

Artículo de investigación

***Cryptosporidium* sp EN CONTENIDO ABOMASAL DE VACUNOS DEL OCCIDENTE DE VENEZUELA BENEFICIADOS EN MATADERO**

(*Cryptosporidium* sp. in abomasal content of cattle from western Venezuela slaughtered in slaughterhouse)

**Adelina Díaz de Ramírez \*; Jhondry Y. Jiménez G.\*\*; Evaluz Moreno R\*\*; Nuris Evelin Aldana González\* ; Ramírez-Iglesia, Lildo Nelson.\***

\*Laboratorio de Investigación en Fisiología e Inmunología (LIFI). Centro de Investigaciones Agrícolas, Biológicas, Educativas y Sociales (CIABES). Universidad de Los Andes - Núcleo Trujillo. \*\* TSU Pecuaria.

E-mail: [adediazra@yahoo.com](mailto:adediazra@yahoo.com)

**RESUMEN**

La criptosporidiosis gástrica en los vacunos es causada por *Cryptosporidium andersoni*, especie que coloniza las células epiteliales del abomaso y que ha sido asociada con gastritis, reducción significativa de la producción láctea y detrimento de la ganancia de peso. La identificación de ooquistes a nivel del abomaso de animales faenados en matadero aportaría datos relacionados con esa parasitosis. Con ese objetivo, fueron colectadas muestras de contenido abomasal y de heces de 292 vacunos beneficiados en el matadero municipal de Trujillo, Venezuela, procedentes del occidente del país. Se registró la categoría animal, procedencia y condición corporal (CC) en una escala 0 (emaciada) a 5 (obesa) agrupándose para el análisis en tres niveles:  $CC \leq 2$ ;  $CC=3$  y  $CC > 3$ . Las muestras fueron identificadas, transportadas bajo refrigeración y procesadas mediante centrifugación-flotación con CINa y centrifugación-sedimentación en formol-acetato de etilo. Con las suspensiones resultantes se confeccionaron montajes húmedos y frotis coloreadas con carbol-fucsina que fueron examinados en microscopio óptico (40X y 100X). Los resultados mostraron que 10,9% de las muestras de contenido abomasal y 9,2% de las de heces presentaron ooquistes con características biométricas de *C. andersoni* midiendo  $7,5 \times 5,7 \mu\text{m}$  e índice de la forma de 1,30. Se detectaron ooquistes en abomaso del 23,4% (25/107) de los animales con  $CC \leq 2$  (flaco) y 4,3% (7/162) de  $CC=3$  (moderado), observándose un alto grado de asociación entre presencia de *Cryptosporidium* spp. y CC ( $P < 0,01$ ). El parásito fue identificado en bovinos del 40% (14/35) de las fincas que suministraron animales, mostrando una variación del 0,0 a 90%. Estos resultados reflejan que, aunque con distintas

frecuencias, la criptosporidiosis abomasal está presente en diversas regiones de Venezuela.

**Palabras clave:** Abomaso, *Cryptosporidium andersoni*, Condición Corporal.

**ABSTRACT**

Gastric Cryptosporidiosis in cattle is caused by *Cryptosporidium andersoni*, a species that colonizes epithelial cells of the abomasum and has been associated with gastritis, significant reduction of milk production and detriment on weight gain. The oocyst identification at level of the abomasum of animals slaughtered in slaughterhouse would provide data relating to this parasitosis. With this objective, samples of abomasal content and feces were collected from 292 cattle benefited in the municipal slaughterhouse of Trujillo, Venezuela, coming from the West of the country. The animal category, origin, and body condition (BC) was recorded on a scale 0 (emaciated) to 5 (obese) grouped for analysis in three levels:  $BC \leq 2$ ;  $BC=3$  and  $BC > 3$ . Samples were identified, transported under refrigeration and processed by NaCl centrifugal-flotation and formalin-ethyl acetate centrifugal-sedimentation. With the resulting suspensions were made wet mounts and smears stained with carbol-fuschin that were test-takers in optical microscope (40 X and 100 X). The results showed that 10.9% of abomasal content and 9.2% of the feces samples presented oocysts with biometric features of *C. andersoni* measuring  $7.5 \times 5.7 \mu\text{m}$  and shape index of 1.30. Oocysts were detected in abomasum of 23.4% (25/107) of animals with  $BC \leq 2$  (thin) and 4.3% (7/162)  $BC=3$  (moderate), it was observed a high degree of association between *Cryptosporidium* spp. and BC ( $P < 0.01$ ). The parasite was identified in cattle

from 40% (14/35) of farms that supplied animals, showing a variation from 0.0 to 90%. These results reflect that, although with varying frequencies, abomasal Cryptosporidiosis is present in different regions of Venezuela.

