

Identificación de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* a través de Inmunofluorescencia Directa (IFD) en pequeños rumiantes y aspectos epidemiológicos en granjas entre los 1300 y 2500 m.s.n.m

Estudiante

Daniela Alejandra Collazos Pulido

Trabajo de grado para optar por el título de Bacteriólogo y Laboratorista Clínico



**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico**

Bogotá D.C.

2020

**Identificación de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* a través de
Inmunofluorescencia Directa (IFD) en pequeños rumiantes y aspectos
epidemiológicos en granjas entre los 1300 y 2500 m.s.n.m**

Estudiante

Daniela Alejandra Collazos Pulido

Asesora Interna

Ruth Páez Díaz MSc

Asesor externo

Jimmy Jolman Vargas Duarte MSc. PH.D



**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico**

Bogotá D.C.

2020

**Identificación de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* a través de
Inmunofluorescencia Directa (IFD) en pequeños rumiantes y aspectos
epidemiológicos en granjas entre los 1300 y 2500 m.s.n.m**



**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de ciencias de la salud
Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico
Trabajo de grado
Bogotá D.C.
2020**

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios por darme la fuerza para culminar satisfactoriamente esta carrera que implica dedicación, esfuerzo y responsabilidad.

Agradezco a los asesores de este proyecto, a la Dr. Ruth Páez por su dedicación y tiempo y al Dr. Jimmy Vargas por su confianza al permitirme realizar este trabajo dentro de las instalaciones del Instituto de Genética de la Universidad Nacional.

Asimismo, a familiares, amigos y conocidos que me dieron su apoyo y motivación en este proceso.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. ANTECEDENTES	4
2.1 <i>Cryptosporidium spp</i>	4
2.2 <i>Giardia duodenalis</i>	11
3. MARCO TEORICO.....	15
3.1 Generalidades de los ovinos y caprinos.....	15
3.2 Enfermedades parasitarias más frecuentes.....	16
3.3 Descripción <i>Cryptosporidium spp</i> en ovejas y cabras.....	18
3.3.1 Taxonomía.....	18
3.3.2 Morfología.....	18
3.3.3 Ciclo de vida	19
3.3.4 Patogenicidad	20
3.3.5 Factores de riesgo	21
3.3.6 Epidemiología	22
3.3.7 Control	24
3.4 <i>Giardia duodenalis</i> en ovejas y cabras	24
3.4.1 Taxonomía.....	24
3.4.2 Morfología.....	25
3.4.3 Ciclo de vida	25
3.4.4 Patogenicidad.....	26
3.4.5 Factores de riesgo	28
3.4.6 Epidemiología	29
3.4.7 Control	30
3.5. Diagnóstico de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i>	30
3.5.1 Inmunofluorescencia Directa	31
4. OBJETIVOS.....	33
4.1 Objetivo General.....	33
4.2 Objetivos específicos.....	33
5. METODOLOGÍA.....	34
5.1 Tipo de investigación.....	34
5.2 Población	34
5.3 Tamaño de la Muestra	34

5.4 Recolección de la información	34
5.5 Toma y recolección de las muestras.....	35
5.6 Procesamiento de las muestras.....	35
5.6.1 Flotación de ooquistes-quistes	35
5.7 Pruebas diagnosticas.....	35
5.8 Programas utilizados	37
5.9 Hipótesis.....	37
5.10 Variables.....	37
5.10.1 Variable dependiente.....	37
5.10.2 Variable independiente	37
5.11 Criterios de exclusión.....	38
5.12 Criterios de inclusión.....	38
5.13 Técnica de análisis	38
6. RESULTADOS.....	39
7. DISCUSIÓN	50
8. CONCLUSIONES.....	55
9. RECOMENDACIONES	56
10. REFERENCIAS.....	57
ANEXOS	66

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especies y genotipos de <i>Cryptosporidium</i> en ovejas y cabras.....	5
Tabla 2. Ensamblajes de <i>Giardia duodenalis</i> en ovejas y cabras	12
Tabla 3. Total de especies muestreadas.....	40
Tabla 4. Cantidad de cabritos muestreados según la edad	40
Tabla 5. Cantidad de corderos muestreados según la edad	41
Tabla 6. Presencia sobre algún ooquiste-quiste de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>Giardia duodenalis</i> conforme a la edad de las cabras.	41
Tabla 7. Presencia sobre algún ooquiste-quiste de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>Giardia duodenalis</i> conforme a la edad de las ovejas.	41
Tabla 8. Total de veredas muestreadas y la cantidad de animales muestreados por cada una	43
Tabla 9. Presencia de algún ooquiste-quiste de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i> por veredas.	43
Tabla 10. Presencia de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i> por especie	¡Error!
Marcador no definido.	
Tabla 11. Análisis descriptivo según la variable Clima.....	44
Tabla 12. Análisis descriptivo según el hábitat.....	44
Tabla 13. Análisis descriptivo según el tipo de producción	45
Tabla 14. Análisis descriptivo según el tipo de explotación.....	45
Tabla 15. Análisis descriptivo según la fuente de agua.....	45
Tabla 16. Asociación de la edad con la presencia de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i> en cabras y ovejas	46
Tabla 17. Asociación entre el sexo y la presencia de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i> en cabras y ovejas.	46
Tabla 18. Asociación entre el clima y la presencia de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i> en cabras y ovejas	47
Tabla 19. Asociación entre el tipo de explotación y producción con la presencia de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i> en cabras y ovejas.....	48
Tabla 20. Asociación entre la fuente de agua y la presencia de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i> en cabras y ovejas.....	48
Tabla 21. Asociación entre el manejo-cuidado y la presencia de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i> en cabras y ovejas.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del ciclo de vida de <i>Cryptosporidium spp</i>	20
Figura 2. Esquema del ciclo de vida de <i>Giardia duodenalis</i>	26
Figura 3. Ooquistes-quistes de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i> en IFD	36
Figura 4. Ooquistes-quistes de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>G. duodenalis</i> en IFD	36
Figura 5. Cantidad de animales negativos y positivos a la presencia de por lo menos un ooquiste-quiste de <i>Cryptosporidium spp</i> y <i>Giardia duodenalis</i>	39
Figura 6. Cantidad de cabritos y corderos con presencia de algún ooquiste-quiste.	40
Figura 7. Proporción de animales según el sexo en las ovejas y cabras	42
Figura 8. Proporción de animales con presencia de algún ooquiste-quiste según la especie y el sexo.....	43

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Registro de fincas	66
Anexo 2. Muestras en frascos de tapa rosca debidamente rotulados y refrigerados	67
Anexo 3. Mezcla de los 15 gramos de materia fecal y 35 ml de agua destilada	67
Anexo 4. Filtración de la mezcla resultante del paso anterior por embudo y gasa...	68
Anexo 5. Líquido del paso anterior se coloca por triplicado en los tubos Falcon y se completan con agua destilada.....	68
Anexo 6. Tubos que después de salir de la centrifuga se les ha descartado el sobrenadante para obtener sólo el pellet y mezclarlo con la solución azucarada de Sheather.....	68
Anexo 7. Después de centrifugar los tubos con la Solución azucarada, se obtienen 4ml del sobrenadante para posteriormente colocarlo en nuevos tubos Falcon que van a contener 10 ml de agua destilada.....	69
Anexo 8. Descarte de sobrenadantes y recuperación del Pellet.	69
Anexo 9. Tubos Eppendorf con las respectivas alícuotas de cada muestra	69
Anexo 10. Proceso de Inmunofluorescencia Directa.....	65

RESUMEN

Cryptosporidium spp hace parte de la familia Cryptosporidiidae y del orden Eucoccidiorida. *G. duodenalis* hace parte de la familia Hexamitidae y orden Diplomonadida. Son protozoarios con amplia distribución a nivel mundial y se encuentran relacionados con problemas digestivos en el ganado vacuno, pequeños rumiantes, animales domésticos e incluso el humano. Los afectados en mayor medida son los animales inmunosuprimidos, especialmente, los animales jóvenes de días o meses de edad pueden cursar síndrome diarreico neonatal, ocasionando importantes pérdidas económicas. Por medio de este estudio descriptivo de corte transversal cuyo objetivo fue detectar la presencia de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en pequeños rumiantes por medio de IFD en un total de 97 ovinos-caprinos de cuatro veredas de distintos municipios situados en altitudes entre los 1300 y 2500 m.s.n.m. Los datos se obtuvieron por medio de un registro epidemiológico de fincas. La descripción de las variables fue mediante análisis univariados y bivariados con pruebas estadísticas de chi cuadrado y OR, con los posibles factores de riesgo asociados a la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia*. La presencia de ooquistes-quistes en cabras fue del 27,2% y en ovejas el 9,33%. Respecto, a la presencia de quistes en cabras fue del 36,3% y en ovejas del 17,3%. Los factores de riesgo asociados fueron; el clima, tipo de explotación intensivo, la limpieza y el manejo de desecho de excretas (abono). Este estudio permitió evidenciar la prevalencia de *Cryptosporidium* y *Giardia* en ovinos y caprinos de las cuatro veredas muestreadas, contribuyendo así, al conocimiento de la situación epidemiológica de los protozoarios en cuestión.

Palabras claves: *Cryptosporidium*, *Giardia*, Inmunofluorescencia directa (IFD), factores de riesgo.

1. INTRODUCCIÓN

La producción ovino-caprina es uno de los sistemas de producción más antiguos alrededor del mundo. En Colombia, han sido de las especies que con el pasar del tiempo adquiere mayor proyección nacional por los beneficios ofrecidos en la producción de carne, lana y productos lácteos. (1) Además se considera que los costos de producción son relativamente bajos, debido a que pueden ser criados en sistemas extensivos o intensivos. (2)

Sin embargo, la producción con altos estándares de calidad y óptimas condiciones sanitarias en los establecimientos de las ovejas y cabras, son fundamentales para obtener una buena rentabilidad y que la industria sea sostenible. Los pequeños rumiantes son especies susceptibles a parásitos gastrointestinales que causan problemas digestivos que impactan directamente sobre la producción especialmente en animales jóvenes. La infección por protozoarios como *Cryptosporidium* y *Giardia* son parasitosis frecuentes en corderos y cabritos. (3)

El presente estudio de tipo descriptivo se enfocó en la identificación de los protozoarios *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis*. Y el análisis de los posibles factores de riesgo ante la presencia de estos dichos patógenos; que afectan gravemente a terneros, corderos y cabritos. Debido al aprovechamiento de los parásitos, ante la baja respuesta inmunitaria de los animales, estos logran reproducirse e infectar las células epiteliales del tracto digestivo especialmente el intestino delgado, causando diarrea y dolor abdominal, siendo la principal causa de pérdida en las explotaciones ovinas y caprinas. Este es un problema que no solo afecta la salud de los animales, sino que también impacta aspectos económicos relacionados con la baja curva del crecimiento y desarrollo de los corderos y cabritos; además, presenta un alto riesgo zoonótico al consumo accidental de agua contaminada con ooquistes-quistes infectantes de los parásitos, alcanzando gran importancia en salud pública; estudios realizados a nivel mundial determinan que los caprinos y los ovinos son fuentes potenciales de contaminación en las redes de aguas potables y por consiguiente posibles diseminadores de ooquistes-quistes que pueden causar infección en humanos y otros animales.

Con este estudio se pretende dar a conocer si factores como el clima, higiene, establecimientos, edad y fuente de agua son factores de riesgo que influyen en la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia* en ovejas y cabras, contribuyendo al desarrollo de nuevas investigaciones en el país que permitan comprender la real situación epidemiológica de la criptosporidiosis y giardiasis en los corderos y cabritos.

2. ANTECEDENTES

2.1 *Cryptosporidium spp*

Banker y Carbonell describieron por primera vez en 1974 la criptosporidiosis en ovinos. Para el año 1985 en Irán se realiza el primer estudio sobre *Cryptosporidium spp* en corderos, demostrando que 16 de 237 corderos mueren por causa de la diarrea persistente, logrando observar en la histopatología los ooquistes de *Cryptosporidium spp* en el epitelio intestinal, caracterizándose por lesiones como: déficit del crecimiento de las vellosidades, atrofia e hiper celularidad en la capa que cubre el sistema digestivo y presencia de ooquistes/trofozoitos correspondientes al ciclo de vida de éste parásito, las cuales se encuentran adheridas en la punta de las vellosidades del intestino delgado (4)

La diarrea infecciosa aguda, es un problema clínico y de producción en pequeños mamíferos, ya que, afecta en particular a corderos y cabritos de menor edad, debido a la menor capacidad que tienen de tolerar la pérdida de líquidos causada por las enfermedades del tracto digestivo, haciéndolos más susceptibles a la infección; del mismo modo, cuando existe contaminación ambiental por el parásito, así como una “inmunidad materna inadecuada”, la infección es mucho más grave. Esto ha llevado a una mayor atención de estas enfermedades por su acción enteropatógena causante de diarreas en los animales y el hombre. (5)(6)

Además, la Criptosporidiosis es un coccidio que no es fácil de diferenciar de los demás parásitos intracelulares del Phylum Apicomplexa, como: *Eimeria*, *Neospora*, *Toxoplasma*, entre otros. Ya que, aprovecha una gran cantidad de especies hospedadoras, llegando a ser alrededor de 170 especies de mamíferos. (6)

En el caso de los ovinos y caprinos las especies de *Cryptosporidium* y sus respectivos genotipos relacionados con infección gastrointestinal, se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1. Especies y genotipos de *Cryptosporidium* en ovejas y cabras

Pequeños Rumiantes	Especies de <i>Cryptosporidium spp</i>	Genotipos
Ovejas	<i>C.parvum</i> <i>C. xiaoi</i> (9)(11) <i>C. ubiquitum</i> (9),(11) <i>C. Andersoni</i> (10) <i>C. Fayeri</i> (10)	Genotipo Bovino B (7) (8) IIaA15G2R1(8) (9) IIaA22G1(8) IIA17G1R1(10) IIaA20G1 (10) IIaA24G1 (10) XIIa (12)(11)
Cabras	<i>C. Parvum</i> (7) <i>C. xiaoi</i> (14) <i>C. ubiquitum</i> (14)	IIaA17G4R1 (13) XIIa (12)(11)

Datos según registros bibliográficos. Construcción propia, Collazos DA,2019

Se puede observar que tanto *C.parvum* como *C.ubiquitum* se han visto relacionadas con infección especialmente en humanos.

