (2014) analizaron muestras provenientes de terneros menores a 60 días de edad de establecimientos de la provincia de Buenos Aires (n=73). Finalmente, Lombardelli *et al.* (2019) analizaron muestras de terneros menores a 60 días de edad (n=47) pertenecientes a establecimientos de la provincia de Córdoba. En todos los casos, se realizó una extracción de ADN a partir de muestras de materia fecal, mediante técnicas moleculares se determinó la presencia de *C. parvum* por PCR-RFLP y, luego, se analizaron los subtipos mediante amplificación del gen *gp60*, secuenciación y análisis bioinformático. Es importante mencionar que en el caso de Tomazic *et al.* (2013) y Del Coco *et al.* (2014) se encontraron más de un subtipo para algunas de las muestras. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla I.

Tabla I. Subtipos de *C. parvum* basados en *gp60* encontrados en Argentina

Argentina					
Subtipo	Buenos Aires	Santa Fe	Córdoba	Total	Referencia ^a
IlaA16G1R1	4	0	0	4	Del Coco et al. 2014 (4/75)
IlaA17G1R1	10	0	0	10	Tomazic et al. 2013 (10/46)
IlaA18G1R1	13	0	13	26	Tomazic et al. 2013 (1/46) Del Coco et al. 2014 (13/75) Lombardelli et al. 2019 (12/47)
IlaA19G1R1	1	0	0	1	Del Coco et al. 2014 (1/75)
IlaA20G1R1	31	1	28	60	Tomazic et al. 2013 (8/46) Del Coco et al. 2014 (27/75) Lombardelli et al. 2019 (25/47)
IlaA21G1R1	19	3	5	27	Tomazic et al. 2013 (15/46) Del Coco et al. 2014 (10/75) Lombardelli et al. 2019 (2/47)
IlaA22G1R1	18	3	6	21	Tomazic et al. 2013 (5/46) Del Coco et al. 2014 (16/75) Lombardelli et al. 2019 (6/47)
IlaA23G1R1	5	6	0	11	Tomazic et al. 2013 (7/46) Del Coco et al. 2014 (4/75)
IlaA24G1R1	0	0	2	2	Lombardelli et al. 2019 (2/47)
Total	101	13	54	162	

^a Se indica en paréntesis el subtipo determinado sobre el total de subtipos encontrados, en algunos casos se encontró más de un subtipo por muestra. En el estudio de Del Coco et al. 2014 se encontraron 75 subtipos en 73 muestras mientras en Tomazic et al. 2013 se encontraron 46 subtipos en 45 muestras analizadas.

Discusión y Conclusión

La criptosporidiosis bovina se encuentra muy diseminada alrededor del mundo. Es provocada por la especie *C. parvum* que coloniza y se reproduce en el intestino de terneros infectados, y que se disemina en forma de ooquistes liberados al medio ambiente con la materia fecal (Bamaiyi et al., 2017; Tomazic et al., 2018). Afecta principalmente a terneros neonatos en los primeros dos meses, dando lugar a diarrea, letargia, anorexia y deshidratación, con las consecuentes pérdidas económicas generadas por la reducción en la ganancia de peso, los cuidados veterinarios requeridos para el tratamiento y, en el menor de los casos, por la muerte de los

animales infectados (Lombardelli et al., 2019). Además, *C. parvum*, como especie zoonótica, puede infectar también a humanos, causando diarreas severas especialmente en niños y pacientes inmunosuprimidos (Fayer & Xiao, 2008). Es por esto que el objetivo de esta revisión fue recopilar los datos epidemiológicos disponibles de la criptosporidiosis bovina en diferentes provincias de Argentina para poder comprender la situación de esta enfermedad en nuestro país. La prevalencia obtenida para *Cryptosporidium* spp. en los trabajos realizados en Argentina se encuentra entre 16,3 y 25,5 % (Tabla I). Pero se reportó también en un caso un alto valor de animales infectados del 84 % en Santa Fe (Modini

et al. 2010). En este caso se analizó la presencia de ooquistes en muestras de materia fecal provenientes de terneros de diferentes tambos con sistema de crianza artificial “en estaca”. El suelo del corral era de tierra, había presencia de moscas, convivencia con otros animales y no poseían refugio ni separación por edad con otros terneros. Valores de prevalencia altos como los encontrados por estos autores fueron también hallados en estudios realizados en Japón, México y Suecia (93 %, 93,4 % y 96 %, respectivamente; Maldonado-Camargo *et al.*, 1998; Uga *et al.*, 2000; Silverlås *et al.*, 2009). Además, se han reportado valores elevados de prevalencia en España (47,9 %), India (38,1 %), Canadá (40,6 %) y Estados Unidos (40,6 %) (Castro-Hermida *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2006; Trotz-Williams *et al.*, 2006; Fayer *et al.*, 2005). Por otro lado, otro estudio realizado por Modini *et al.* (2011) en la misma provincia arrojó una prevalencia mucho más baja de 24 %, correspondiendo con lo que se observó en otros estudios en Argentina. Los terneros incluidos en este estudio provenían de otros establecimientos, también siguiendo una crianza de sistema artificial y estaca. Sin embargo, estos establecimientos contaban con una mayor calidad e higiene sanitaria. Esto podría haber contribuido a la gran diferencia en la prevalencia obtenida en relación con el estudio anterior.