**Key words:** Abomasum, body condition, *Cryptosporidium andersoni*.

## INTRODUCCIÓN

Los miembros del género *Cryptosporidium* son protozoarios parásitos intracelulares que colonizan las células epiteliales, en especial las del tracto gastrointestinal de un amplio espectro de huéspedes vertebrados incluyendo seres humanos y animales domésticos. Entre estos últimos, el ganado vacuno constituye el grupo de mamíferos más ampliamente documentado sobre la distribución y prevalencia de la infección, señalándose a *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium bovis*, *Cryptosporidium ryanae* y *Cryptosporidium andersoni* como las especies más comunes en estos animales<sup>1,2,3,4,5,6,7,8</sup>. En contraste, otras especies y genotipos de *Cryptosporidium* han sido reportadas esporádicamente<sup>3,5,6,9,10</sup>.

Varios estudios han demostrado que la susceptibilidad del ganado vacuno a *Cryptosporidium* spp varía con la edad del hospedador. La infección por *C. parvum*, ha resultado más prevalente en becerros menores de dos meses de edad, reduciéndose el porcentaje en animales destetados y novillas<sup>1,2,3,4</sup>. Por el contrario, *C. bovis* y *C. ryanae* predomina en becerros destetados disminuyendo la prevalencia a medida que el animal se aproxima a la madurez<sup>2,3,4</sup>, aunque en algunos países o regiones, *C. bovis* ha sido la especie más frecuente en los becerros lactantes<sup>5,7,9,11</sup>. Estas tres especies tienen desarrollo a nivel intestinal, solamente *C. parvum* ha sido asociado con cuadros de diarrea y representa un riesgo zoonótico.

*C. andersoni*, descrito inicialmente como *Cryptosporidium muris* y establecido luego como una nueva especie<sup>12</sup>, pertenece al grupo de criptosporidios que invaden el estómago glandular de mamíferos, presenta ooquistes de mayor tamaño que los de *C. parvum*, *C. bovis* y *C. ryanae*, especies que colonizan el intestino<sup>12,13,14</sup> y aunque ha sido identificado en becerros<sup>1,7,9,15</sup>,

afecta principalmente al ganado juvenil y adulto, asumiendo un patrón de infección crónica<sup>1,2,3,4,8,16,17,18</sup>.

La patogenicidad de *C. andersoni* es imprecisa y poco clara, sin embargo algunos datos sugieren que las infecciones crónicas en bovinos pueden causar gastritis, reducción significativa de la producción láctea y moderado a severo detrimento de la ganancia de peso.<sup>16,17,18,19</sup> El parásito se desarrolla en las células epiteliales de la mucosa del abomaso donde invade, en particular, las glándulas de la región fúndica dando lugar a cambios histopatológicos en el sitio de la infección<sup>15,16,17,20</sup>. Funcionalmente, la criptosporidiosis puede alterar la actividad digestiva, dificultando la digestión de las proteínas<sup>16,17</sup>, además, el análisis de los parámetros metabólicos del contenido del rumen mostraron que los animales infectados presentaron una mayor concentración de amonio, la cual, en el contexto de una abomasitis, podría estar vinculada con una disminución de la actividad proteolítica del abomaso<sup>21</sup>.