Además de ser un coccidio asociado con la diarrea en los animales neonatales, la especificidad en síntomas y signos cambia por la presencia de diversos enteropatógenos tales como rotavirus y coronavirus, bacterias como *E. coli* enterotoxigénica y *Salmonella spp*. La *E.coli* se ha visto relacionada con diarrea en corderos y terneros menores de 4 a 5 días de edad y los agentes mencionados anteriormente como el *Cryptosporidium spp* se relaciona con animales de 2 a 3 semanas de edad. (6)

Para que se presente la infección entérica como un primer paso para el desarrollo de una respuesta inmune específica, se necesita de una presentación de antígeno al tejido linfóide que está asociado al intestino; antígenos que han sido descrito en células epiteliales especializadas denominadas células M, las cuales recubren parte del sistema linfático llamado Placas de Peyer. En rumiantes jóvenes y en especial

en los corderos las inmunoglobulinas IgM e IgA son las que presentan la principal actividad frente a las diferentes etapas endógenas de *Cryptosporidium spp*, actuando de forma aglutinante y destructiva de los parásitos por medio del sistema de complemento de la inmunoglobulina IgM. (6)

Por tanto, la inmunidad es el factor crucial por el cual una infección por *Cryptosporidium* no se espera que se manifieste después de 30 días de edad en rumiantes, ya que, por medio de análisis coproparásitarios y observaciones histológicas de los intestinos de pequeños rumiantes con edad superior a la mencionada, son una población que puede presentar un nivel bajo de ooquistes, y esto debido en primera instancia a la enfermedad clínica por la que curse el animal; del mismo modo, puede ser que las condiciones fisiológicas en el intestino delgado de los rumiantes adultos al no ser las ideales para el proceso de exquistación, puede presentar infección localizada pero con obstaculización en los mecanismos de reciclaje de los estadios tanto asexuales y sexuales del protozoo. (6)

Considerando que el *Cryptosporidium* presenta altas mortalidades en los animales neonatales, el tratamiento paliativo con rehidratación, absorbentes intestinales y el suministro de agentes antimicrobianos, ha sido la mejor terapia para mitigar los efectos adversos por la infección, asimismo para lograr que los animales tengan mejora, no solo se necesita de un tratamiento directo sino que es fundamental establecer procesos de higiene y sanidad en los alojamientos, iniciando con la limpieza y el cambio diario de las camas hechas en paja, para evitar que los espacios sean pequeños y cerrados e impedir la mezcla de diferentes especies de animales al igual que de distintas edades. (6) (15)

Existen dos factores importantes en la epidemiología de la criptosporidiosis de corderos, los cuales son: las condiciones climáticas ya que los ooquistes como forma infectante del parásito son resistente a diferentes temperaturas y el segundo es el bajo consumo de calostro, puesto que éste proporciona una gran cantidad de anticuerpos que le permite a los rumiantes neonatales cierta protección mientras los corderos o cabritos adquieren un sistema inmune propio. (15)

A pesar de que en los rumiantes adultos no causa graves daños en su salud, si son importantes portadores del parásito. Por lo que se requieren mayores estudios, ya que en ciertos países no hay como es el caso de Colombia o son pocos los reportes tanto de animales adultos y jóvenes que han llegado a presentar criptosporidiosis. (16)

Otro factor significativo se debe a la contaminación de las fuentes de agua, debido a la liberación directa e indirecta de ooquistes, por lo tanto si el agua de suministro para los animales no recibe algún tipo de tratamiento, puede generarse una cantidad parasitaria suficiente para causar enfermedad en animales o humanos. (16)

En particular, los ooquistes de *Cryptosporidium* resisten a diversas condiciones que se presentan en el ambiente; permaneciendo viables algo más de un año en ambiente fresco y húmedo y en la misma cantidad de tiempo sobreviven a 4°C en agua de mar. La actividad de los ooquistes se pierde por la deshidratación. Los tratamientos para eliminar el parásito del agua han sido punto importante referente al control, porque para deshacer los ooquistes del agua, ésta debe someterse a diferentes desinfectantes y a niveles elevados y por tiempos prolongados. (17) (18)

Es así, que una de las especies de *Cryptosporidium* que principalmente está asociada con brotes en corderos neonatales es el *C.parvum*; el cual genera una diarrea que puede pasar de ser leve a severa en los corderos en un rango de edad 5 a 12 días de recién nacidos, los síntomas relacionados generalmente que se presentan son: pérdida de peso y la depresión; los casos de mortalidad pueden ser bajos o altos dependiendo del cuidado, el tratamiento y las enfermedades o infecciones concurrentes que presenten los pequeños rumiantes. (19)

Por otro lado, los datos de incidencia que se tienen alrededor del mundo a cerca de la infección por *Cryptosporidium spp* en animales ha estado relacionada

principalmente con el ganado bovino. No obstante, ciertos estudios epidemiológicos concluyen que el protozoo en cuestión es común en ovejas y cabras, pero su prevalencia no es clara; de manera que la estimación de la prevalencia al Noreste de España fue de relevancia al encontrar que *C.parvum* es el agente con mayor frecuencia en los corderos diarreicos en un 45% y en cabritos en un 42%. Según otros estudios realizados en el año 2002 en Zaragoza España por Causapé et al, identificaron ooquistes en 344 corderos en los que la edad es crucial, ya que se observan tasas de infección altas entre los corderos que están entre 1 y 21 días de edad.(19)

Luego, Bergmano *et al*, realizaron en el 2005 un estudio en seis granjas de cría de cabras en Río de Janeiro para identificar la presencia de *Cryptosporidium* en las mismas, dando como resultados que de 105 animales muestreados se encontraron 5 cabras (4,8%) entre la edad de 15 días a 3 meses, infectadas por ooquistes de *Cryptosporidium spp*. En las cabras adultas no se evidencia presencia del estadio infectante, siendo así los cabritos de menor edad los más propensos a la infección por este protozoario. (20)

Además, Estudios en Bélgica para el año 2008 la prevalencia de *Cryptosporidium* en los corderos fue de 13.1% y de 9.5% en cabritos. Datos que constatan con que *Cryptosporidium spp* es un parásito común entre ovinos y cabras de cría intensiva (21)

Como tal, los pequeños rumiantes tanto en países desarrollados y subdesarrollados son de especial importancia a nivel económico por el beneficio que se puede adquirir de ellos en materiales para ropa, comida y demás usos (18). Además es común que los corderos y cabritos en las primeras semanas de vida se presente diarrea neonatal la cual ocasiona graves pérdidas económicas por la mortalidad y el retraso en el crecimiento de los animales(22). La principal manera por la que se infectan los corderos se debe al contacto con sus madres, infectándose al momento de succionar leche o cuando ingieren ooquistes-quistes estos son eliminados en la

materia fecal de animales asintomáticos, los cuales eliminan los ooquistes-quistes en bajo porcentaje y pueden contaminar tanto paredes, cercas, bebederos, comederos y demás objetos que estén en los corrales e infectar a los animales recién nacidos. (22)

Cabe señalar, que en las ovejas antes, durante y después del parto por la inmunodepresión y los cambios hormonales que se presentan, al llegar a estar parasitadas con *Cryptosporidium spp*, pueden eliminar entre 20.000 a 440.000 ooquistes diariamente. (22)

Es así, que los ooquistes se eliminan en las heces aproximadamente de 2 a 7 días en corderos y 4 días en cabritos. Están formados por una pared gruesa (80%) y una pared fina (20%) que se rompe en el momento que sale de la célula hospedadora, y que a la vez permite que los esporozoitos se liberen e invadan de nuevo células epiteliales, por lo que se produce la llamada autoinfección endógena, ocasionando persistencia de la infección. (22)

Por lo general los síntomas en los ovinos se expresan en un tiempo de 3 a 5 días y pueden llegar a prolongarse por 1 a 2 semanas. Los signos clínicos pueden ser: “materia fecal amarilla, con consistencia pastosa o líquida, dolor abdominal, deshidratación y anorexia”, generando retraso en el crecimiento del animal y pérdida de peso que puede ser hasta 2 kg en el primer mes de vida. En los cabritos suele ocurrir un adelgazamiento progresivo conocido como emaciación, sin diarrea; en consecuencia, son mayores las pérdidas económicas por la alta mortalidad de esta forma clínica y más cuando no existe un tratamiento eficaz, siendo primordial el control de las medidas sanitarias de higiene. (22)

Por otro lado, las técnicas de laboratorio son la estrategia adecuada a la hora de identificar el agente que está causando síndrome diarreico en los pequeños rumiantes, ya que no solo el *Cryptosporidium spp* puede causar dicha alteración

sino otros patógenos como, *E.coli enteropatógena*, *Salmonella*, rotavirus, *Clostridium perfringens* tipo B y C y algunas especies de *Eimeria* (22). Con respecto al diagnóstico en el intestino de pequeños rumiantes éste consiste en la observación de los diversos estadios del parásito en los “enterocitos de las microvellosidades del intestino delgado y grueso”. En el caso de las muestras coprológicas para identificación de los ooquistes-quistes consisten en técnicas de flotación con soluciones (sacarosa de Sheather, sulfato de zinc cloruro sódico), frotis coloreados con Giemsa, tinción de Ziehl Neelsen modificada y adicionalmente una técnica de alta sensibilidad y especificidad como lo es la Inmunofluorescencia Directa que permite diagnosticar los ooquistes-quistes en infecciones engañosas y/o confusas con otros posibles agentes patógenos; de igual modo es clave para estudios seroepidemiológicos en animales y humanos. (4)

Para el año 2013 en China las especies de *Cryptosporidium spp* que prevalecen en ovejas son en especial, *C. ubiquitum*, *C. xiaoi*, sin embargo en España prevalece *C. parvum* en las ovejas especialmente el genotipo (IId). Aunque *C. xiaoi* es la especie con mayor predominancia en ovejas, la presencia de la misma y de demás especies difiere según zona geográfica, como por ejemplo en Europa la especie sobresaliente es *C.parvum*. En Australia al igual que en china predomina *C. xiaoi*. En América los estudios son limitados pero se ha llegado a considerar que la especie que puede prevalecer es *C. ubiquitum*.(9)

Otro estudio realizado por Irme et al, en un estudio en Rumania diagnosticaron en 5 rebaños de ovejas positividad para *Cryptosporidium* en un 13,7% predominando las especies de *C.parvum* y *C. xiaoi* (10)

En Veracruz, México para el 2016 la prevalencia de *Cryptosporidium* en ovejas es del 67.5% y en cabras del 72.5%. En algunos lugares es frecuente encontrar que las ovejas, cabras y el ganado se crían en los mismos lugares, en condiciones pobres de higiene, lo que puede explicar la transmisión cruzada entre especies. (23)

Al igual, en el 2018, en Brasil en las ovejas, se observa prevalencia de *Cryptosporidium* en un 14.3% y en corderos un 20.3% concluyendo que al comparar con cifras de infección en ganado bovino realizadas en el mismo estudio las ovejas también son susceptibles a la infección en especial los corderos (24)

Es así, que al no existir fármacos eficaces para la Criptosporidiosis lo ideal es la aplicación de métodos inmunoprolifáticos, el más común son los anticuerpos inmunizantes presentes en el calostro de animales expuestos a la infección o hiperinmunizados, aunque en ocasiones estos no llegan a proteger a los animales frente a la infección. Por ello, lo ideal es la rigurosidad en las medidas higiénicas y sanitarias, separando los animales sanos de los infectados, evitar la acumulación de materia fecal en los alojamientos, evitar el hacinamiento y realizar la separación de animales por lotes (22)