Por otra parte, Tiranti *et al.* (2011) y Lombardelli *et al.* (2019) analizaron la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en la zona de General San Martín, provincia de Córdoba, mediante la detección de ooquistes en muestras de materia fecal de terneros. Obtuvieron valores de prevalencia del 19,4 % y 25,5 %, respectivamente. Esta diferencia apunta a un leve aumento de la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en la zona estudiada entre 2011 y 2019. Resultados de una tasa de infección similar fueron obtenidos en un estudio más antiguo (Bellinzoni *et al.*, 1990), en el que se halló una prevalencia del 29,6 % en terneros de tambo y 30,5 % en terneros de rodeos de cría. Sin embargo, los resultados de Bellinzoni *et al.* (1990) no son representativos de la situación real de los establecimientos analizados ya que se tomaron únicamente muestras de terneros que presentaban diarrea sin considerar a los animales sanos y, además, en este estudio se analizaron conjuntamente muestras de varias provincias. Los resultados de prevalencia más bajos reportados en Argentina son aquellos de la provincia de Buenos Aires, obtenidos por

Del Coco *et al.* (2008) y Garro *et al.* (2016), en los que se encontraron valores del 16,3 % y 17 %, respectivamente.

La presencia de ooquistes en materia fecal se detecta por observación microscópica de extendidos luego de una tinción modificada de Ziehl–Neelsen (Fayer & Xiao, 2008). Esta tinción es específica para ooquistes de *Cryptosporidium* spp. los cuales se visualizan de color rosado. No permite, sin embargo, determinar la especie infectante, para lo cual son necesarios estudios moleculares. Sin embargo, dado que *C. parvum* fue la única especie hallada en terneros de menos de 60 días de edad en todos los estudios moleculares realizados hasta ahora en Argentina (Tomazic *et al.*, 2013; Del Coco *et al.*, 2014; Lombardelli *et al.*, 2019; Santin, 2020; Garro *et al.*, 2021), puede hipotetizarse que los valores de prevalencia para *Cryptosporidium* spp. mencionados, corresponden a la prevalencia de *C. parvum*.

El estudio molecular de los subtipos de *C. parvum* es de gran importancia para determinar el potencial zoonótico de los mismos. En Argentina, Tomazic *et al.* (2013), Del Coco *et al.* (2014) y Lombardelli *et al.* (2019) analizaron los subtipos de *C. parvum* los cuales pertenecieron a la familia zoonótica Ila. Dentro de los subtipos encontrados en Argentina, IlaA16G1R1, IlaA17G1R1, IlaA18G1R1, IlaA19G1R1 e IlaA20G1R1 han sido identificados en muestras de materia fecal humana en pacientes con diarrea en Suecia, Australia, Etiopía, Estados Unidos, Irlanda, Gran Bretaña, Reino Unido, Escocia, Noruega y España (Insulander *et al.*, 2013; Koehler *et al.*, 2014; Adamu *et al.*, 2010; Feltus *et al.*, 2006; Zintl *et al.*, 2009, 2011; Chalmers *et al.*, 2005; Deshpande *et al.*, 2015; Lange *et al.*, 2014; Ghaffari & Kalantari, 2014a; Segura *et al.*, 2015). Este es un hallazgo de gran importancia ya que demuestra el impacto que potencialmente puede tener *C. parvum* en la salud pública. Además, los ooquistes de este parásito son sumamente resistentes a desinfectantes comunes y a condiciones ambientales desfavorables. Consecuentemente, con prácticas de higiene deficiente, la perpetuación de los ooquistes en el ambiente puede afectar no solamente a los trabajadores en contacto con los animales, si no que la contaminación de cuerpos de agua podría dar lugar a brotes de criptosporidiosis en humanos, los cuales podrían ser fatales para niños, adultos mayores y personas inmunocomprometidas (Fayer & Xiao, 2008).

En las investigaciones realizadas en Argentina se pueden

encontrar concordancias dentro de los subtipos aislados por Tomazic *et al.* (2013), Del Coco *et al.* (2014) y Lombardelli *et al.* (2019) que fueron identificados frecuentemente, como es el caso de IlaA18G1R1, IlaA20G1R1, IlaA21G1R1, IlaA22G1R1. Estos subtipos fueron detectados, aunque con baja frecuencia, en terneros neonatos de Hungría, Inglaterra, Reino Unido, Países Bajos, Eslovaquia, Suecia, Estonia, Serbia y Montenegro, Uruguay, Alemania y República Checa (Plutzer & Karanis, 2007; Brook *et al.*, 2009; Chalmers *et al.*, 2011; Ghaffari & Kalantari, 2014b; Wielinga *et al.*, 2008; Hatalová *et al.*, 2019; Silverlås *et al.*, 2010, 2013; Santoro *et al.*, 2019; Misisic & Abe, 2007; Caffarena *et al.*, 2020; Broglia *et al.*, 2008; Kvá *et al.*, 2011).