La infección por *C. andersoni* no manifiesta signos clínicos significativos, por lo cual, la incidencia, prevalencia y el potencial impacto clínico y económico de esta parasitosis probablemente han sido desestimados<sup>22</sup>. Su lugar de desarrollo y el tamaño de los ooquistes distingue a *C. andersoni* de las otras especies de criptosporidios que afectan al ganado vacuno, en ese sentido, este estudio se propuso determinar las características biométricas del parásito a nivel del abomaso de animales faenados en matadero y relacionar esa infección con el estado nutricional, la procedencia y la categoría de los animales, a fin de contribuir al estudio de la criptosporidiosis abomasal en la ganadería venezolana.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales, colecta y procesamiento de las muestras

Se estudiaron muestras del contenido abomasal y rectal de 292 vacunos mestizos producto del cruce alterno e indiscriminado de animales *Bos taurus* (Carora, Pardo suizo, Holstein y Criollo) y *Bos indicus* (Gyr, Brahman y Guzera), provenientes de 36 fincas ubicadas en siete estados del

occidente de Venezuela y sacrificados para el consumo humano en el matadero Municipal Jiménez de Trujillo, estado Trujillo.

Inmediatamente después del sacrificio y la evisceración del animal, se separó el abomaso al cual se le realizó una incisión a nivel de la curvatura menor del órgano para la obtención del fluido abomasal, este fue retirado y sobre la mucosa se efectuó un ligero barrido con la ayuda de una espátula. Al mismo tiempo, fueron colectadas muestras de heces directamente del recto. También se registró la categoría de cada animal, la procedencia y el estado nutricional, que fue evaluado antes del sacrificio mediante la condición corporal (CC) en una escala 0 (emaciada) a 5 (obesa) de acuerdo al tejido adiposo en el área pélvica<sup>23</sup>.

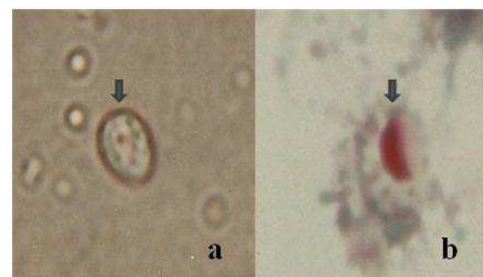
Las muestras de cada colecta fueron identificadas, transportadas bajo refrigeración y procesadas en un lapso de dos horas posterior a su obtención en el Laboratorio de Investigación en Fisiología e Inmunología de la Universidad de Los Andes, por los métodos de concentración mediante centrifugación-flotación en una solución de cloruro de sodio (gravedad específica de 1,21) y de centrifugación-sedimentación con acetato de etilo utilizando una centrífuga refrigerada (Damon®, IEC CENTRA-7R, International Equipment Company, EUA). Con la suspensión resultante en ambos casos, se confeccionaron frotis coloreados con la técnica de carbol-fucsina así como montajes húmedos y fueron examinados luego en microscopio óptico (Olympus®, CH30 RF100, Olympus Optical CO, LTD, Japón), bajo los objetivos 40X y de inmersión 100X. Una muestra fue considerada positiva cuando se detectó en la preparación la presencia de ooquistes después del examen de 50 campos microscópicos. Su caracterización morfométrica se realizó bajo condiciones idénticas por persona calificada, utilizando aislados de ooquistes de tres animales que presentaron mayor intensidad de infección, para lo cual, se realizaron montajes húmedos en portaobjetos cubiertos con cubreobjeto y los ooquistes fueron observados y medidos (n=134) con objetivo de inmersión con micrómetro ocular x1000.

### Análisis estadístico

Para establecer la relación de dependencia entre las variables y la infección, los datos se analizaron con el programa estadístico computarizado Statiscal Analysis Sistem (S.A.S)<sup>24</sup>, por el procedimiento Prof Freq y pruebas de Ji cuadrado, para ello, la condición corporal se clasificó en tres niveles  $CC \leq 2$ ,  $CC = 3$  y  $CC > 3$ , la categoría del animal en novillo, vaca y toro, la procedencia de siete estados o entidades federales y por la presencia o ausencia de la infección en positivos y negativos. El largo (L), ancho (A) e índice de forma (largo/ancho) de los ooquistes, se compararon usando el procedimiento Proc ANOVA del mismo SAS con prueba de Kruskal-Wallis considerándose diferencias significativas a un nivel  $P < 0,05$ . Los datos se procesaron en el Centro de Cálculo de la Universidad de Los Andes-Mérida (CeCalcULA).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total 10,9% (32/292) de las muestras de contenido abomasal y 9,2% (27/292) de las de heces presentaron ooquistes de *Cryptosporidium* sp. con las mismas características morfológicas y biométricas. En preparaciones húmedas, estos se apreciaron como cuerpos refringentes de forma ovoide o elipsoidal y en las preparaciones teñidas con carbol-fucsina se observaron como estructuras ovoides, total o parcialmente coloreadas de rojo o rosado intenso, sobre un fondo azul verdoso (Figura 1).