De acuerdo a la información epidemiológica descrita anteriormente, es necesario trabajar en nuevas investigaciones en diversas regiones para conocer con más detalle las especies de *Cryptosporidium* y su distribución, esto con el fin de enriquecer el conocimiento de la transmisión de la criptosporidiosis en oveja y cabras, en especial en Colombia donde no se ha realizado ningún estudio referente al tema, que permita hacer comparaciones de prevalencia e incidencia de la criptosporidiosis con otros países (9)

2.2 *Giardia duodenalis*

La aparición de *Giardia* en cabras se describió por primera vez en 1923, de ahí en adelante se ha realizado una variedad de estudios que han permitido identificar las características de los cambios patológicos, como atrofia en las vellosidades, hiperplasia de las criptas y cambios relevantes especialmente en el yeyuno proximal y retraso en el crecimiento tanto de terneros, corderos y cabritos. Se considera la infección como tal, un proceso de carácter multifactorial al estar involucrados componentes bioquímicos, inmunológicos, genéticos y patológicos. Los signos clínicos que llegaron a presentarse en un estudio para el año 1998 fueron: pérdida

de apetito, diarrea con duración de 6 días y depresión la cual se presenta a los 8 días después del inicio de la infección (25)(26)

Es así, *Giardia duodenalis* al igual que *Cryptosporidium* es un protozoo, que se encuentra en una amplia variedad de animales, alojado en los intestinos en forma de trofozoitos y que posteriormente se convierten en quistes contaminantes del medio ambiente en especial el agua y en alojamientos que no cumplen con medidas higiénico-sanitarias adecuadas. Siendo los animales más susceptibles a esta infección los de menor edad en especial los pequeños rumiantes (27). Por ello, con el desarrollo y evolución en herramientas moleculares se ha logrado la identificación de ensamblajes característicos para cada especie animal, mejorando así la comprensión del rango de hospedadores que puede llegar a utilizar el parásito y asimismo entender las diferentes formas de patogénesis que se puede dar con cada uno de ellos (28) (27). En ovejas y cabras los principales ensamblajes (Tabla 2) involucradas en infección son:

Tabla 2. Ensamblajes de *Giardia duodenalis* en ovejas y cabras

Pequeños rumiantes	Ensamblajes de <i>G. duodenalis</i>
Ovejas	Ensamblaje A (21) AI AII (29) Ensamblaje B (30) (31) Ensamblaje E (30) (31)(32)
Cabras	Ensamblaje A (21) Ensamblaje E (31)

Datos según registros bibliográficos. Construcción propia, Collazos D.A, 2019

Bomfim et al, 2005, realizaron un estudio en Brasil para identificar el parasitismo por *Giardia duodenalis* en seis granjas de cría de cabras, donde detectaron una prevalencia de 14.3% del protozooario en animales con edades entre 1 a 3 meses, siendo la edad el principal factor de riesgo asociado con la giardiasis (20). En otro estudio similar en Italia en el 2006 los corderos entre 30 y 60 días de edad

infectados mostraron disminución en el aumento de peso, inapetencia, síndrome de malabsorción y excreción de heces malolientes sin presencia de diarrea. La infección particularmente se relaciona en algunas zonas geográficas donde se presenta diarrea. Sin embargo puede ser que el animal no llegue a presentar ningún efecto perjudicial por lo que puede pasar desapercibida. Por tanto, es necesario siempre realizar un diagnóstico diferencial en caso de que el animal no muestre aumento de peso y no responda a tratamiento con antibióticos (30)

En el 2007, en Galicia-España un estudio demostró prevalencia de *G. duodenalis* en ovejas en un 19.2% y 19.8% en cabras y según análisis de genotipado de β -giardin y glutamato deshidrogenasa revelaron el ensamblaje E siendo el más prevalente tanto en cabras como ovejas y el ensamblaje B únicamente en ovejas. Los animales adultos en el estudio no presentan sintomatología siendo importantes portadores que pueden diseminar y mantener la infección en las granjas y los rebaños. (31)

Los rumiantes pueden tener importancia en la posible transmisión zoonótica. (28), se ha observado que por ejemplo el ensamblaje E que es específico para el ganado, el ensamblaje A y el B también se ha descrito en animales de producción (29). Zhang et al, identificaron en ovejas el ensamblaje A en un 13,8%, el ensamblaje B en 6,9% y el ensamblaje E 79,3% (30).

La cría de cabras es un recurso económico importante alrededor del mundo en especial en zonas áridas, debido a la capacidad de adaptación de esta a extremas condiciones climáticas. En cuanto a la epidemiología de *G. duodenalis* en cabras ha sido poco estudiada al igual que el genotipado que se puede aislar de esta especie. Por ello, no es posible afirmar hasta qué punto las cabras pueden ser riesgo relevante en la transmisión de *G. duodenalis* al humano. (32)

Por otro lado, Geurden et al, (2008), estudiaron la prevalencia en granjas de ovinos y caprinos en Bélgica por medio de la técnica de Inmunofluorescencia Directa. Los

datos de la proporción de animales que presentaron infección por el protozoo fueron de 25.5% en corderos y del 35,8% en cabritos. La prevalencia alrededor del mundo es considerable teniendo en cuenta las diferencias en la edad de los animales, el sistema de manejo, las estaciones y zonas geográficas en las que se lleven a cabo los análisis. (21)

Las altas tasas de prevalencia observadas en los estudios confirman que los animales jóvenes son los que mayormente contribuyen en la contaminación ambiental con quistes de *G. duodenalis*, ya que en el periodo de destete, el estrés ocasionado por el cambio en la ingesta de alimentos y el riesgo de adquirir enfermedades infecciosas o parasitarias predispone a que sean pocos los signos clínicos que se puedan contribuir directamente a la giardiosis y más aún cuando existe infección mixta con *Eimeria spp.*(32)

Finalmente, los quistes se pueden detectar en las heces por diversos métodos como los son: Examen directo de frotis fecal, concentración de la materia fecal con sulfato de zinc y posteriormente visualización en microscopio, Inmunofluorescencia Directa, PCR de los genes β -giardin y PCR anidada de la isoferasa de trifosfato (TPI). (26)(32)

3. MARCO TEORICO

3.1 Generalidades de los ovinos y caprinos

Los ovinos y caprinos son pequeños rumiantes que al igual que los bovinos se caracterizan por presentar un esófago amplio y musculoso que permite llevar a cabo el proceso denominado rumia, el cual consiste en expulsar el contenido del rumen hacia la boca e iniciar una nueva masticación del forraje.(33)

También, son dos especies con la capacidad de adaptarse a diversas condiciones climáticas, vegetación y manejo, razón por la cual la explotación de las mismas va en auge a nivel mundial por los beneficios que podemos adquirir de cada una, es el caso de los ovinos, los cuales son excelentes productores de lana, cuero, carne y leche dependiendo la raza. Los caprinos se caracterizan principalmente por la producción de carne y leche o algunos de los dos derivados. (34)

La llegada de las cabras a Colombia fue en el año 1524 por los españoles, quienes pretendían acabar con los cultivos cosechados por los Indígenas, lo que generó simultáneamente desplazamiento de los indígenas y las cabras hacia la Guajira, siendo el lugar de asentamiento por el clima semidesierto y los pocos daños que podía ocasionar la misma al suelo y la vegetación. De igual manera, a la vez que los españoles recorrían el territorio Colombiano los acompañaba la cabra, por ser fuente primordial de leche y carne. (35) (36)

Los recorridos hechos por los españoles fueron motivo de la formación de diferentes razas de cabras al dejar en uno u otro lugar rebaño tras rebaño donde las condiciones climáticas fueron la principal causa de las diferencias corporales en cada una, lo que permitió subdividir las según en cabras La Guajira con rebaño estimado de 1.200.000 ejemplares, La Santandereana con 260.000 y La Sabanera con 20.000 alrededor de todo el país. (36) Desde el 2007, la caprinocultura se extiende a nivel nacional por el bajo costo y la facilidad de mantenimiento. Además ofrece leche rica en nutrientes, y carne con alto porcentaje proteico; el pelo y la piel

se han utilizado para realizar carteras, cuadros, chaquetas, guantes, pinceles etc. (34)

Los ovinos, llegaron en la conquista hace más de 500 años y con el pasar del tiempo a pesar de tener una larga trayectoria en Colombia. Hasta hace no muy poco, la producción y/o explotación ovina se ha empezado a formar como una explotación técnica e industrializada permitiéndose posicionarse como un excelente negocio pecuario; debido, al valor agregado de la ganadería ovina que tiene que ver primordialmente con: con la probabilidad de poder criar mayor cantidad de animales eficientemente, la carne tiene un balance óptimo de nutrientes y omegas como también la cantidad de grasa es baja y existe alta producción de leche por parte de algunas razas. (37)

Es por eso que, a nivel Nacional ya se cuentan con más de 2 millones de ovinos, siendo mayor su producción en la Guajira pero que además ha alcanzado el interés en departamentos tales como Boyacá, Cundinamarca, Valle del Cauca, Santander y Cesar. Actualmente, la carne de cordero es una de las mayores salidas económicas de los ganaderos Colombianos ya que son diversos los países que anhelan este tipo de producto. Por mencionar algunos esta Dubai, Arabia Saudita, China y Estados Unidos. Sin embargo, aún faltan mejoras a nivel genético, técnico y en tecnología que permitan garantizar calidad de la carne en futuras exportaciones. (37)

3.2 Enfermedades parasitarias más frecuentes

Las parasitosis en ovinos y caprinos son de las principales pérdidas económicas en la producción de pequeños rumiantes. Las investigaciones de las mismas son pocas en el país, ocasionando un vacío en el conocimiento que limita la explotación ovino-caprina, por los diversos parásitos gastrointestinales principalmente los denominados helmintos y protozoarios. (38)

Dentro del grupo de los helmintos o nematodos se encuentran: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus spp*, *Cooperia spp*, *Strongyloides spp*, *Oesophagostomum spp*, *Ostertagia spp*, *Trichuris spp*, *Capillaria spp*. En cestodos, es frecuente la presencia de *Moniezia spp*. Con relación a los trematodos, las infecciones por *Fasciola hepática* son comunes después de temporada de lluvias, debido a que su forma infectante denominada Metacercaria está presente en plantas acuáticas, por lo tanto, el animal adquiere la misma por el consumo de agua o pasto contaminado. (34)(38)(39)

Cuanto a los protozoarios, en los pequeños rumiantes es frecuente la coccidiosis abomasal ocasionada por las diferentes especies de *Eimeria*, las cuales son ampliamente documentadas en la literatura científica como uno de los principales patógenos causantes de diarrea en los mismos y que se caracteriza por su estadio infeccioso denominado ooquiste esporulado.(40)

Del mismo modo, dentro del filo apicomplexa, *Cryptosporidium spp* en los últimos años ha sido el enteropatógeno de mayor mortalidad y morbilidad en los animales domésticos más jóvenes a nivel mundial. Esto debido principalmente a los avances recientes en investigación, han determinado que efectivamente es un protozoario que afecta a una amplia variedad de mamíferos incluido el hombre. El estadio infectante también es un ooquiste esporulado, que logra diferenciarse del género *Eimeria* por el número y distribución de los esporozoitos, la forma, el tamaño y la apariencia de la pared que lo componen. (40)(41)

Finalmente, el protozoario flagelado *Giardia duodenalis* se ha descrito en una variedad de animales tanto domésticos como salvaje. Genera diarrea inmensurable y grave en los corderos y cabritos los cuales eliminan los quistes (estadio infectante) al medio ambiente. Por tal motivo, se le ha considerado de mayor importancia en la producción de pequeños rumiantes debido a los niveles de infección elevados que se han llegado a presentar en la población de interés, manteniéndose presente como un parásito frecuente hasta hace algunos años solo del ganado vacuno. (41)

3.3 Descripción *Cryptosporidium spp* en ovejas y cabras

3.3.1 Taxonomía

Reino: Protista

Filo: Apicomplexa

Clase: Conoidasida

Subclase: Coccidiasina

Orden: Eucoccidiorida

Suborden: Eimeriorina

Familia: Cryptosporidiidae

Género: *Cryptosporidium*

Especies presentes en ovinos y caprinos: *C. parvum*, *C. xiaoi*, *C. ubiquitum*, *C. andersoni*, *C. fayeri* (42)