Por otra parte, algunos de los subtipos se identificaron con relativamente baja (IlaA17G1R1, IlaA23G1R1) o muy baja frecuencia (IlaA16G1R1, IlaA19G1R1, IlaA24G1R1) en Argentina (Tomazic *et al.* 2013, Del Coco *et al.* 2014 y Lombardelli *et al.* 2019). Los subtipos IlaA16G1R1 y IlaA17G1R1 también han sido identificados por otros autores en terneros neonatos (Trotz-Williams *et al.*, 2006; Iqbal *et al.*, 2015; Imre *et al.*, 2011; Broglia *et al.*, 2008; Hijjawi *et al.*, 2016; Caffarena *et al.*, 2020; Plutzer & Karanis, 2007; Brook *et al.*, 2009; Thompson *et al.*, 2007; Wielinga *et al.*, 2008; Silverlås *et al.*, 2013; Chalmers *et al.*, 2019; Hatalová *et al.*, 2019; Holzhausen *et al.*, 2019; Kaupke *et al.*, 2015; Santoro *et al.*, 2019; Ramo *et al.*, 2014; Deshpande *et al.*, 2015; Follet *et al.*, 2011). Además, estos subtipos han sido aislados a partir de materia fecal de ovejas, cerdos, perros, corderos, caballos y burros (Hijjawi *et al.*, 2016; Smith *et al.*, 2010; Imre *et al.*, 2013; Kaupke *et al.*, 2017; Kvá *et al.*, 2009; Ramo *et al.*, 2014; Rosanowski *et al.*, 2018; Essid *et al.*, 2018; Laatamna *et al.*, 2015). El hecho de haber sido aislados de gran variedad de especies indica la relevancia de la convivencia de bovinos con otros animales. Los últimos pueden servir como fuente de ooquistes y consecuentemente infectar a terneros neonatos. Asimismo, estos subtipos son considerados de importancia zoonótica (Fayer & Xiao, 2008) y, como ya se ha desarrollado, fueron aislados en varias oportunidades en pacientes diarreicos. La razón de la capacidad de estos subtipos de *C. parvum* en particular de infectar diversas especies animales requiere mayor investigación y puede indicar la presencia de críptoespecies o de un complejo de especies críptico. Por otro lado, el subtipo IlaA19G1R1 ha sido repor-

tado por diversos autores en muy baja frecuencia (Wielinga *et al.*, 2008; Brook *et al.*, 2009; Connelly *et al.*, 2013; Chalmers *et al.*, 2019; Lange *et al.*, 2014; Kaupke *et al.*, 2015; Santoro *et al.*, 2019) al igual que Tomazic *et al.* (2013), el cual ha sido el único trabajo realizado en Argentina en reportar este subtipo de *C. parvum*. Finalmente, el subtipo IlaA24G1R1 hallado por Lombardelli *et al.* (2019) fue únicamente identificado en Argentina hasta el momento.

Como se ha mencionado previamente, analizar los factores de riesgo brinda información acerca de métodos de control que se pueden establecer para lograr disminuir la diseminación de la criptosporidiosis. Además, tener conocimiento de los mismos puede ayudar a prevenir la infección de terneros sanos por la diseminación ambiental dada por la contaminación con ooquistes del parásito (Garro *et al.*, 2016). Hay muy pocos trabajos realizados en Argentina donde se analicen factores de riesgo. Tiranti *et al.* (2011) evaluaron la edad de los terneros como factor de riesgo, obteniendo un RR de 3,78 en terneros menores a 15 días. Por lo que este grupo etario tiene una mayor probabilidad a ser positivos a la infección por *C. parvum*. Estos resultados concuerdan con el otro estudio hecho en Argentina por Modini *et al.* (2011), quienes obtuvieron un RR de 2,85, al igual que investigaciones realizadas en España, México y Canadá donde se encontró un mayor riesgo de infección por *C. parvum* en terneros en la segunda semana de vida en comparación con grupos etarios de 16 a 60 días (de la Fuente *et al.*, 1999; Maldonado-Camargo *et al.*, 1998; Trotz-Williams *et al.*, 2007).

Modini *et al.* (2011) también analizaron el riesgo de infección en animales con diarrea, obteniendo un RR de 3,0. Este resultado es concordante con otros autores donde encontraron significancia entre la presencia de diarrea y la infección por *C. parvum* (Wade *et al.*, 2000; Izzo *et al.* 2011; Al Mawly *et al.*; 2015; Meganck *et al.* 2015). Además, Garro *et al.* (2016) asociaron la presencia de diarrea con la liberación de ooquistes, coincidiendo con los resultados obtenidos por Modini *et al.* (2011). Garro *et al.* (2016) llevaron el estudio aún más lejos analizando la edad en la que había una mayor frecuencia de liberación de ooquistes, encontrándose un OR de 7,4 en terneros menores a 20 días. Otras investigaciones concuerdan con estos resultados (Maddox-Hytell *et al.*, 2006; Brook *et al.*, 2008; Cardoso *et al.*, 2008). Esto indica la im-

portancia de la separación de los terneros infectados que pueden contribuir a la contaminación ambiental con ooquistes y, consecuentemente, a la diseminación de infección a animales sanos.

Basado en la alta prevalencia de los terneros neonatos, se puede decir que son el grupo etario de mayor relevancia al momento de establecer controles para evitar la diseminación de la transmisión zoonótica de *C. parvum* (Xiao *et al.*, 2007). Tiranti *et al.* (2011) analizaron el riesgo asociado a la calidad de suelo con respecto a la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. Sus resultados demostraron que hay hasta casi 3 veces más probabilidad de tener una alta prevalencia de infección en suelos pobremente drenados (RR: 2,9). Esto coincide con otras investigaciones como en el caso de Modini *et al.* (2010) en el cual la prevalencia hallada fue del 84 %, donde los terneros se criaban en sistema de crianza artificial con suelos de tierra. Otro autor también analizó el tipo de suelo como factor de riesgo, encontrando que el riesgo de infección era 66 % mayor en suelos de paja que aquellos con suelos de cemento, los últimos se pueden limpiar con agua a diferencia de los de paja que solamente se remueven (Castro-Hermida *et al.*, 2002). Estos resultados son de gran importancia ya que demuestran la relevancia que tiene el ambiente de crianza en la infección por *C. parvum*.