**Figura 1.** Fotomicrografía de ooquistes de *Cryptosporidium* sp identificados en muestras de contenido abomasal, (a) montaje húmedo, (b) tinción carbol-fucsina (1000x)

En la Tabla I, se presentan los datos de la morfometría. Los

ooquistes (N=134) midieron 6,5 - 8,2  $\mu\text{m}$  x 5,0 - 6,8  $\mu\text{m}$ , con un tamaño medio de 7,5 x 5,7  $\mu\text{m}$ , no encontrándose diferencias significativas ( $P>0,05$ ) entre los aislados evaluados. Todos estos caracteres morfológicos se enmarcan dentro de la descripción de la especie *C. andersoni*, cuyas medidas reportadas

fueron de 7,4 x 5,5  $\mu\text{m}$  (6,0-8,1 x 5,0-6,5  $\mu\text{m}$ )<sup>12</sup>.

Los resultados de medición de los ooquistes también están en concordancia con la caracterización morfológica de *C. andersoni* descrita en estudios previos en ganado vacuno en Hungría, Dinamarca, Reino Unido, Canadá, China y Japón<sup>10,22,25,26,27,28,29, 30</sup>. El tamaño de los ooquistes observados resultan muy similares o estrechamente cercanos a los reportados para la especie *C. andersoni* y por sus dimensiones, resultan morfológicamente distinguibles a los de *C. parvum*, *C. bovis* y *C. ryanae*, las otras especies de *Cryptosporidium* que con frecuencia infectan a los bovinos<sup>10,12, 13,14,26</sup>.

Los valores medios del índice de la forma de los ooquistes de los diferentes aislados evaluados en este trabajo se ubicaron entre 1,27 a 1,35  $\mu\text{m}$

**TABLA I. MORFOMETRÍA DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* sp. AISLADOS DESDE MUESTRAS DE HECES Y CONTENIDO ABOMASAL DE VACUNOS ADULTOS**

Características de los Ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> sp.							
Aislado/Muestra	N	Largo $\bar{x} \pm \text{DE}$	Rango	Ancho $\bar{x} \pm \text{DE}$	Rango	Índice de la forma $\pm \text{DE}$	Rango
A1 Heces	20	7,5 $\pm$ 0,63	6,5-8,2	5,8 $\pm$ 0,47	5,0-6,8	1,29 $\pm$ 0,12	1,08-1,52
A1 C Ab.	22	7,5 $\pm$ 0,55	6,5-8,2	5,7 $\pm$ 0,39	5,0-6,0	1,32 $\pm$ 0,12	1,08-1,55
A2 Heces	27	7,4 $\pm$ 0,53	6,5-8,2	5,7 $\pm$ 0,46	5,0-6,7	1,29 $\pm$ 0,11	1,08-1,53
A2 C Ab	20	7,5 $\pm$ 0,54	6,5-8,2	5,6 $\pm$ 0,42	5,0-6,3	1,35 $\pm$ 0,11	1,16-1,60
A3 Heces	23	7,4 $\pm$ 0,59	6,5-8,2	5,7 $\pm$ 0,45	5,0-6,8	1,29 $\pm$ 0,13	1,08-1,64
A3 C Ab	22	7,5 $\pm$ 0,54	6,5-8,2	5,9 $\pm$ 0,41	5,0-6,6	1,27 $\pm$ 0,10	1,06-1,40
Media		7,5 $\pm$ 0,55	6,5-8,2	5,7 $\pm$ 0,44	5,0-6,8	1,30 $\pm$ 0,12	1,06-1,64