3.3.2 Morfología

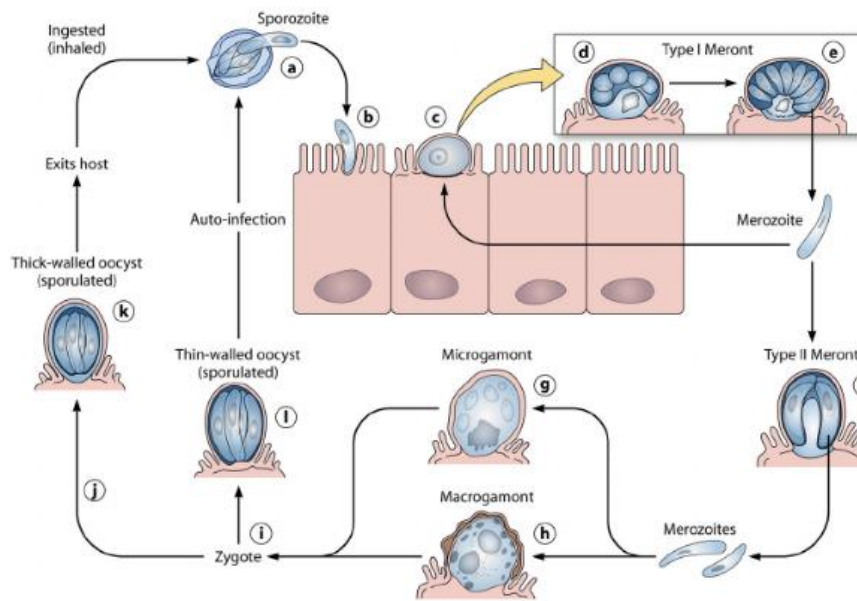
Los ooquistes se caracterizan por una pared gruesa. Tienen forma ovoide con tamaño de 5 - 4,5 μm y contienen 4 esporozoitos. Existen dos tipos de ooquistes, los cuales son: 1) Los ooquistes infectantes, presentan las características anteriormente descritas y además se caracterizan por mantenerse viables en el medio ambiente de 3 a 6 meses a diversas temperaturas; resistentes a tratamientos físicos y químicos en los métodos de limpieza y desinfección que se llevan a cabo en las instalaciones de producción agropecuaria. 2) Los ooquistes no infectantes hacen parte de alrededor del 20% de los ooquistes que tiene pared fina, y que al momento de salir de las células epiteliales del intestino delgado ocurre la liberación de los esporozoitos invadiendo nuevas células hospedadoras denominándose autoinfección endógena, lo que hace persistente la infección en los corderos y cabritos.(22)

3.3.3 Ciclo de vida

El ciclo ocurre en un solo huésped y comienza con la ingesta de ooquistes a causa de la contaminación fecal en pastos, heno, agua de consumo para los animales. Al momento de ingerir los ooquistes ocurre el exquistamiento, puesto que, la acción especialmente de sales biliares y la temperatura de 37°C produce la liberación de 4 esporozoitos en forma de huso, con motilidad para deslizarse, adherirse e invadir los enterocitos apicales; posteriormente, se establece una vacuola parasitofórica en la superficie intestinal. (43)

Después, de la unión entre esporozoito y la célula hospedera se genera un movimiento de organelos secretores (micronemes y gránulos densos) formando así envoltura y vacuola en el parásito, adquiriendo de esta manera el esporozoito una forma esférica. Seguido por un ciclo asexual, en el que primero se encuentra la diferenciación y como segunda instancia la formación de trofozoito, el cual tiene la capacidad de adherirse a las microvellosidades intestinales y ocasionar en ellas alargamiento. Luego, de los trofozoitos pasar por el proceso de mitosis, se forman los merontes tanto de tipo I y tipo II. Los de tipo I producen de seis a ocho merozoitos de forma similar a los esporozoitos y se encargan de parasitar células vecinas del intestino delgado convirtiéndose nuevamente en trofozoitos e implementar por segunda vez la fase asexual o por el contrario conformar los merontes tipo II, los cuales se caracterizan por desarrollar cuatro merozoitos, para dar paso al ciclo sexual con el desarrollo de los macrogametos y microgametos que al momento en que se fertilizan desencadenan la única etapa de meiosis en el ciclo de vida dando origen al cigoto. Finalmente, el cigoto pasa a ser ooquiste de pared gruesa que van a ser excretados al medio ambiente o de pared delgada que se separa de la célula hospedera, se rompe y libera los esporozoitos y provoca reinfección. (43)(44) Esquema del ciclo de vida de *Cryptosporidium spp* en la (Fig. 1)

Figura 1. Esquema del ciclo de vida de *Cryptosporidium spp*



Fuente: *Cryptosporidium* Pathogenicity and Virulence. Bouzid et al., 2013 (45)

3.3.4 Patogenicidad

Los mecanismos de los cuadros diarreicos, la pérdida de peso que cursa el animal al estar infectado con *Cryptosporidium spp* no se comprenden en su totalidad. Además. La cantidad colosal de especies que infecta y la preferencia a diferentes tejidos según el huésped dificulta la verdadera interacción que ocurre entre huésped y parásito. (46)

En el caso de los ovinos y caprinos el tejido de preferencia por *Cryptosporidium spp* es el intestino delgado. En las dos poblaciones de interés los signos clínicos aparecen en un tiempo de 2-7 días con infección en los enterocitos intestinales por esporozoitos resultantes por la ingesta de los ooquistes de pared gruesa. Las formas endógenas multiplican en el intestino generando una diseminación de la infección no sólo en el intestino delgado y grueso sino que además eventualmente en mucosa gástrica, conducto biliar, vesícula biliar y abomaso en el caso de los rumiantes. (46)

Según, como se dé la distribución de la infección se puede definir la intensidad con la que se den los signos clínicos porque por ejemplo, si se habla de infección en el intestino proximal generalmente ocurre diarrea acuosa. En cambio, en el intestino grueso suele ser asintomática, del mismo modo ocurre con la infección en la región pilórica o el abomaso. (46)

La división múltiple asexual (esquizogonia o merogonia) en los enterocitos apicales llega a ocasionar atrofia y unión de las vellosidades intestinales e hiperplasia de las criptas. Lo que conlleva a pérdidas enzimáticas del sistema digestivo, por la sustitución de las células anteriormente dichas por células mononucleares con poca absorción de azúcares y muy poca capacidad enzimática. (22)(44)

La utilización de modelos tanto *In vivo* e *In vitro* en diversas especies de animales han permitido tener a detalle aspectos inflamatorios y secretorios del síndrome diarreico. Además, de conocer que los mecanismos son multifactoriales por los efectos del endoparásito a nivel inmunológico e inflamatorio en el huésped.(44) Se ha demostrado que el uso del Calostro en los neonatos reduce el desprendimiento de ooquistes y las manifestaciones clínicas debido a que esa “primera leche” de las ovejas o cabras se derivan anticuerpos policlonales hiperinmunes que al ser ingeridos en a las 24 horas de vida del animal se secreta posteriormente en el intestino va a brindarle protección inmune al ser un inmunizador pasivo por uno o dos meses. (46)(47)

3.3.5 Factores de riesgo

La infección por *Cryptosporidium spp* en los corderos y cabritos son un potencial peligro de diseminación de ooquistes en el medio ambiente, ya que como bien se ha descrito con anterioridad la particularidad de los mismos se debe a la resistencia frente cambios de temperatura y sustancias de limpieza y desinfección de áreas, por tanto, se enfatiza utilizar prácticas de manejo rigurosas para controlar la infección.(48)

Según el estudio realizado por Mohammed et al, (1999) en el sureste de Nueva York describen que dentro de los factores con menor riesgo asociados a la infección antes del destete son: Presencia de ventilación en el alojamiento ya que observaron que los neonatos criados al aire libre tenían cinco veces menor probabilidad de infectarse con *Cryptosporidium spp*, existe la misma probabilidad con los alimentos sustitutos de la leche. Cuanto al cambio diario de las camas es una actividad significativa para disminuir el riesgo de infección al igual que la limpieza general que se realice en las áreas de alojamiento. La alimentación de corderos y cabritos distinta al calostro tiene un riesgo mayor de infección. Asimismo, si nacen en lugares con piso de concreto las probabilidades de infección son tres veces menores. (48)

En Zaragoza Noreste de España los factores predominantes tienen que ver con la edad, ya que, según la investigación por Causapé et al, (2002), las mayores tasas de infección son de los neonatos entre 1 y 21 días de vida y que las intensidades de la infección disminuyen con la edad, debido a los bajos porcentajes de excreción de ooquistes en corderos de 22 a 90 días de un 13%, en comparación con los corderos entre 1 -7 días de edad siendo del 64%. Al igual, puntualizan que la contaminación en las áreas postparto es fundamental porque generalmente los animales adultos cursan con infección asintomática. De manera que, al momento de una madre tener cría y los corderos estar permanentemente con ellas se infectan fácilmente. (19)

3.3.6 Epidemiología

En 1987 se realizó el primer estudio de infección por *Cryptosporidium* en pequeños rumiantes. Con el tiempo se fueron realizando más investigaciones en ovejas y cabras que presentaban criptosporidiosis en diferentes zonas geográficas en las que existe variación de prevalencias entre una y otra especie, por lo tanto, el número de casos que se presentaron o se estén presentado en los animales por este agente etiológico no se conoce con exactitud. La importancia que tiene el parásito tiene que ver primero, con las tasas de mortalidad y morbilidad en el ganado joven al ser el

principal enteropatógeno causante de diarrea neonatal. Segundo, al ser una enfermedad zoonótica y que se ha visto asociada principalmente con una alta mortalidad en pacientes inmunocomprometidos. La diseminación de los ooquistes por parte de los animales infectados en este caso pequeños rumiantes se dice que son la mayor fuente de contaminación ambiental. (19)

La mayoría de documentación existente sobre la presencia del agente en cuestión está relacionado con los bovinos, de modo que la incidencia en ovinos y caprinos es generalizada. En los pocos estudios en la población y los parásitos de interés las prevalencias varían. En Zaragoza, España los rangos de edades determinar que a mayor edad, menor porcentaje de infección, ya que, en corderos de 1-7 días de edad la prevalencia de *Cryptosporidium* fue del 67%, de 8-14 días el porcentaje de animales infectados fue del 76%, de 15-21 días se presentó el 57% y en el rango de 22-90 días fue del 23%. La Identificación de ooquistes en el estudio se llevó a cabo por medio del método de concentración de heces con formalina y acetato de etilo. Posteriormente, frotis del sedimento teñido con Ziehl-Neelsen modificada. (19)

En Rio de Janeiro, el procedimiento para 105 muestras de materia fecal consintió, primero en la técnica de flotación seguido por la tinción de safranina-azul de metileno. Realizaron muestreo en animales jóvenes y adultos evidenciando que las cabras adultas no se detectaron ooquistes de *Cryptosporidium*. Mientras, que en los cabritos la prevalencia fue de un 10.2% en el rango de edad entre 15 días a 3 meses. (20)

En la india específicamente en el distrito de Jammu la prevalencia en corderos fue del 45% y el grupo de edad con mayor de incidencia fueron los menores de un mes con un 65%, en el rango de 1-3 meses el porcentaje fue del 37%.(49)

Finalmente, en Veracruz México de 80 ovejas muestreadas el 67.5% presentaban infección y de 80 cabras un 72.5% fueron positivas para la infección por *Cryptosporidium spp.* (23)

3.3.7 Control

Son pocos los tratamientos autorizados para la infección de *Cryptosporidium*, debido a la poca efectividad de diversos fármacos o antiprotozoarios que se han probado en terneros y ratones particularmente. Por lo que, sigue siendo tema de investigación comprender mejor la biología y la composición del parásito para asimismo contribuir en el surgimiento de nuevos medicamentos que tengan mecanismos puntuales frente al ciclo de vida.(6)

Por consiguiente, se debe buscar prevenir la criptosporidiosis con buenas prácticas de manejo, mantener condiciones óptimas de higiene sanitarias, adecuada nutrición, evitar hacinamiento, aislamiento de animales sanos de los enfermos, control en las diferentes especies impidiendo el alojamiento de varias especies en un solo corral y sus grupos etarios evitando juntar los adultos con los neonatos, tener corrales especiales para parideros, corrales individuales para cada cordero y cabrito, tratamiento del agua de bebida, lavado de todas las instalaciones son los métodos más efectivos para evitar la contaminación con ooquistes de *Cryptosporidium*.
(6)(50)(51)

3.4 *Giardia duodenalis* en ovejas y cabras

3.4.1 Taxonomía

Reino: Protista

Subreino: Protozoa

Phylum: Sarcomastigophora

Subphylum: Mastigophora

Clase: Zoomastigophorea

Orden: Diplomonadida

Familia: Hexamitidae

Género: *Giardia*

Especie: *G. duodenalis* (52)

3.4.2 Morfología

Giardia es un protozooario flagelado que se caracteriza por presentar dos formas de vida, el trofozoito y el quiste. Los trofozoitos miden de 9-21 μm de largo por 5-15 μm de ancho, tienen forma piriforme con ocho flagelos, los cuales son: cuatro laterales, dos ventrales y dos caudales permitiendo la movilidad del parásito. También, presentan un disco ventral, su función es ayudar al parásito a ensamblarse en las células epiteliales intestinales, cuerpos parabasales situados especialmente en la línea media, dos axonemas, dos núcleos y finalmente un endosoma central. (52)