Es necesario continuar con el análisis de factores de riesgo en la Argentina como la severidad de la diarrea en co-infecciones, las prácticas de cría, entre éstas, la ingesta de calostro adecuado, el tipo de vivienda, la falta de higiene, y factores ambientales como la temperatura y la humedad, con el objetivo final de transmitir los hallazgos a los criadores para disminuir la infección de terneros con *Cryptosporidium* spp. (Maldonado-Camargo *et al.*, 1998; Mohammed *et al.*, 1999; Fayer, 2004; Maddox-Hytell *et al.*, 2006).

Se encuentran en curso en diversas partes del mundo investigaciones para el desarrollo de vacunas y estrategias terapéuticas para la criptosporidiosis bovina (Florin-Christensen *et al.*, 2021). Sin embargo, hasta poder disponer de estas herramientas, el análisis de factores de riesgo asociados a la diarrea neonatal por *Cryptosporidium* spp. en terneros juega un rol esencial para determinar la contribución de cada uno de ellos a la infección, ayudando a la implementación de estrategias de control. Entre éstas se deben considerar: i) reducir el nivel de densidad en las granjas, ii)

separar los animales por edad, iii) asegurar la ingesta de calostro de calidad, iv) adecuadas prácticas sanitarias. Estas medidas ayudarían a controlar una enfermedad bovina de alta relevancia, tanto desde el punto de vista productivo como así también por constituir un riesgo para la salud pública.

Agradecimientos

Se agradece el financiamiento del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA, Proyectos 2019-PD-E5-I102-001 y 2019-PD-E5-I103-001), del Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica (FONCyT, PICT-2018_03314) y de la Fundación de la Universidad de Morón (PID 8-2015) para las investigaciones realizadas por los autores en criptosporidiosis bovina. Paloma de Alba es Licenciada en Genética, egresada de la Universidad de Morón y tiene una Beca Doctoral del Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Referencias bibliográficas

- Altman DG. (1991). *Practical Statistics for Medical Research*. London: Chapman & Hall.
- Al Mawly, J., Grinberg, A., Prattley, D., Moffat, J., Marshall, J., & French, N. (2015). Risk factors for neonatal calf diarrhoea and enteropathogen shedding in New Zealand dairy farms. *Veterinary journal*, *203*(2), 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.01.010>
- Adamu, H., Petros, B., Hailu, A., & Petry, F. (2010). Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from humans in Ethiopia. *Acta tropica*, *115*(1-2), 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.02.003>
- Amer, S., Zidan, S., Adamu, H., Ye, J., Roellig, D., Xiao, L., & Feng, Y. (2013). Prevalence and characterization of *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in Nile River delta provinces, Egypt. *Experimental parasitology*, *135*(3), 518–523. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.09.002>
- Bouzid, M., Hunter, P. R., Chalmers, R. M., & Tyler, K. M. (2013). *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. *Clinical microbiology reviews*, *26*(1), 115–134. <https://doi.org/10.1128/CMR.00076-12>
- Brook, E., Hart, C. A., French, N., & Christley, R. (2008). Prevalence and risk factors for *Cryptosporidium* spp. infection in young calves. *Veterinary parasitology*, *152*(1-2), 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.003>