$\bar{X} \pm \text{DE}$ : Media, Desviación Estándar; Índice de la forma = Largo / Ancho; N = 134: Número de ooquistes examinados, A1, A2, A3: Aislados; C Ab: Contenido abomasal;  $P > 0,05$

(media 1,30  $\mu\text{m}$ , rango: 1,06-1,64  $\mu\text{m}$ ), resultados también similares a los descritos para la especie *C. andersoni* (media 1,35  $\mu\text{m}$ ; 1,07-1,50  $\mu\text{m}$ )<sup>12</sup>. Igualmente, los datos obtenidos para el índice de la forma están dentro de los referidos para dicha especie en ganado vacuno en el Reino Unido<sup>22</sup>, Dinamarca<sup>27</sup>, Hungría<sup>26</sup> y recientemente en China<sup>10</sup>.

En la Tabla II se observa que el mayor porcentaje de muestras positivas correspondió al grupo de novillos con 11,8% (18/153), cercano al de las vacas con 10,8% (11/102) y en toros fue de 8,1% (3/37), no observándose asociación significativa ( $P > 0,05$ ) entre la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* y la categoría animal.

Estos porcentajes resultaron superiores a los registrados en vacunos evaluados a nivel de mataderos en otras latitudes, en los cuales, la detección de ooquistes de la especie abomasal en muestras de heces, se basó en la observación microscópica de preparaciones coloreadas y/o mediante caracterización molecular. De esa manera, en bovinos adultos se reportaron prevalencias del 1,5% y 4,7% en mataderos de Japón<sup>25,29</sup>, de Irán (6,7)<sup>31</sup> y de la República Checa (4,1%)<sup>32</sup>.

**TABLA II. PRESENCIA DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* sp. EN ABOMASO DE VACUNOS BENEFICIADOS, SEGÚN LA CATEGORÍA ANIMAL**

Categoría Animal	Vacunos		
	Examinados (N)	Positivos	(%)
Novillo	153	18	(11,8)
Vaca	102	11	(10,8)
Toro	37	3	( 8,1 )
Total	292	32	( 10,9)
$P > 0,05$			

Baja prevalencia también fue demostrada mediante caracterización molecular del parásito en ganaderías de Estados Unidos donde se señalaron valores de 0,2%, 5,1% y 3,7%<sup>2,3,4</sup> y más recientemente en Irán con 2,0%<sup>33</sup>. En cambio, el porcentaje de muestras positivas obtenido en el presente trabajo resultó similar al 10,6 % detectado en ganado vacuno de carne en Ontario<sup>30</sup>. Prevalencias mayores que las observadas en este estudio fueron referidas en el Reino Unido con 16%, en Dinamarca con 19 y 28% y de 43,8% en la República Checa<sup>15,22,27</sup>, en tanto que en Australia se documentó una incidencia de *C. andersoni* que osciló entre 0% y 26%, en vacunos de engorde estabulados (Feedlot)<sup>19</sup>. Los porcentajes de infección reportados en los diversos estudios resultan muy variables y es difícil precisar si esas diferencias son atribuibles a causas espacio-temporales, prácticas de manejo, sistemas de producción, técnicas de muestreo, métodos de diagnóstico o diseño de estudio, entre otras.

Como se aprecia en la Tabla III la mayoría de los bovinos que presentaron ooquistes en contenido abomasal mostraron condición corporal  $\leq 2$  (flaco), de manera que de los 107 animales incluidos en dicho grupo, 25 (23,4%) manifestaron la presencia de ooquistes, al igual que 7 (4,3%) de los 162 bovinos con condición corporal 3 (moderado). Por el contrario ningún vacuno con condición corporal  $>3$  (gordo) presentó dichos estadios del parásito. La prueba de Ji-cuadrado reveló asociación altamente significativa ( $P < 0,01$ ) entre la detección de ooquistes de *Cryptosporidium* y la condición corporal de los bovinos.