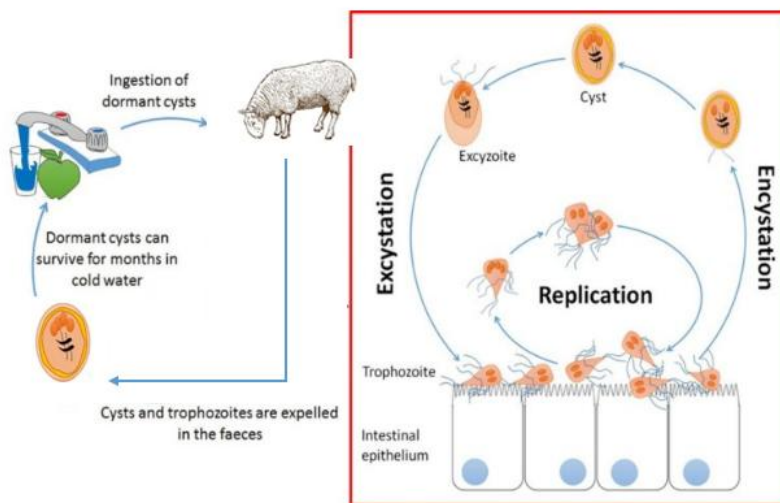
Los quistes son el estadio infeccioso, tienen forma ovalada miden de 8-14 μm . Cada quiste tiene en su interior cuatro núcleos si son maduros y dos núcleos al ser quistes inmaduros; flagelos enrollados al igual que los axonemas. Es resistente a cambios ambientales, pero singularmente al calor son poco viables, a diferencia de cuando se localizan en el agua fría pueden ser infectantes por un período de 16 días.(52)

3.4.3 Ciclo de vida

La ingesta de los quistes de *Giardia* desencadena el proceso de exquistación seguido por la colonización del intestino delgado por la acción de los trofozoitos, los cuales experimentan cambios en la morfología que les permite mantener viabilidad fuera del intestino; puesto que, la enquistación (formación del quiste) de los mismos es el estadio que se encuentra en el medio ambiente, ya que los trofozoitos también son eliminados en las heces pero no sobreviven fuera del organismo del animal.(52)
(53)

La exquistación ocurre por la exposición principalmente al pH ácido del estómago. Luego, el paso al intestino delgado con la ayuda de las proteasas pancreáticas como la quimiotripsina y tripsina favorece el desarrollo de los trofozoitos (forma vegetativa), y comienzan a replicarse en las criptas del duodeno. (53) En la medida en que ocurre la replicación de cada trofozoito, se comienza el ciclo de enquistación por la exposición a las secreciones biliares, que posteriormente va a dar paso a dos fases de enquistación (la temprana y la tardía), completándose la fase temprana en un tiempo de 10 horas donde participa la síntesis intracelular y todos los componentes necesarios para el debido transporte de las partículas que van a componer la pared del quiste. La fase tardía concluye a las 16 horas y el proceso consiste en la formación de la pared del quiste y una serie de proteínas específicas del proceso de enquistación del parásito. (28)

Figura 2. Esquema del ciclo de vida de *Giardia duodenalis*



Fuente: Giardiasis from proteomics to pathogenesis. Dubourg et al, 2018. Esquema Adaptado (54)

3.4.4 Patogenicidad

Giardia es un protozooario flagelado causante de diarrea alrededor del mundo en animales y el humano. Al momento de ocurrir la infección por este agente, según

estudios describen que es común el síndrome de malabsorción en los corderos y cabritos, y esto debido a la atrofia de las vellosidades y reducción en el transporte de moléculas mediante las células epiteliales que cubren el tubo digestivo, resultando en la deficiencia enzimática digestiva de por ejemplo: las lipasas, lactasas y proteasas. (55)

La patología además cursa en pocas ocasiones con infiltración eosinofílica, un leve aumento de los linfocitos intraepiteliales y aumento en la secreción de moco, el cual según un estudio por Ponce Martha et al, es una secreción que protege el epitelio intestinal contra la acción de los trofozoitos de *Giardia* al interferir con la unión de los mismos a las células epiteliales, teniendo en cuenta que el estadio de trofozoito al tener la capacidad de secretar proteinasas contribuye en las lesiones del epitelio intestinal; en primera instancia rompiendo la inmunoglobulina IgA y segundo generando daño en las células epiteliales. (56)

Otros mecanismos relacionados tienen que ver con la interrupción en el intestino delgado del borde de cepillo y el proceso inmunológico, donde la respuesta de la inmunidad innata junto la inmunidad adquirida que se componen de las células humorales y celulares para cumplir con la función de controlar la infección. Los anticuerpos específicos son: IgM, IgA e IgG, al igual que los linfocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos. (52)

Como tal, es poco lo que se sabe sobre la patogénesis de *Giardia* en las ovejas. Debido a la variación que presenta la misma en los corderos y cabritos, porque en diversos estudios la diarrea es prolongada y la reducción del crecimiento en corderos son a causa de la infección por *Giardia*. No obstante, se han presentado casos en los que el animal no padece efectos que perjudiquen su salud y crecimiento. (30)

3.4.5 Factores de riesgo

La presencia de *Giardia duodenalis* al igual que *Cryptosporidium spp* se asocian principalmente con pérdidas económicas, ocasionadas por la diarrea que puede llegar a generar en los animales de producción, como también la muerte especialmente en la población neonatal de los pequeños rumiantes. Teniendo en cuenta que los animales adultos que resulten infectados van a actuar sólo como reservorios asintomáticos del parásito, la infección pasa por desapercibida, provocando que al no tener una adecuada higiene en los alojamientos de los animales ocurra diseminación de quistes en el agua de consumo, pastos, alimentos etc. Lo que origina un posible riesgo de infección para los humanos (transmisión zoonótica) y los animales considerando que la dosis infecciosa son alrededor de 10 quistes de *Giardia* o 10 ooquistes-quistes de *Cryptosporidium spp*. (57)(28)

Las situaciones o circunstancias que aumentan la probabilidad de infección por *Giardia* en las granjas y lugares de producción ovino-caprina están relacionadas fundamental con no cumplir con las Buenas Prácticas Ganaderas, que permiten la inocuidad de áreas para el bienestar de los animales y asimismo evitar o mitigar la presencia de protozoarios o agentes patógenos que afectan a el animal y muy posiblemente pueda llegar a ocasionar perjuicios al ser humano (58)

Los factores de riesgo involucrados son: Entrada de animales nuevos sin control, la higiene en los alimentos, el origen del agua para los animales si es tratada o no, manejo y cuidado de los animales en especial si se tienen diferentes animales en la granja la contaminación cruzada es un factor determinante, control de fómites, manejo del estiércol, manejo de personal, rotación de potreros, tipos de alimento,

ingesta de calostro se asocia de manera positiva en la inmunización primaria del animal, la limpieza y desinfección constante de las áreas.(58)

3.4.6 Epidemiología

Giardia duodenalis es el protozooario más común alrededor del mundo que afecta a los humanos y a una amplia variedad de animales salvajes y domésticos considerándose una enfermedad zoonótica. Para determinar la epidemiología es importante entender el rango de huéspedes, los ensamblajes, el potencial de transmisión entre especies, factores de riesgo relacionados con la exposición al patógeno. Por lo tanto, los avances de las herramientas moleculares han posibilitado realizar aproximaciones de la epidemiología sobre *Giardia* en diversos países. (59)

La presentación de giardiasis en ovejas y cabras en un estudio realizado en China, identificaron los ensamblajes A con un 13,8%, B el 6,9% y el E un 79.3%. Los datos moleculares con los años han revelado la presencia de 7 ensamblajes de *Giardia duodenalis* (A-G) entre los que se han visto asociados en las infecciones en humanos son principalmente el A y B, los demás ensamblajes como son el C, D, E, F, G los cuales aparentan tener especificidad por determinada especie animal. (60)

Los datos epidemiológicos de diversas investigaciones documentan la presencia de *G. duodenalis* en pequeños rumiantes manifestando que la prevalencia de este protozooario varia de 1.5% a 55.6% en ovejas y 12.3% a 42.2% en cabras. Adicionalmente, los ensamblajes que comúnmente se han confirmado en ovejas y cabras han sido: El A, B y E, siendo éste último el principal en la mayoría de países. (60)

Determinar la epidemiología de *G. duodenalis* y las especies de animales involucradas en la posible transmisión en humanos sigue viéndose comprometida por las pocas investigaciones de casos, el escaso control de los protozoarios y las frecuentes infecciones que se presentan con una variedad en los ensamblajes y subtipos lo que ha impedido la comprensión de la epidemiología molecular y la contaminación ambiental por los quistes del mismo. (59)

3.4.7 Control

El control de la infección por *G. duodenalis* presenta ciertos obstáculos como lo son: la biología del parásito, la distribución de ensamblajes entre especies, la transmisión del agente patógeno, los factores de riesgo que inciden en la presencia de los quistes y las respuestas clínicas que varían según el sistema inmune del animal. Por lo tanto, es necesario instaurar diferentes estrategias de control que mitiguen la exposición a heces contaminadas con quistes. Estrategias tales como: realizar tratamiento y filtración a fuentes hídricas, realizar un adecuado manejo de excretas, evitar juntar especies diferentes y de distintos grupos etarios, mantener protocolos de limpieza y desinfección, estricta higiene personal de las personas encargadas de los animales, separar los animales enfermos de los sanos, desparasitar adecuadamente a los animales entre otras especificaciones que son de relevancia al tratarse de un protozoario en el que sus quistes son resistentes a diversas condiciones climáticas, por lo que la contaminación ambiental y la higiene deficiente son uno de los mayores retos y más cuando no existen tratamientos efectivos o vacunas para evitar la infección por este patógeno. (50)(52)

3.5. Diagnóstico de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis*

Son diversas las técnicas de diagnóstico disponibles para detectar *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis*. Existen desde básicas técnicas de tinción, uso de anticuerpos, enzimas, como herramientas moleculares complejas que han permitido comprender

detalladamente variaciones genéticas en los protozoarios, y de esta manera entender la epidemiología e implementar nuevas medidas de prevención frente a estos patógenos. (61)

De las tinciones convencionales, se dispone de: la tinción modificada de Ziehl-Neelsen, tinción negativa de Heine, fenol de auramina, azul de metileno de safranina y verde malaquita, para detección de *Cryptosporidium*. (62)(63). Para *Giardia*, montaje directo, tinción con yodo y Giemsa (61).

En los métodos inmunológicos para la detección tanto de ooquistes-quistes, comúnmente es utilizada la Inmunofluorescencia Directa (IFD).(64). En la que la sensibilidad y especificidad es mayor que las tinciones convencionales. Otros ensayos son: la Inmunofluorescencia indirecta, ELISA e inmunocromatografía. (61)

Las técnicas asociadas con el análisis de ácidos nucleicos para su respectiva detección y genotipificación se cuenta con: PCR, Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa e hibridación in situ fluorescente (FISH). (61)

3.5.1 Inmunofluorescencia Directa

La fluorescencia es la capacidad que tiene ciertas moléculas que, al momento de ser irradiadas con energía electromagnética, emiten radiación a una longitud de onda específica para su correspondiente cuantificación. En el caso de los fluorocromos tiene un espectro de emisión y excitación característica. En los kits comerciales de esta técnica las moléculas que se fijan al anticuerpo como por ejemplo la fluoresceína o también denominada FITC por medio del uso de la Luz UV permiten su respectiva detección, la cual presenta una absorción de 495 nm (nanómetros) y una emisión 520 nanómetros generando un color verde brillante.(65)

La Inmunofluorescencia Directa utiliza anticuerpos monoclonales anti-*Cryptosporidium* y anti-*Giardia* marcados con un fluorocromo (FITC), dirigidos contra los antígenos de *Cryptosporidium* y *Giardia* presentes en la muestra. El kit generalmente utilizado a nivel de investigación es el MERIFLUOR ®

Cryptosporidium / *Giardia* de Meridian Biosciences, el cual detecta de manera rápida y precisa tanto los ooquistes-quistes de *Cryptosporidium* y *Giardia*, respectivamente. Permitiendo la visualización de los mismos y proporcionando un diagnóstico definitivo. Teniendo en cuenta que, existen diversos métodos como las tinciones convencionales, aspirados de flujo duodenal y biopsias del intestino delgado que presentan una sensibilidad baja y son invasivos. De manera que, para detectar la presencia de los estadios infectantes de los dos protozoarios. Algunos estudios han considerado la prueba MERIFLUOR® como un “estándar de oro” por las tasas de sensibilidad y especificidad del 100%.(66)(67)

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Detectar la presencia de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en corderos y cabritos por medio de la técnica de Inmunofluorescencia Directa en cuatro granjas localizadas entre los 1300 y 2500 m.s.n.m

4.2 Objetivos específicos

Identificar *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en heces de corderos y cabritos de 1-4 meses de edad.

Determinar los factores de riesgo de la presencia de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en el área de muestreo.

Realizar un análisis de los factores predisponentes a la presencia de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en ovejas y cabras de granjas localizadas entre los 1300 y 2500 m.s.n.m.

5. METODOLOGÍA

5.1 Tipo de investigación

El presente estudio es descriptivo y de corte transversal.

5.2 Población

Ovejas y cabras entre 1 a 4 meses de edad, ubicadas en granjas localizadas entre los 1300 y 2500 m.s.n.m

5.3 Tamaño de la Muestra

La muestra obtenida fue de 97 animales entre ovinos y caprinos de tres municipios del Departamento de Cundinamarca y un municipio de Boyacá. El tamaño de la muestra y la selección de las fincas fueron por conveniencia, por la colaboración del dueño y el ingreso a cada una de las propiedades, además se dependía de la población tanto de corderos y cabritos en el rango de edad establecido accesibles para el muestreo.