- Brook, E. J., Anthony Hart, C., French, N. P., & Christley, R. M. (2009). Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* subtypes in cattle in England. *Veterinary journal*, 179(3), 378–382. <https://doi.org/10.1016/j.tvj.2007.10.023>
- Bamaiyi, P. and Redhuan, N. (2017). Prevalence and risk factors for cryptosporidiosis: A global, emerging, neglected zoonosis. *Asian Biomedicine*, 10, 309–325.
- 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. (1990). Microbiology of diarrhoea in young beef and dairy calves in Argentina. *Revista Argentina de microbiología*, 22(3), 130–136.
- Broglia, A., Reckinger, S., Cacció, S. M., & Nöckler, K. (2008). Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in Germany. *Veterinary parasitology*, 154(1-2), 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.02.029>
- Cho, Y. I., & Yoon, K. J. (2014). An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of veterinary science*, 15(1), 1–17. <https://doi.org/10.4142/jvs.2014.15.1.1>
- Connelly, L., Craig, B. H., Jones, B., & Alexander, C. L. (2013). Genetic diversity of *Cryptosporidium* spp. within a remote population of Soay Sheep on St. Kilda Islands, Scotland. *Applied and environmental microbiology*, 79(7), 2240–2246. <https://doi.org/10.1128/AEM.02823-12>
- Castro-Hermida, J. A., González-Losada, Y. A., & Ares-Mazás, E. (2002). Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). *Veterinary parasitology*, 106(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(02\)00036-5](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(02)00036-5)
- Caffarena, R. D., Meireles, M. V., Carrasco-Letelier, L., Picasso-Risso, C., Santana, B. N., Riet-Correa, F., & Giannitti, F. (2020). Dairy calves in Uruguay are reservoirs of zoonotic subtypes of *Cryptosporidium parvum* and pose a potential risk of surface water contamination. *Frontiers in veterinary science*, 7, 562. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00562>
- Cardoso, J. M., Silveira, F. L., Araújo, A. J., De Carvalho, J. C., & Kanamura, H. Y. (2008). Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em um rebanho bovino leiteiro no Município de Caçapava, Estado de São Paulo, Brasil [Occurrence of *Cryptosporidium* spp. in a dairy cattle herd from Caçapava Municipality, São Paulo State, Brazil]. *Revista brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria*, 17 Suppl 1, 239–242.
- Chalmers, R. M., Ferguson, C., Cacciò, S., Gasser, R. B., Abs EL-Osta, Y. G., Heijnen, L., Xiao, L., Elwin, K., Hadfield, S., Sinclair, M., & Stevens, M. (2005). Direct comparison of selected methods for genetic categorisation of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* species. *International journal for parasitology*, 35(4), 397–410. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.01.001>
- Chalmers, R. M., Robinson, G., Elwin, K., & Elson, R. (2019). Analysis of the *Cryptosporidium* spp. and gp60 subtypes linked to human outbreaks of cryptosporidiosis in England and Wales, 2009 to 2017. *Parasites & vectors*, 12(1), 95. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3354-6>
- Chalmers, R. M., Smith, R. P., Hadfield, S. J., Elwin, K., & Giles, M. (2011). Zoonotic linkage and variation in *Cryptosporidium parvum* from patients in the United Kingdom. *Parasitology research*, 108(5), 1321–1325. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2199-x>
- Del Coco, V. F., Córdoba, M. A., & Basualdo, J. A. (2008). *Cryptosporidium* infection in calves from a rural area of Buenos Aires, Argentina. *Veterinary parasitology*, 158(1-2), 31–35. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.08.018>
- Del Coco, V. F., Córdoba, M. A., Bilbao, G., de Almeida Castro, A. P., Basualdo, J. A., Fayer, R., & Santín, M. (2014). *Cryptosporidium parvum* GP60 subtypes in dairy cattle from Buenos Aires, Argentina. *Research in veterinary science*, 96(2), 311–314. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.12.010>
- Deshpande, A. P., Jones, B. L., Connelly, L., Pollock, K. G., Brownlie, S., & Alexander, C. L. (2015). Molecular characterization of *Cryptosporidium parvum* isolates from human cryptosporidiosis cases in Scotland. *Parasitology*, 142(2), 318–325. <https://doi.org/10.1017/S0031182014001346>
- 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. (1999). *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Veterinary parasitology*, 80(3), 179–185. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(98\)00218-0](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(98)00218-0)
- Essid, R., Menotti, J., Hanen, C., Aoun, K., & Bouratbine, A. (2018). Genetic diversity of *Cryptosporidium* isolates from human populations in an urban area of Northern Tunisia. *In-*

- fection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 58, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.01.004>
- Foster, D. M., & Smith, G. W. (2009). Pathophysiology of diarrhea in calves. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 25(1), 13–xi. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.013>
 - Fayer R., Xiao L. (2008). *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis; CRC Press.
 - Fayer R., Santín, M., & Xiao, L. (2005). *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *The Journal of parasitology*, 91(3), 624–629. <https://doi.org/10.1645/GE-3435>
 - Fayer R. (2004). *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Veterinary parasitology*, 126(1-2), 37–56. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.004>
 - Fayer R. (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Experimental Parasitology*, 124:90–7.
 - Florin-Christensen M., Schnittger, L., Bastos, R.G., Vignesh, A.R., Cooke, B.M., Alzan, H.F., Suarez, C.E. (2021). Pursuing effective vaccines against cattle diseases caused by apicomplexan protozoa. *CAB Reviews*, 16(024), 1-23. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR202116024>
 - Feltus, D. C., Giddings, C. W., Schneck, B. L., Monson, T., Warshauer, D., & McEvoy, J. M. (2006). Evidence supporting zoonotic transmission of *Cryptosporidium* spp. in Wisconsin. *Journal of clinical microbiology*, 44(12), 4303–4308. <https://doi.org/10.1128/JCM.01067-06>
 - Follet, J., Guyot, K., Leruste, H., Follet-Dumoulin, A., Hammouma-Ghelboun, O., Certad, G., Dei-Cas, E., & Halama, P. (2011). *Cryptosporidium* infection in a veal calf cohort in France: molecular characterization of species in a longitudinal study. *Veterinary research*, 42(1), 116. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-116>
 - Garro C. J., Morici G. E., Utgés M. E., Tomazic M.L., Schnittger L. (2016). Prevalence and risk factors for shedding of *Cryptosporidium* spp. oocysts in dairy calves of Buenos Aires Province, Argentina, *Parasite epidemiology and control*, 1(2), 36–41, <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2016.03.008>.
 - Garro C. J., Morici G. E., Tomazic M. L., Vilte D., Encinas M., Vega C., Bok M., Parreño V., Schnittger L. (2021). Occurrence of *Cryptosporidium* and other enteropathogens and their association with diarrhea in dairy calves of Buenos Aires province, Argentina, *Veterinary Parasitology*, 24: 100567. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100567>.
 - Ghaffari, S., & Kalantari, N. (2014a). A multi-locus study of cryptosporidium parasites isolated from patients living in Iran, Malawi, Nigeria, the United Kingdom, and Vietnam. *Iranian journal of parasitology*, 9(1), 79–89.
 - Ghaffari, S., Kalantari, N., & A Hart, C. (2014b). A multi-locus study for detection of *Cryptosporidium* species isolated from calves population, Liverpool; UK. *International journal of molecular and cellular medicine*, 3(1), 35–42.
 - Hatalová, E., Valen áková, A., Luptáková, L., Špalková, M., Kalinová, J., Halánová, M., Bednárová, V., Gabzdilová, J., Dedinská, K., Ondriska, F., & Boldiš, V. (2019). The first report of animal genotypes of *Cryptosporidium parvum* in immunosuppressed and immunocompetent humans in Slovakia. *Transboundary and emerging diseases*, 66(1), 243–249. <https://doi.org/10.1111/tbed.13009>
 - Holzhausen, I., Lendner, M., Göhring, F., Steinhöfel, I., & Daugschies, A. (2019). Distribution of *Cryptosporidium parvum* gp60 subtypes in calf herds of Saxony, Germany. *Parasitology research*, 118(5), 1549–1558. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06266-1>
 - Hur T.Y., Jung Y.H., Choe C.Y., Cho Y.I., Kang S.J., Lee H.J., Ki K.S., Baek K.S., Suh G.H. (2013). The dairy calf mortality: the causes of calf death during ten years at a large dairy farm in Korea. *Korean J. Vet. Res.*, 53:103–108
 - Hijjawi, N., Mukbel, R., Yang, R., & Ryan, U. (2016). Genetic characterization of *Cryptosporidium* in animal and human isolates from Jordan. *Veterinary parasitology*, 228, 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.08.015>
 - Izzo, M. M., Kirkland, P. D., Mohler, V. L., Perkins, N. R., Gunn, A. A., & House, J. K. (2011). Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Australian veterinary journal*, 89(5), 167–173. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2011.00692.x>
 - Iqbal, A., Goldfarb, D. M., Slinger, R., & Dixon, B. R. (2015). Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in diarrhoeic patients in the Qikiqtani Region, Nunavut, Canada. *International journal of circumpolar health*, 74, 27713. <https://doi.org/10.3402/ijch.v74.27713>
 - Insulander, M., Silverlås, C., Lebbad, M., Karlsson, L., Mattsson, J. G., & Svenungsson, B. (2013). Molecular epi-