No se desestima que estos resultados donde el mayor porcentaje de muestras positivas se observó en ganado flaco, puedan ser atribuidos a la criptosporidiosis abomasal. Al respecto, varios autores reportaron efectos negativos de *C. andersoni* sobre el estado nutricional y el rendimiento<sup>16,17,18,19</sup>, con cambios hitopatológicos en el abomaso caracterizados por hipertofia de la mucosa, dilatación de las glándula gástricas, alteración de las células epiteliales, aumento de la producción de mucus, y en algunas ocasiones, infiltrados inflamatorios en la lámina propia del abomaso<sup>15,16,17,20</sup>. Se ha sugerido que las lesiones patológicas a nivel de la mucosa y de las glándulas gástrica pueden dificultar la digestión proteica como consecuencia de un aumento del pH gástrico y la consiguiente inhibición de la función proteolítica de la pepsina<sup>16,17</sup>, lo cual a su vez, puede disminuir la eficacia de la alimentación, afectar la ganancia de peso en el ganado de engorde y reducir la producción de leche en las vacas crónicamente infectadas<sup>16,17,18,19</sup>. En relación a ello, en un estudio conducido en California (EE.UU.) donde se examinaron muestras fecales y registros de producción en varios rebaños de vacas, se determinó que la criptosporidiosis abomasal tuvo un efecto perjudicial sobre la producción, reduciendo significativamente el promedio de leche diaria<sup>18</sup>. Más recientemente, se ha referido moderada a severa deficiencia en la ganancia de peso y disminución de la eficiencia alimenticia en vacunos de engorde estabulados (Feedlot)<sup>19</sup>.

Los resultados obtenidos también indican que los casos positivos procedían de 14 (40 %) de las 35 fincas que suministraron animales, mostrando una gran variación en el porcentaje de infección (extremos 0,0% y 90%), aunque en algunas unidades de producción, el número de vacunos evaluado fue pequeño. Los ooquistes fueron identificados en muestras de bovinos de fincas ubicadas en seis de los siete estados de donde procedía el ganado (Tabla IV),

**TABLA III. DETECCIÓN DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* EN ABOMASO SEGÚN LA CONDICIÓN CORPORAL DE LOS VACUNOS**

Condición Corporal	Bovinos		%
	Examinados	Positivos	
$\leq 2$	107	25	23,4
= 3	162	7	4,3
$> 3$	23	0	0,0
Total	292	32	10,9

$P < 0,01$



correspondiendo el mayor porcentaje al estado Portuguesa con 29,6%.

Estos resultados reflejan, que aún con variadas frecuencias, la infección por *Cryptosporidium* sp. a nivel del abomaso está presente en los bovinos de diversas regiones de Venezuela y alertan sobre esta parasitosis cuyo efecto sobre la producción de carne y leche aún no está totalmente esclarecido. El uso de técnicas moleculares permitiría confirmar las especies que circulan en la población bovina y ayudaría a mejorar la comprensión del cuadro epidemiológico de estos parásitos.

### CONCLUSIONES

Los hallazgos del presente estudio mostraron que la criptosporidiosis abomasal está presente en ganado vacuno de diversas regiones de Venezuela y que las características biométricas de los parásitos y su localización a nivel del abomaso sugieren que *C. andersoni* puede ser la especie predominante en las muestras de los bovinos evaluados, no obstante, se deben realizar estudios que permitan la caracterización molecular de estos organismos.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Matadero Municipal Jiménez del estado Trujillo, Venezuela, por el apoyo brindado para la ejecución de este trabajo.

### DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno de los autores de este artículo tuvo interés personal o financiero, ni relaciones con personas u organizaciones que podrían influir indebidamente o sesgar el contenido de este documento.

**TABLA IV. DETECCIÓN DE OOQUISTES DE *Cryptosporidium* sp. EN ABOMASO DE VACUNOS BENEFICIADOS, SEGÚN SU PROCEDENCIA**

Estados	Examinados N°	Positivos	
		N°	%
Apure	18	0	0,0
Barinas	38	2	5,3
Lara	24	2	8,3
Mérida	23	2	8,7
Portuguesa	54	16	29,6
Trujillo	112	9	8,0
Zulia	23	1	4,3
Total	292	32	10,9