5.4 Recolección de la información

Se realizó un registro de fincas (Anexo 1), en el que se incluyó, información relacionada con el Municipio, vereda, clima, hábitat de los animales, los tipos de producción y explotación, fuente de agua, tipo de alimento, limpieza, desinfección y desecho de excretas. Con el fin de establecer las posibles variables asociadas a la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia*.

5.5 Toma y recolección de las muestras

Se recolectaron 97 muestras de corderos y cabritos, directamente del recto del animal, obteniendo 15 gramos de materia fecal. Cada muestra se colocó en tubos de tapa rosca debidamente marcados y refrigerados para luego ser procesadas en el menor tiempo posible. Anexo 2.

5.6 Procesamiento de las muestras

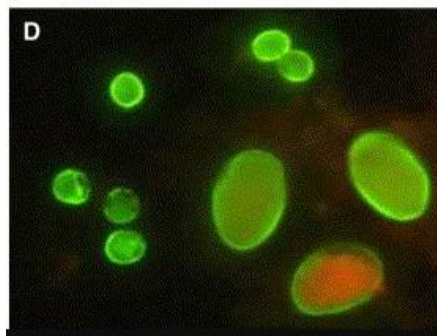
5.6.1 Flotación de ooquistes-quistes

La flotación de ooquistes-quistes a partir de las muestras de materia fecal de corderos y cabritos, consiste en: hacer flotación con solución azucarada, pesando 15 gramos de la materia fecal; luego, se agrega para esa cantidad 35 ml de agua destilada para lograr homogeneizar la muestra, Anexo 3. Posteriormente, se pasa por una gasa y un embudo dos veces, Anexo 4. A continuación, el líquido resultante de cada muestra se coloca en tres tubos Falcon de 15 ml. Después, los tubos Falcon se completan con agua destilada, Anexo 5. Posteriormente, se centrifugan a 2500 rpm durante 15 minutos; pasado el tiempo se desecha el sobrenadante; a la vez, se le adiciona solución azucarada de Sheather hasta completar 15 ml y se homogeniza, Anexo 6. Nuevamente, se centrifuga a 2500 rpm por 20 minutos; seguidamente, se toma de los respectivos tubos 4 ml de la porción más superficial del sobrenadante puesto que, es donde se van a encontrar los ooquistes-quistes y quistes en flotación, éste se adiciona en 10 ml de agua destilada. Anexo 7. Una vez más, los tubos se centrifugan a 2500 rpm durante 15 minutos; finalmente, se desecha el sobrenadante y se recuperan los pellet, Anexo 8. Los cuales se almacenan en 500 ul de agua ultra pura en tubos eppendorf de 1.5 ml. Anexo 9. Finalmente, la alícuota queda lista para realizar IFD. Fayer et al, (2006). (68)

5.7 Pruebas diagnosticas

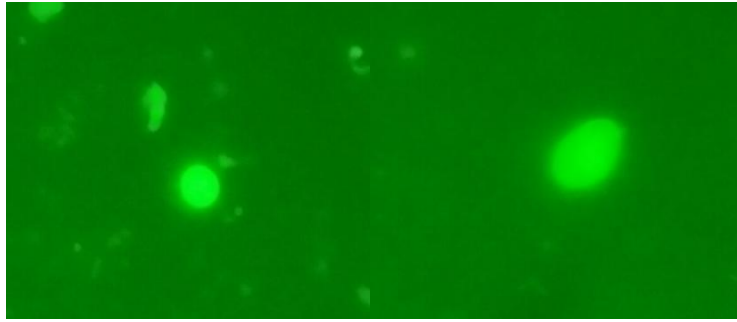
Para la detección de los ooquistes-quistes de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis*, se emplea la técnica de Inmunofluorescencia Directa, utilizando el Kit de MERIFLUOR, el cual contiene el reactivo de detección, la tinción de contraste, el tampón de lavado 20X, control positivo, control negativo y medio de montaje. El procedimiento consiste: colocar 2 ul de control positivo y control negativo en sus respectivos pocillos, de igual manera adicionar la misma cantidad de la muestra en cada pocillo de la lámina; posteriormente, se dejan secar completamente a temperatura ambiente por 45 minutos; luego, se adiciona a cada pocillo una solución del reactivo de detección y de contraste (2 ul); el siguiente paso es incubar las láminas en una cámara húmeda durante 30 minutos a temperatura ambiente (importante protegerlos de la luz). Después, se lavan las láminas con un suave chorro de tampón de lavado 1X hasta retirar el exceso de los reactivos (no dejar secar la lámina); por último añadir medio de montaje a cada pocillo y colocar un cubreobjetos; finalmente, observar al microscopio de fluorescencia cada pocillo en un aumento de 400X en microscopio de fluorescencia ZEISS Primo Star iLED. Fig. 3, Fig. 4. Anexo 10

Figura 3. Ooquistes-quistes de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* en IFD



Fuente: An updated Review on *Cryptosporidium* and *Giardia*, Huang D., 2006

Figura 4. Ooquistes-quistes de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* en IFD



Fotos de autoría propia, Collazos DA, 2020

5.8 Programas utilizados

EPI INFO versión 7.2.3.1, WinEpi, EXCEL - 2013 y WORD - 2013.

5.9 Hipótesis

Las condiciones climáticas y de higiene en los animales contribuyen a la presencia de ooquistes-quistes de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* respectivamente.

5.10 Variables

5.10.1 Variable dependiente

La presencia de ooquistes-quistes de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en los corderos y cabritos depende contundentemente del tiempo de infección parasitaria, la carga parasitaria con la que estén cursando, el tipo de nutrición y la calidad del agua.

5.10.2 Variable independiente

Como variables independientes se tomó en cuenta la especie (cabras y ovejas), la edad (meses), el sexo (macho o hembra), hábitat (establos, libres y rediles), fuente de agua (Municipal o pozo), propósito (carne, lana y leche), tipo de Explotación (extensiva e intensiva), veredas muestreadas (Mesitas del caballero, Rio arriba, San Antonio y San José, Clima (cálido o frío).

5.11 Criterios de exclusión

Muestras que no estuvieran bien rotuladas, sin refrigeración. Fincas sin encuesta diligenciada.

5.12 Criterios de inclusión

Muestras adecuadamente rotuladas, refrigeradas y que provenían de fincas con encuesta diligenciada con datos como la edad, el sexo, alojamiento, Agua de bebida, si esta provenía de pozo, estanque o era municipal, propósito: carne, leche o doble propósito.

5.13 Técnica de análisis

La descripción de las variables se realizó por medio del análisis univariado, obteniendo así frecuencias relativas por cada variable cualitativa. Posteriormente, se realizaron análisis bivariados con pruebas estadísticas, tales como: prueba exacta de Fisher, chi cuadrado, razón de probabilidad (OR) e intervalos de confianza (IC) del 95%, y así determinar la asociación o significancia estadística de las distintas variables como posibles factores de riesgo para la presencia de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis*.

6. RESULTADOS

De las cuatro fincas empleadas por conveniencia para el respectivo estudio, se obtuvo un total de 97 muestras de materia fecal de pequeños rumiantes, 26,8% (26/97) fueron positivas para la presencia de algún ooquiste-quiste de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis*, respectivamente. Fig. 5.

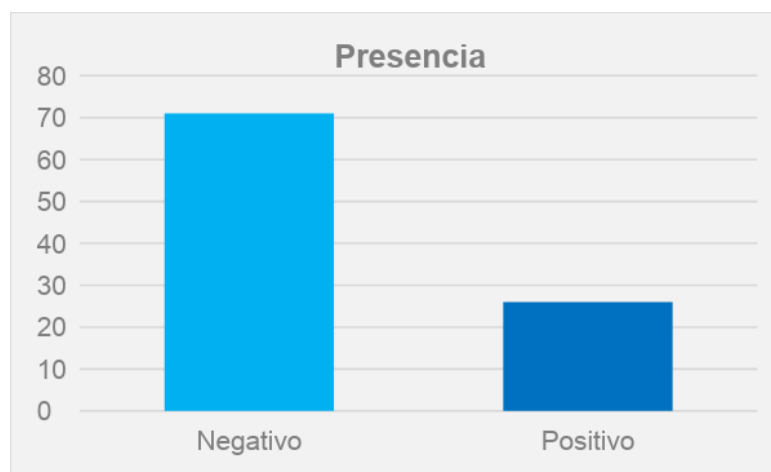


Figura 5. Cantidad de animales negativos y positivos a la presencia de por lo menos un ooquiste-quiste de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis*.

De acuerdo a la **Especie**, el total de corderos muestreados fue de 77,3% y de los cabritos 22,7%. Tabla 3. Con respecto, a la cantidad de animales muestreados, la

presencia de algún ooquiste-quiste de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* se observó, por ejemplo, que en las cabras un 38,5% (10/12) presento positividad y en el caso de las ovejas fue del 61,5% (16/59) Fig. 6.

Especie	n°	Porcentaje
Cabras	22	22,7%
Ovejas	75	77,3%
Total	97	100%

Tabla 3. Total, de especies muestreadas

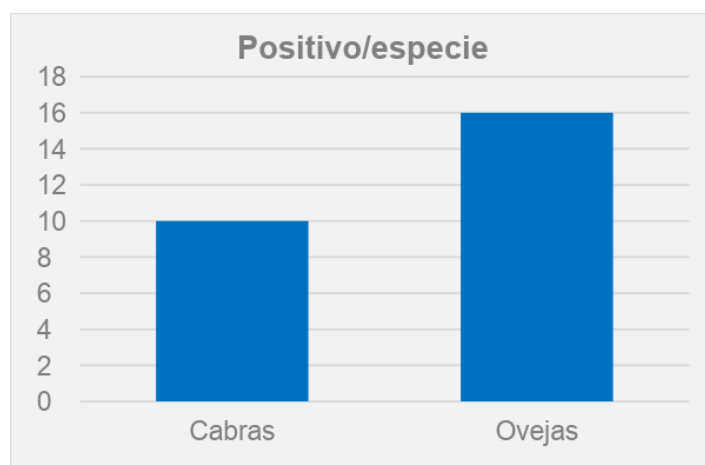


Figura 6. Cantidad de cabritos y corderos con presencia de algún ooquiste-quiste.

Respecto a la **Edad**, en los caprinos, se observó mayor número de animales muestreados en el rango de los tres meses de vida 45,4% (10/22). Tabla 4. En las ovejas al igual que en las cabras a los tres meses de edad, representándose, con el 41,3% (31/75). Tabla 5

Especie	Edad/meses	n°	Porcentaje
Cabra	1 mes	5	22,7%
Cabra	2 meses	1	4,5%
Cabra	3 meses	10	45,4%
Cabra	4 meses	6	27,3%
Total		22	100,0%

Tabla 4. Cantidad de cabritos muestreados según la edad

Especie	Edad/meses	n°	Porcentaje
----------------	-------------------	-----------	-------------------

Oveja	1 mes	14	18,7%
Oveja	2 meses	11	14,7%
Oveja	3 meses	31	41,3%
Oveja	4 meses	19	25,3%
Total		75	100,0%

Tabla 5. Cantidad de corderos muestreados según la edad

En proporción con la cantidad de cabras muestreadas, la edad con mayor presencia de ooquistes-quistes fue en el primer mes de vida 40,0% (4/5), seguido por el 30,0% (3/10) a los tres meses y posteriormente el 30,0% (3/6) animales positivos a la edad de los cuatro meses. Tabla 6.

Especie	Edad/meses	n	Porcentaje
Cabra	1 mes	4	40,0%
Cabra	3 meses	3	30,0%
Cabra	4 meses	3	30,0%
Total		10	100,0%

Tabla 6. Presencia sobre algún ooquiste-quiste de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* conforme a la edad de las cabras.

La presencia sobre algún ooquiste-quiste conforme a la población de ovejas en estudio, se observó que, la mayor cantidad de animales positivos fue en la edad de tres meses, representándose con el 43,7% (7/31). Seguido por, el 37,5% (6/19) en la etapa de los 4 meses; en el grupo de 1 mes 18,7% (3/14) fueron positivos. Tabla 7. Para las dos especies de pequeños rumiantes en la edad de los dos meses no se obtuvo presencia para ningún ooquiste-quiste de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis*.

Especie	Edad/meses	n°	Porcentaje
Oveja	1 mes	3	18,7%
Oveja	3 meses	7	43,7%
Oveja	4 meses	6	37,5%
Total		16	100,0%

Tabla 7. Presencia sobre algún ooquiste-quiste de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* conforme a la edad de las ovejas.