demology and clinical manifestations of human cryptosporidiosis in Sweden. *Epidemiology and infection*, 141(5), 1009–1020. <https://doi.org/10.1017/S0950268812001665>

- Imre, K., Lobo, L. M., Matos, O., Popescu, C., Genchi, C., & Drbu, G. (2011). Molecular characterisation of *Cryptosporidium* isolates from pre-weaned calves in Romania: is there an actual risk of zoonotic infections? *Veterinary parasitology*, 181(2-4), 321–324. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.04.042>
- Imre, K., Luca, C., Costache, M., Sala, C., Morar, A., Morariu, S., Ilie, M. S., Imre, M., & Drbu, G. (2013). Zoonotic *Cryptosporidium parvum* in Romanian newborn lambs (Ovis aries). *Veterinary parasitology*, 191(1-2), 119–122. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.08.020>
- Kaupke, A., & Rzutka, A. (2015). Emergence of novel subtypes of *Cryptosporidium parvum* in calves in Poland. *Parasitology research*, 114(12), 4709–4716. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4719-1>
- Kaupke, A., Michalski, M. M., & Rzutka, A. (2017). Diversity of *Cryptosporidium* species occurring in sheep and goat breeds reared in Poland. *Parasitology research*, 116(3), 871–879. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5360-3>
- Koehler, A. V., Whipp, M., Hogg, G., Haydon, S. R., Stevens, M. A., Jex, A. R., & Gasser, R. B. (2014). First genetic analysis of *Cryptosporidium* from humans from Tasmania, and identification of a new genotype from a traveller to Bali. *Electrophoresis*, 35(18), 2600–2607. <https://doi.org/10.1002/elps.201400225>
- Kvá, M., Hromadová, N., Kvtoová, D., Rost, M., & Sak, B. (2011). Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in pre-weaned dairy calves in the Czech Republic: absence of *C. ryanae* and management-associated distribution of *C. andersoni*, *C. bovis* and *C. parvum* subtypes. *Veterinary parasitology*, 177(3-4), 378–382. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.048>
- Kvá, M., Hanzlíková, D., Sak, B., & Kvetonová, D. (2009). Prevalence and age-related infection of *Cryptosporidium suis*, *C. muris* and *Cryptosporidium* pig genotype II in pigs on a farm complex in the Czech Republic. *Veterinary parasitology*, 160(3-4), 319–322. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.11.007>
- Lombardelli, J. A., Tomazic, M. L., Schnittger, L., & Tiranti, K. I. (2019). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* in dairy

calves and GP60 subtyping of diarrheic calves in central Argentina. *Parasitology research*, 118(7), 2079–2086. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06366-y>