### REFERENCIAS

- <sup>1</sup>SANTÍN, M.; TROUT, J.M.; XIAO, L.; ZHOU, L.; GREINER, E.; FAYER, R. 2004. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. **Veterinary Parasitology**. 122:103-117.
- <sup>2</sup>SANTÍN, M.; TROUT, J.M.; FAYER R. 2008. A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. **Veterinary Parasitology**. 155 (1-2):15-23.
- <sup>3</sup>FAYER, R.; SANTÍN, M.; TROUT, J.M.; GREINER, E. 2006. Prevalence of species and genotypes of *Cryptosporidium* found in 1-2 years-old dairy cattle in the eastern United States. **Veterinary Parasitology**. 135:105-112.
- <sup>4</sup>FAYER, R.; SANTÍN, M.; TROUT, J.M. 2007. Prevalence of *Cryptosporidium* species and genotypes in mature, dairy cattle on farms in eastern United States compared with younger cattle from the same locations. **Veterinary Parasitology**. 145:260-266.
- <sup>5</sup>FENG, Y.; ORTEGA, Y.; HE, G.; DAS, P.; XU, M.; ZHANG, X.; FAYER, R.; GATEI, W.; CAMA, V.; XIAO, L. 2007. Wide geographic distribution of *Cryptosporidium bovis* and the

deer-like genotype in bovines. **Veterinary Parasitology**. 144 (1-2):1-9.

<sup>6</sup>LANGKJÆR, R.B.; VIGRE, H.; ENEMARK H. L.; MADDOX-HYTTEL, C. 2007. Molecular and phylogenetic characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* from pigs and cattle in Denmark. **Parasitology**. 134:339-350.

<sup>7</sup>WANG, R.; WANG, H.; SUN, Y.; ZHANG, L.; JIAN, F.; QI, M.; NING, C.; XIAO, L. 2011. Characteristics of *Cryptosporidium* transmission in preweaned dairy cattle in Henan, China. **Journal of Clinical Microbiology**. 49 (3):1077-1082.

<sup>8</sup>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):518-23.

<sup>9</sup>ZHANG, W.; WANG, R.; YANG, F.; ZHANG, L.; CAO, J.; ZHANG, X.; LING, H.; LIU, A.; SHEN, Y. 2013. Distribution and Genetic Characterizations of *Cryptosporidium* spp. in Pre-Weaned Dairy Calves in Northeastern China's Heilongjiang Province. **PLoS One**. 8(1): e54857.

<sup>10</sup>CHEN, F.; HUANG, K. 2012. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. In dairy cattle from farms in China. **Journal of Veterinary Science**. 13:15-22.

<sup>11</sup>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**. 169:289-295.

<sup>12</sup>LINDSAY, D.S.; UPTON, S.J.; OWENS, D.S.; MORGAN, U.M.; MEAD, J.R.; BLAGBURN, B.L. 2000. *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. 47: 91-95.

<sup>13</sup>FAYER, R.; SANTÍN, M.; XIAO, L. 2005. *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa:

Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). **The Journal of Parasitology**. 91:624-629.

<sup>14</sup>FAYER, R.; SANTÍN, M.; TROUT, J.M. 2008. *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). **Veterinary Parasitology**. 156:191-198.

<sup>15</sup>KVÁC, M.; VITOVEC, J. 2003. Prevalence and pathogenicity of *Cryptosporidium andersoni* in one Herd of Beef Cattle **Journal of Veterinary Medicine**. Series B 50: 451-457.

<sup>16</sup>ANDERSON, B.C. 1990. preliminary report on prevalence of *Cryptosporidium muris* oocysts in dairy cattle feces. **Journal California Veterinarian**. 44 (1):11-12.

<sup>17</sup>ANDERSON, B.C. 1998. Cryptosporidiosis in Bovine and Human Health. **Journal of Dairy Science**. 81:3036-3041.

<sup>18</sup>ESTEBAN, E.; ANDERSON, B.C. 1995. *Cryptosporidium muris*: prevalence, persistency, and detrimental effect on milk production in a drylot dairy. **Journal of Dairy Science**. 78:1068-1072.

<sup>19</sup>RALSTON, B; THOMPSON, R. C.; PETHICK, D.; MCALLISTER, T. A.; OLSON, M. E. 2010. *Cryptosporidium andersoni* in Western Australian feedlot cattle. **Australian Veterinary Journal**. 88: 458-460.