En cuanto al **Sexo**, en la población muestreada se observó en las cabras predominancia en las hembras del 72,7%, en comparación con del 27,2% en

machos. En las ovejas, el porcentaje de hembras fue del 56,0% y en los machos el 44,0%. Fig. 7

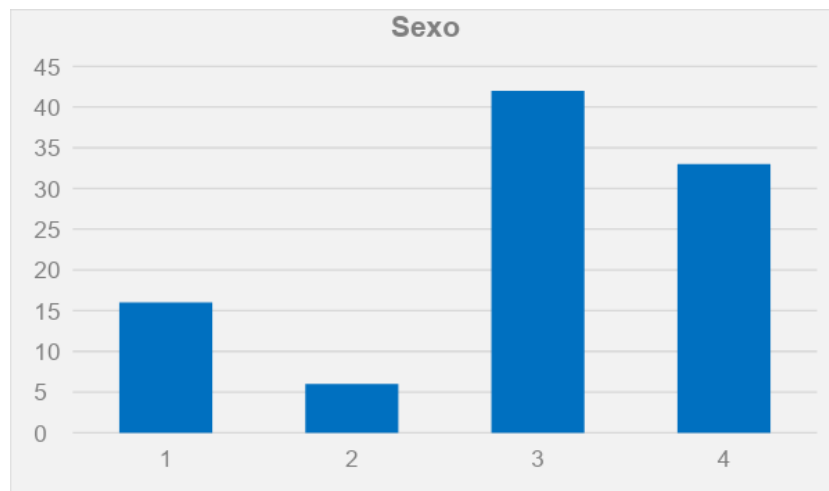


Figura 7. Proporción de animales según el sexo en las ovejas y cabras

En relación al porcentaje de cabras y ovejas según si eran hembra o macho y la presencia de algún ooquiste-quiste. En las cabras el 43,7% (7/16) de las hembras presentaron positividad y en los machos fue del 50,0% (3/6). En las ovejas las hembras con ooquistes-quistes fue del 19,0% (8/42) y en los machos 24,2% (8/33). Fig. 8.

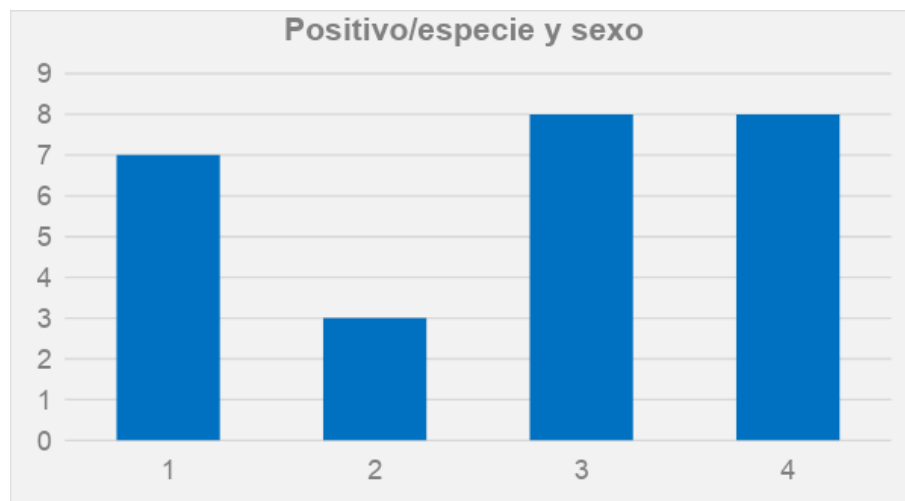


Figura 8. Proporción de animales con presencia de algún ooquiste-quiste según la especie y el sexo.

El porcentaje de las cuatro **Veredas Muestreadas** respecto al número de ovejas y cabras en el presente estudio, evidencio que el mayor número de caprinos muestreados provenían de la vereda Mesitas del Caballero del Municipio de Anolaima lo que corresponde al 12,4%. En el caso de las ovejas el mayor número de muestras fueron de la vereda San José del Municipio de Mosquera siendo el 54,6%. Tabla 8

Veredas			
		n	%
Cabras	Mesitas del caballero	12	12,4%
	Rio arriba	10	10,3%
Ovejas	San Antonio	22	22,7%
	San José	53	54,6%
Total		97	100,0%

Tabla 8. Total, de veredas muestreadas y la cantidad de animales muestreados por cada una

De las respectivas veredas, En San José, Mosquera se presentó el mayor porcentaje de la presencia de algún ooquiste-quiste. Seguido por un 26,9% en la vereda Mesitas del Caballero, Anolaima. Tabla 9.

Veredas				
	Positivo		negativo	
	n	%	n	%
Mesitas del caballero	7	26,9%	5	7,0%
Rio arriba	3	11,5%	7	9,9%
San Antonio	3	11,5%	19	26,8%
San José	13	50,0%	40	56,3%
Total	26	100,0%	71	100,0%

Tabla 9. Presencia de algún ooquiste-quiste de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* por veredas.

Respecto a la presencia de *Cryptosporidium spp* en cabras 27,2%, para ovejas 9,33%. La presencia de quistes de *G. duodenalis* 36,3% en cabras y en ovejas

17,3%. Ooquistes-quistes tanto de *Cryptosporidium* y *Giardia* en cabras 18,1% y en ovejas 5,33%. Tabla 10

Especie	<i>Cryptosporidium spp</i>		<i>G. duodenalis</i>		<i>Cryptosporidium y Giardia</i>							
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo		Negativo					
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Cabras	6	27,2%	16	72,7%	8	36,3%	14	63,6%	4	18,1%	18	81,8%
Ovejas	7	9,33%	68	90,6%	13	17,3%	62	82,6%	4	5,33%	71	91,7%

Tabla 10. Presencia de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* por especie

Análisis descriptivo de cada variable:

Para la variable de **Clima** el 64,9% de los animales se encontraban en un ambiente frío (altitud superior a los 2000 m.s.n.m) mientras que 35,1% a una temperatura cálida (altitud inferior a los 2000 m.s.n.m). Tabla 11

Clima		
	n	%
Cálido	34	35,1%
Frio	63	64,9%
Total	97	100,0%

Tabla 11. Análisis descriptivo según la variable Clima

De acuerdo, a la variable: **Hábitat** haciendo referencia al sitio en que se mantienen o rotan las cabras y ovejas, la predominancia fue que los animales estaban en establos 22,7%, libres 54,6% y en Rediles 22,7%. Tabla 12

Hábitat		
	n	%
Establos	22	22,7%
Libres	53	54,6%
Rediles	22	22,7%
Total	97	100,0%

Tabla 12. Análisis descriptivo según el hábitat

La variable **Tipo de producción**, indicó que el 50,0% estaban destinados a la producción de carne, 35,3% destinados a la producción de lana y el 14,7% a la producción de leche. Tabla 13

Producción		
	n	%
Carne	75	50,0%
Lana	53	35,3%
Leche	22	14,7%
Total	150	100,0%

Tabla 13. Análisis descriptivo según el tipo de producción

La variable **Tipo de explotación**, indicó que cerca al 57% de los predios tiene un sistema de explotación extensivo y el 45,4% maneja el sistema intensivo. Tabla 14

Explotación		
	n	%
Extensiva	53	54,6%
Intensiva	44	45,4%
Total	97	100,0%

Tabla 14. Análisis descriptivo según el tipo de explotación

La variable **Fuente de agua** 77,3% de los animales beben agua municipal y un 22,7% de pozo. Tabla 15

Fuente de agua		
	n	%
Municipal	75	77,3%
Pozo	22	22,7%
Total	97	100,0%

Tabla 15. Análisis descriptivo según la fuente de agua

Análisis bivariado

La asociación entre la edad y la presencia de ooquistes-quistes para ninguna de las edades y especies presenta significancia estadística, por lo que no hay, relación entre las dos variables. Tabla 16.

Edad	<i>Cryptosporidium spp</i>							<i>G. duodenalis</i>						
	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
n	%	n	%	n				%	n	%	n			
1 mes	2	40,0%	3	60,00%	0,154	8,666	0,70-107,09	2	40,0%	3	60,0%	0,272	4,000	0,39-40,1
	1	7,14%	13	92,8%				2	14,2%	12	85,7%			
3 meses	1	10,0%	9	90,0%	0,646	0,750	0,07-7,78	3	30,0%	7	70,0%	0,463	1,469	0,29-7,33
	4	12,9%	27	87,1%				7	22,5%	24	77,4%			
4 meses	3	50,0%	3	50,0%	0,069	8,500	1,11-64,81	3	50,0%	3	50,0%	0,193	3,750	0,54-25,5
	2	10,5%	17	89,4%				4	21,0%	15	78,9%			

*Prueba chi cuadrado (X^2), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

Tabla 16. Asociación de la edad con la presencia de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* en cabras y ovejas

En relación al sexo y la presencia de ooquistes-quistes de los protozoarios de interés, no se observa significancia estadística para ninguna de las dos especies, por lo tanto, en el estudio no existe asociación o predisposición para que por uno u otro género se presente *Cryptosporidium* o *Giardia*. Tabla 17.

Sexo	<i>Cryptosporidium spp</i>							<i>G. duodenalis</i>						
	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
n	%	n	%	n				%	n	%	n			
Hembra	4	25,0%	12	75,0%	0,136	3,166	0,71-14,07	6	37,5%	10	62,5%	0,059	3,600	0,98-13,18
	4	9,52%	38	90,4%				6	14,2%	36	85,7%			
Macho	2	33,3%	4	66,6%	0,154	5,166	0,73-36,23	2	33,3%	4	66,6%	0,409	1,928	0,29-12,78
	3	8,82%	31	91,1%				7	20,5%	27	79,4%			

*Prueba chi cuadrado (X^2), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

Tabla 17. Asociación entre el sexo y la presencia de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* en cabras y ovejas.

La asociación sobre la presencia de ooquistes-quistes y la variable clima, demuestra relación estadísticamente significativa en los animales expuestos al clima cálido,

(altitud menor de 2000 m.s.n.m y), al observar que el valor $p < 0,05$ y el $OR > 1$. A diferencia, de aquellos que están expuestos al frío (altitud mayor de 2000 m.s.n.m) con un valor $p = 0,69$ y $0,38$, valor $OR = 0,870$ y $1,636$ para *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis*, respectivamente, en cabras y ovejas, considerándose un factor de riesgo. Tabla 18.

Clima	<i>Cryptosporidium spp</i>							<i>G. duodenalis</i>						
	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
n	%	n	%	n				%	n	%	n			
Cálido	5	83,3%	7	25,0%	0,01	15,000	2,05-109,24	5	71,4%	7	25,9%	0,03	7,142	1,25-40,79
	1	16,6%	21	75,0%				2	28,5%	20	74,0%			
Frío	1	14,2%	9	16,0%	0,69	0,870	0,09-8,26	3	21,4%	7	14,2%	0,38	1,636	0,36-7,39
	6	85,7%	47	83,9%				11	78,5%	42	85,7%			

*Prueba chi cuadrado (X^2), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

Tabla 18. Asociación entre el clima y la presencia de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* en cabras y ovejas

La asociación entre el tipo de explotación y la presencia de ooquistes-quistes, presenta significancia estadística, en el sistema de producción intensivo, al obtenerse valor $p = 0,04$ y $OR = 7875$ para *Cryptosporidium spp*. Asimismo, valor $p = 0,03$ y $OR = 5,714$ para *G. duodenalis*, considerándose así un factor de riesgo. En cuanto, al producto de obtención de cada una de las especies, no mostró significado estadístico ningún tipo de producción con la presencia de ooquistes-quistes en cabras y ovejas. Tabla 19.

Explotación	<i>Cryptosporidium spp</i>							<i>G. duodenalis</i>						
	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
n	%	n	%	n				%	n	%	n			
Extensiva	0		0		0,0	0,00	0,000	0		0		0,0	0,00	0,000
	6	11,3%	4	88,6%				1	20,7%	4	79,2%			
Intensiva	6	27,2%	1	72,7%	0,0	7,87	1,08-57,34	1	36,3%	1	63,6%	0,0	5,71	1,15-28,33
	6	4,55%	2	95,4%				8	90,9%	4	90,9%			
Producción	1		1		0,0	0,00	0,000	2		0		0,0	0,00	0,000
	7	9,33%	6	90,6%				1	17,3%	6	82,6%			
Carne	7		8		0,0	0,00	0,000	3		2		0,0	0,00	0,000
	7	9,33%	6	90,6%				1	17,3%	6	82,6%			

Lana	0	0	0,0	0,00	0	0	0,00	0	0	0,0	0,00	0	0	0,00
	11,3	4	88,6		1	20,7	4	79,2						
	6	%	7	%	1	%	2	%						
Leche	27,2	1	72,7	0,0	0,00		36,3	1	63,6	0,0	0,00			
	6	%	6	%	0	0	0,00	8	%	4	%	0	0	0,00
	0		0					0		0				

*Prueba chi cuadrado (X^2), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

Tabla 19. Asociación entre el tipo de explotación y producción con la presencia de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* en cabras y ovejas.