- Lange, H., Johansen, O. H., Vold, L., Robertson, L. J., Anthonisen, I. L., & Nygard, K. (2014). Second outbreak of infection with a rare *Cryptosporidium parvum* genotype in schoolchildren associated with contact with lambs/goat kids at a holiday farm in Norway. *Epidemiology and infection*, 142(10), 2105–2113. <https://doi.org/10.1017/S0950268813003002>
- Laatamna, A. E., Wagnerová, P., Sak, B., Kvtoová, D., Xiao, L., Rost, M., McEvoy, J., Saadi, A. R., Aissi, M., & Kvá, M. (2015). Microsporidia and *Cryptosporidium* in horses and donkeys in Algeria: detection of a novel *Cryptosporidium hominis* subtype family (Ik) in a horse. *Veterinary parasitology*, 208(3-4), 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.01.007>
- Maldonado-Camargo, S., Atwill, E. R., Saltijeral-Oaxaca, J. A., & Herrera-Alonso, L. C. (1998). Prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium parvum* in Holstein Freisian dairy calves in central México. *Preventive veterinary medicine*, 36(2), 95–107. [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(98\)00084-1](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(98)00084-1)
- Mohammed, H. O., Wade, S. E., & Schaaf, S. (1999). Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Veterinary parasitology*, 83(1), 1–13. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(99\)00032-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(99)00032-1)
- Maddox-Hyttel, C., Langkjaer, R. B., Enemark, H. L., & Vigre, H. (2006). *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs—occurrence and management associated risk factors. *Veterinary parasitology*, 141(1-2), 48–59. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.04.032>
- Meganck, V., Hoflack, G., Piepers, S., & Opsomer, G. (2015). Evaluation of a protocol to reduce the incidence of neonatal calf diarrhoea on dairy herds. *Preventive veterinary medicine*, 118(1), 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.pvetmed.2014.11.007>
- Modini L.B., Carrera E., Otero J. L., Zerbato M. G., Eliggi M. S., Vaira S., & Abramovich B. L. (2011). Infección por *Cryptosporidium* spp. en ganado vacuno de la cuenca lechera de la provincia de Santa Fe (Argentina). *FABICIB*, 15(1), 97–107. <https://doi.org/10.14409/fabicib.v15i1.884>

- 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. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, 9(1), 33-38. <https://doi.org/10.14409/favecv.v9i1.1494>
- Maidana J., Tomazic M. L., Dominguez M. G., Louge Uriarte E. L., Galarza R., Garro C.J., Florin-Christensen M., Schnittger L. (2014). Tipificación molecular de *Cryptosporidium* sp. en terneros de la Provincia de Buenos Aires; Universidad de Morón. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales; *Revista de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales*; 12; 51-70
- Misić, Z., & Abe, N. (2007). Subtype analysis of *Cryptosporidium parvum* isolates from calves on farms around Belgrade, Serbia and Montenegro, using the 60 kDa glycoprotein gene sequences. *Parasitology*, 134(Pt 3), 351-358. <https://doi.org/10.1017/S0031182006001508>
- Nydam, D. V., Wade, S. E., Schaaf, S. L., & Mohammed, H. O. (2001). Number of *Cryptosporidium parvum* oocysts or *Giardia* spp. cysts shed by dairy calves after natural infection. *American journal of veterinary research*, 62(10), 1612-1615. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.1612>
- Pinto de Almeida Castro A., Bilbao G., Echevarría H., Morán P., Catena M., Cacciato C., Monteavaro C. (2009). Cryptosporidiosis: caracterización de la infección en terneros de rodeos lecheros. *Livestock Research for Rural Development*. Vol. 21, 168. <http://www.lrrd.org/lrrd21/10/pint21168.htm>
- Plutzer, J., & Karanis, P. (2007). Genotype and subtype analyses of *Cryptosporidium* isolates from cattle in Hungary. *Veterinary parasitology*, 146(3-4), 357-362. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.02.030>
- Rosanowski, S. M., Banica, M., Ellis, E., Farrow, E., Harwood, C., Jordan, B., James, C., McKenna, D., Fox, M., & Blake, D. P. (2018). The molecular characterisation of *Cryptosporidium* species in relinquished dogs in Great Britain: a novel zoonotic risk? *Parasitology research*, 117(5), 1663-1667. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5857-z>
- Ramo, A., Quílez, J., Del Cacho, E., & Sánchez-Acedo, C. (2014). Optimization of a fragment size analysis tool for identification of *Cryptosporidium* species and Gp60 alleles infecting domestic ruminants. *Veterinary parasitology*, 205(3-4), 466-471. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.025>
- Sanford, S. E., & Josephson, G. K. (1982). Bovine Cryptosporidiosis: Clinical and Pathological Findings in Forty-two Scouring Neonatal Calves. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 23(12), 343-347.
- Santin M. (2020). *Cryptosporidium* and *Giardia* in ruminants. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 36(1), 223-238. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.11.005>
- Singh, B. B., Sharma, R., Kumar, H., Banga, H. S., Aulakh, R. S., Gill, J. P., & Sharma, J. K. (2006). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Punjab (India) and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Veterinary parasitology*, 140(1-2), 162-165. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.03.029>
- Silverlås, C., Emanuelson, U., de Verdier, K., & Björkman, C. (2009). Prevalence and associated management factors of *Cryptosporidium* shedding in 50 Swedish dairy herds. *Preventive veterinary medicine*, 90(3-4), 242-253. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.04.006>
- Silverlås, C., Näslund, K., Björkman, C., & Mattsson, J. G. (2010). Molecular characterisation of *Cryptosporidium* isolates from Swedish dairy cattle in relation to age, diarrhoea and region. *Veterinary parasitology*, 169(3-4), 289-295. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.01.003>
- Silverlås, C., & Blanco-Penedo, I. (2013). *Cryptosporidium* spp. in calves and cows from organic and conventional dairy herds. *Epidemiology and infection*, 141(3), 529-539. <https://doi.org/10.1017/S0950268812000830>
- Santoro, A., Dorbek-Kolin, E., Jeremejeva, J., Tummelleht, L., Orro, T., Jokelainen, P., & Lassen, B. (2019). Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* spp. in calves in Estonia: high prevalence of *Cryptosporidium parvum* shedding and 10 subtypes identified. *Parasitology*, 146(2), 261-267. <https://doi.org/10.1017/S0031182018001348>
- Smith, R. P., Chalmers, R. M., Mueller-Doblies, D., Clifton-Hadley, F. A., Elwin, K., Watkins, J., Paiba, G. A., Hadfield, S. J., & Giles, M. (2010). Investigation of farms linked to human patients with cryptosporidiosis in England and Wales. *Preventive veterinary medicine*, 94(1-2), 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.12.005>
- Segura, R., Prim, N., Montemayor, M., Valls, M. E., & Muñoz, C. (2015). Predominant virulent IbA10G2 subtype of *Cryptosporidium hominis* in human isolates in Barcelona: a