<sup>20</sup>MASUNO, K.; YANAI, T.; HIRATA, A.; YONEMARU, K.; SAKAI, H.; SATOH, M.; MASEGI, T.; NAKAI, Y. 2006. Morphological and immunohistochemical features of *Cryptosporidium andersoni* in cattle. **Veterinary Pathology**. 43: 202-207.

<sup>21</sup>HOLKO, I.; PAVLÁSEK, I.; BARTON, L.; KMET, V. 2004. Comparison of digestive microflora between feedlot cattle with and without infection by *Cryptosporidium andersoni*. **Folia Microbiologica**. 49 (2):165-168.

<sup>22</sup>ROBINSON, G.; THOMAS, A.L.; DANIEL, R.G.; HADFIELD, S.J.; ELWIN, K.; CHALMERS; R.M. 2006. Sample prevalence and

molecular characterisation of *Cryptosporidium andersoni* within a dairy herd in the United Kingdom. **Veterinary Parasitology**. 142:163-167.

<sup>23</sup>EDMONSON, A.J.; Lean, I.J.; Weaver, L.D.; Farver, T.; Webster, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, vol. 72, pp. 68-78. 1989.

<sup>24</sup>STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE SAS/STAT. User's Guide, Version 9. 0. Ed, Cary, NC. 2002.

<sup>25</sup>KANETA, Y.; NAKAI, Y. 1998. Survey of *Cryptosporidium* oocysts from adult cattle in a slaughter house. **Journal of Veterinary Medical Science**. 60:585-588.

<sup>26</sup>SRÉTER, T.; EGYED, Z.; SZÉLL, Z.; KOVÁCS, G.; NIKOLAUSZ, M.; MÁRIALIGETI, K.; VARGA, I. 2000. Morphologic, host specificity, and genetic characterization of a european *Cryptosporidium andersoni* isolate. **The Journal of Parasitology**. 86:1244-1249.

<sup>27</sup>ENEMARK, H.L.; AHRENS, P.; LOWERY, C.J.; THAMSBORG, S.M.; ENEMARK, J.M.; HILL HANSEN, V.; LIND, P. 2002. *Cryptosporidium andersoni* from a Danish herd: identification and preliminary characterization. **Veterinary Parasitology**. 107:37-49.

<sup>28</sup>SATOH, M.; HIKOSAKA, K.; SASAKI, T.; SUYAMA, Y.; YANAI, T.; OHTA, M.; NAKAI, Y. 2003. Characteristics of a Novel Type of Bovine *Cryptosporidium andersoni*. **Applied and Environmental Microbiology**. 69: 691-692.

<sup>29</sup>KOYAMA, Y.; SATOH, M.; MAEKAWA, K.; HIKOSAKA, K.; NAKAI, Y. 2005. Isolation of *Cryptosporidium andersoni* Kawatabi type in a slaughterhouse in the northern island of Japan. **Veterinary Parasitology**. 130:323-326.

<sup>30</sup>McALLISTER, T. A.; OLSON, M. E.; FLETCH, A.; WETZSTEIN, M.; ENTZ, T. 2005. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in beef cows in southern Ontario and in beef calves in southern British Columbia. **The Canadian Veterinary Journal**. 46 (1): 47-55.

<sup>31</sup>FALLAH, E.; MAHDAVI POOR, B.; JAMALI, R.; HATAM-NAHAVANDI, K.; ASGHARZADEH, M. 2008. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from cattle in a slaughterhouse in Tabriz, northwestern Iran. **Journal of Biological Sciences**. 8(3):639-43.

<sup>32</sup>ONDRÁCKOVÁ, Z.; KVÁC, M.; SAK, B.; KVETONOVÁ, D.; ROST, M.; 2009. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in South Bohemia, the Czech Republic. **Veterinary Parasitology**. 165: 141-144.

<sup>33</sup>MIRZAI, Y.; YAKHCHALI, M; MARDANI, K. 2014. *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium andersoni* infection in naturally infected cattle of northwest Iran. **Veterinary Research Forum**. 5 (1) 55-60.