- five-year study. *PloS one*, 10(3), e0121753. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121753>
- Trotz-Williams, L. A., Martin, D. S., Gatei, W., Cama, V., Peregrine, A. S., Martin, S. W., Nydam, D. V., Jamieson, F., & Xiao, L. (2006). Genotype and subtype analyses of *Cryptosporidium* isolates from dairy calves and humans in Ontario. *Parasitology research*, 99(4), 346–352. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0157-4>
 - Trotz-Williams, L. A., Wayne Martin, S., Leslie, K. E., Duffield, T., Nydam, D. V., & Peregrine, A. S. (2007). Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Preventive veterinary medicine*, 82(1-2), 12–28. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2007.05.003>
 - Tomazic ML, Garro CJ, Schnittger L. (2018). *Cryptosporidium*. En: Florin-Christensen M, Schnittger L, editors. Parasitic protozoa of farm animals and pets. New York City, NY, USA: Springer International Publishing, p. 11–54.
 - Tomazic, M. L., Maidana, J., Dominguez, M., Uriarte, E. L., Galarza, R., Garro, C., Florin-Christensen, M., & Schnittger, L. (2013). Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from calves in Argentina. *Veterinary parasitology*, 198(3-4), 382–386. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.09.022>
 - Tiranti, K., Larriestra, A., Vissio, C., Picco, N., Alustiza, F., Degioanni, A., & Vivas, A. (2011). Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp., spatial clustering and patterns of shedding in dairy calves from Córdoba, Argentina. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology*, 20(2), 140–147. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612011000200009>
 - Thompson, H. P., Dooley, J. S., Kenny, J., McCoy, M., Lowery, C. J., Moore, J. E., & Xiao, L. (2007). Genotypes and subtypes of *Cryptosporidium* spp. in neonatal calves in Northern Ireland. *Parasitology research*, 100(3), 619–624. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0305-x>
 - USDA . USDA-APHIS-VS, CEAH; Fort Collins (2008). Dairy 2007 Part II: Changes in the U.S. Dairy Cattle Industry 1991–2007, 57–61
 - Uga, S., Matsuo, J., Kono, E., Kimura, K., Inoue, M., Rai, S. K., & Ono, K. (2000). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocyst shedding in calves in Japan. *Veterinary parasitology*, 94(1-2), 27–32. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(00\)00338-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(00)00338-1)
 - Wyatt, C. R., Riggs, M. W., & Fayer, R. (2010). Cryptosporidiosis in neonatal calves. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 26(1), 89–103. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.10.001>
 - Wade, S. E., Mohammed, H. O., & Schaaf, S. L. (2000). Prevalence of *Giardia* sp. *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium andersoni* (syn. *C. muris*) [correction of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium muris* (*C. andersoni*)] in 109 dairy herds in five counties of southeastern New York. *Veterinary parasitology*, 93(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(00\)00337-x](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(00)00337-x)
 - Wielinga, P. R., de Vries, A., van der Goot, T. H., Mank, T., Mars, M. H., Kortbeek, L. M., & van der Giessen, J. W. (2008). Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* in humans and cattle in The Netherlands. *International journal for parasitology*, 38(7), 809–817. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.10.014>
 - Xiao, L., Zhou, L., Santin, M., Yang, W., & Fayer, R. (2007). Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in eastern United States. *Parasitology research*, 100(4), 701–706. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0337-2>
 - Xiao L. (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Experimental parasitology*, 124(1), 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.03.018>
 - Xiao, L., Feng, Y. (2008). Zoonotic cryptosporidiosis. *FEMS Immunology and medical microbiology*, 52, 309–323.
 - Zambriski JA, Nydam DV, Wilcox ZJ, Bowman DD, Mohammed HO, Liotta JL. (2013). *Cryptosporidium parvum*: determination of ID₅₀ and the dose-response relationship in experimentally challenged dairy calves. *Veterinary Parasitology*, 197:104–12.
 - Zintl, A., Proctor, A. F., Read, C., Dewaal, T., Shanaghy, N., Fanning, S., & Mulcahy, G. (2009). The prevalence of *Cryptosporidium* species and subtypes in human faecal samples in Ireland. *Epidemiology and infection*, 137(2), 270–277. <https://doi.org/10.1017/S0950268808000769>
 - Zintl, A., Ezzaty-Mirashemi, M., Chalmers, R. M., Elwin, K., Mulcahy, G., Lucy, F. E., & DE Waal, T. (2011). Longitudinal and spatial distribution of GP60 subtypes in human cryptosporidiosis cases in Ireland. *Epidemiology and infection*, 139(12), 1945–1955. <https://doi.org/10.1017/S0950268810002992>