La fuente de agua, no mostro significancia estadística ($p=0,08$ y $p=0,13$), por lo tanto el agua municipal y de pozo (nacimiento, quebrada) en el presente estudio, son un factor protector frente a la presencia de ooquistes-quistes de *Cryptosporidium* y *Giardia*, respectivamente. Tabla 20

Fuente agua	<i>Cryptosporidium spp</i>							<i>G. duodenalis</i>						
	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
n	%	n	%	n				%	n	%	n			
Municipal	6	27,2%	16	72,7%	0,08	2,937	0,85-10,14	8	36,3%	14	63,6%	0,13	2,181	0,73-6,47
	6	11,3%	47	88,6%				11	20,7%	42	79,2%			
Pozo	0		0		0,00	0,000	0,000	0		0		0,00	0,000	0,000
	1	4,55%	21	95,4%				2	9,09%	20	90,9%			

*Prueba chi cuadrado (X^2), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

Tabla 20. Asociación entre la fuente de agua y la presencia de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* en cabras y ovejas.

La asociación del manejo y cuidado de los animales con presencia de ooquistes-quistes, que presentaron significancia estadística son: la limpieza que se realiza mensualmente ($p=0,01$, $OR=15,000$) y el desecho de excretas de tipo abono incrementa la presencia de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* en las 4 fincas muestreadas ($p=0,04$, $OR=3,642$) y ($p=0,05$, $OR=2,725$), respectivamente. El no realizar desinfección en los lugares de establecimiento de los cabritos son un factor de riesgo, al tener un dato estadísticamente significativo $p=0,00$ $OR=2,000$. Por el contrario, la rotación de potreros no presentan significancia estadística ($p<0,05$).Tabla 21

	<i>Cryptosporidium spp</i>							<i>G. duodenalis</i>						
Rotación	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%	Positivo		Negativo		p	O.R	IC 95%
	n	%	n	%				n	%	n	%			
Si	1	10,0%	9	90,0%	0,64	1,079	0,11-9,94	3	30,0%	7	70,0%	0,28	2,044	0,47-8,83
	7	9,3%	68	90,6%				13	17,3%	62	82,6%			
No	5	41,6%	7	58,3%	0,00	0,000	0,000	5	41,6%	7	58,3%	0,00	0,000	0,000
	0		0					0		0				
Limpieza														
Semanal	n	%	n	%	p	O.R	IC 95%	n	%	n	%	p	O.R	IC 95%
	1	10,0%	9	90,0%				0,69	0,870	0,09-8,26	3			
Mensual	6	11,3%	47	88,6%	0,01	15,000	2,05-109,24	11	20,7%	42	79,2%	0,03	7,142	1,25-40,79
	5	41,6%	7	58,3%				5	41,6%	7	58,3%			
	1	4,55%	21	95,4%				2	9,09%	20	90,9%			
Desecho de excretas														
Abono	n	%	n	%	p	O.R	IC 95%	n	%	n	%	p	O.R	IC 95%
	6	27,2%	16	72,7%				0,04	3,642	1,12-11,76	8			
	7	9,33%	68	90,7%				13	17,3%	62	82,6%			
Desinfección														
Si	n	%	n	%	p	O.R	IC 95%	n	%	n	%	p	O.R	IC 95%
	1	10,0%	9	90,0%				0,64	1,079	0,11-9,94	3			
No	7	9,33%	68	90,6%	0,00	2,000	0,00-3,05	13	17,3%	62	82,6%	0,00	2,000	0,00-3,05
	5	41,6%	7	58,3%				5	41,6%	7	58,3%			

*Prueba chi cuadrado (X^2), prueba exacta de Fisher, nivel de confianza 0,05

Tabla 21. Asociación entre el manejo-cuidado y la presencia de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* en cabras y ovejas.

7. DISCUSIÓN

La identificación de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis* se realizó por medio de la prueba de Inmunofluorescencia Directa, que detecta antígenos de la pared celular de los ooquistes-quistes de los respectivos protozoarios en muestras de materia fecal. La presencia obtenida de *Cryptosporidium spp* en cabras fue del 27,2%, en ovejas 9,33%. Para *G. duodenalis* la presencia en cabras fue del 36,3% y en ovejas el 17,3%. Además se evidencio un 18,1 % (4 cabras) y 5,33% (4 ovejas) con presencia mixta de ooquistes-quistes. Dichos resultados se acercan a valores de presencia reportados en otras investigaciones alrededor del mundo: Olson M. et al, (1997), reporto porcentajes de prevalencia de *Cryptosporidium spp* en corderos del 23% y *Giardia* 57% (69) en granjas canadienses donde ningún de los animales presentaba diarrea, por lo tanto, en los animales con presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* no necesariamente cursan con heces líquidas al momento de estar infectados, en vista de que, pueden ser animales asintomáticos después tres semanas de vida (70). Los 97 animales muestreados en el presente estudio solo el 1% presentó diarrea. Castro J et al, (2005), la prevalencia para *Giardia* fue del 38,0% en cabras y *Cryptosporidium* del 2.5% en el oeste de Francia (71). Delafosse et al, (2003) prevalencia de *Cryptosporidium* en cabritos del 16,0% en Francia. (72). Santín M. et al, (2007), la prevalencia de *Cryptosporidium* en corderos fue del 32,2%, para *Giardia* 6,45%, de la misma manera en el estudio se detectaron infecciones mixtas en cuatro corderos en Maryland. (73). Castro J.H et al, (2007), la detección de ooquistes-quistes de *Cryptosporidium* en cabras fue menor 7,7% y en

ovejas 5,3%; con *Giardia* la presencia en cabras 19,8% y ovejas 19,2% en Galicia, Noroeste de España. (74).

En América, son pocos los estudios realizados en ovejas y cabras relacionados con la prevalencia de *Cryptosporidium* y *Giardia*. Sin embargo, en Centroamérica en la investigación realizada por Romero et al, (2016), la presencia de *Cryptosporidium* en cabras se evidenció con el 72,5% y en ovejas 67,5% en Veracruz, México (23). Castro et al, (2017) en las muestras de materia fecal de corderos analizadas, la presencia de ooquiste se representó con el 41,58% (76). Otero et al, (2011) quistes de *Giardia* en ovejas fue del 11,3% en República Mexicana. Las diferencias entre los resultados por cada estudio varían según Baris et al, (2008) muy probablemente por la edad y cantidad de los animales muestreados.(77). En Colombia no existen investigaciones especialmente de *Cryptosporidium* en las ovejas y cabras, de manera que, los resultados de este estudio no se pueden comparar dentro del territorio nacional.

La infección por *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* ha estado relacionada según por varias investigaciones con un conjunto de factores predisponentes que posiblemente aumenten la presencia de los protozoarios en cuestión; como lo son el clima, fuente de agua, tipo de producción, tipo de explotación, sexo, manejo sanitario, y condiciones de cría (23) (76) (77) (78). Por medio del respectivo análisis bivariado de algunos de los posibles factores de riesgo que se llevó a cabo por cada granja, se observó: La edad no obtuvo un valor estadísticamente significativo al presentarse en los rangos de edad de 1 a 4 meses valor $p > 0,05$, tanto para la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia*. (Tabla 16) Sin embargo, en las cabras la edad con mayor presencia de ooquistes-quistes fue al 1 mes de vida 40,0%, resultado que concuerda con el de Romero et al, (2016), en el cual, la mayor prevalencia de *Cryptosporidium* fue al primer mes de edad (75). En cambio en las ovejas la mayor prevalencia se evidenció a los tres meses 12,9%. Para *Giardia* en cabras la mayor presencia ocurrió al cuarto mes de edad 50,0% y en ovejas a los tres meses 22,5% el porcentaje de presencia en ovejas es mucho menor que en cabras. Observándose una diferencia respecto a los datos por Baris et al, en el que se observó mayor infección en los pequeños rumiantes con edad < 7 días. Son diversos estudios que manifiestan la edad como un factor de riesgo, Majewska et al,

(2000) comprobó que los corderos están infectados con mayor frecuencia que los adultos (78) y especialmente según Xiao et al, (1993) a los primeros 5-10 días de edad (70).(79)

En cuanto, al factor de riesgo relacionado con el sexo, no se observó significancia estadística al observar valores de $p > 0,05$ Tabla 17. Coincidiendo con el estudio de Castro et al, la presencia de ooquistes-quistes según el sexo no tuvo significado estadístico ($P > 0,34$). Al igual que en el estudio por Afriyie et al, (2017) con valores de ($p = 0,727$ IC 95%) y ($p = 0,724$ IC 95%) para *Cryptosporidium* y *Giardia*, respectivamente (70).

Respecto al clima, es una variable con significancia estadística especialmente, el clima cálido ($p = 0,01$ OR=15,000 IC 95%) para la presencia de *Cryptosporidium* representándose con el 46,1%, para *Giardia* ($p = 0,03$ OR=7,142 IC 95%) con el 50,6%, y precipitaciones de 220 mm en Abril y 119 mm en Diciembre de 2019 (80) en Mesitas del caballero y San Antonio, respectivamente. Dichos resultados se asemeja a otras investigaciones en las que el clima es un factor de riesgo para la presencia de los dos protozoarios, tal como lo reporto Green et al, (2004), la presencia de *Cryptosporidium* está estrechamente relacionada con la temperatura cálida y meses lluviosos ($p < 0,001$) y con precipitaciones mayores a 150 mm/mes, 55,4%, ya que, con precipitaciones menores a 100 mm la presencia de ooquistes-quistes fue menor 17,3% en Sao Paulo, Brasil. (81). En el caso de la presencia *Giardia* en el estudio por Mukbel et al, (2017), los quistes se encuentran tanto en zonas cálidas y templadas (82). Son escasos los estudios que comparan la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia* al tiempo, por lo tanto, se limita la relación entre investigaciones. (75)(83)

El tipo de explotación fue otro factor de riesgo con significancia estadística en la investigación al obtener en el sistema intensivo $p = 0,04$ OR=7,875 IC 95% para *Cryptosporidium* $p = 0,03$ OR=5,714 IC 95% en *Giardia*. Tabla 19. La significancia estadística en los estudios es variable, por ejemplo, Castro et al, (2017) el tipo de explotación independiente si era extensivo o intensivo no se observó significancia estadística $p < 0,98$ (67), Sin embargo, Sharma et al, (2015), la mayor susceptibilidad de criptosporidiosis se dio en el sistema semi-intensivo $p = 0,04$. (75). Geurden et al,

(2008), indicaron que la criptosporidiosis y giardiasis son parasitosis comunes en cabras y ovejas que pertenecen a los sistemas intensivos en Bélgica (21). La presencia se puede dar en cualquiera de los dos sistemas, teniendo en cuenta que las dosis de infección por los ooquistes-quistes son mínimas. (28)(76) Independientemente si el propósito o finalidad de los animales sea carne, leche o lana en vista de que no tiene significancia estadística.

En relación con la fuente de agua no se presenta un valor estadísticamente significativo frente a si el agua de bebida para los animales es municipal o de pozo $p>0,05$. No obstante, se puede observar que se dio una mayor presencia de ooquistes en los animales con disposición de agua municipal 27,2% en cabras y 11,3 % en ovejas. De igual modo, ocurre con la presencia de quistes en el mismo tipo de agua en cabras 36,3% y en ovejas 20,7%. Tabla 20. El agua es un factor predisponente importante en la presencia de ooquistes-quistes puesto que está es una de las principales vías de transmisión de *Cryptosporidium spp* y *G. duodenalis*. (57) (84). En el estudio realizado por Hernández et al, (2012) la presencia de *Cryptosporidium* fue 6,6 veces mayor con el agua de pozo. (58) por lo tanto, el tratamiento eficaz del agua de bebida es un factor crítico para evitar la propagación de los protozoarios (85). Según Olson et al, (1999) los ooquiste-quiste se mantienen infectantes por un largo periodo en agua fría (86), datos que concuerdan con Ramo et al, (2017), en el que, identificaron *Cryptosporidium* en un 55% y *Giardia* 70% en plantas de agua potable; tasas que se vieron aumentadas en la época de invierno en el Noreste de España.(87)

En el estudio se observó que el realizar una limpieza semanal en los establecimientos de los animales es un factor protector frente a la presencia de ooquistes-quistes al tener un $OR<1$. Al realizarse mensualmente se observa una asociación entre la variable y la presencia de ooquistes-quistes $OR=15,000$ y $7,142$, respectivamente. Mohammed et al, (1999), la limpieza diaria o hasta semanal se asocia de manera drástica en la mitigación del riesgo de infección por *Cryptosporidium*.(48). Hernández et al, las excretas usadas como abono incrementan la presencia de ooquistes-quistes $OR=1,14$ de *Cryptosporidium* y *Giardia*. Dato que coincide con el presente estudio al observar asociación $OR=3,642$ y $2,725$, Tabla 21. No realizar desinfección en las granjas es un factor de riesgo

significativo OR=2,000 resultado que se acerca al de Maddox et al, (2006), hay una mayor asociación de *Cryptosporidium* al no realizar desinfección OR=1,65, contrario a lo que pasa con la presencia de *Giardia* OR=0,96.(88)

La criptosporidiosis y giardiasis causa en los pequeños rumiantes enteritis especialmente neonatal (75), por lo tanto, los corderos y cabritos de días de nacido son los que padecen de forma grave la infección por *Giardia*, debido a que, este protozooario puede generar un grave síndrome de malabsorción, acompañado de mala condición corporal y deshidratación leve como lo describe Aloisio et al, (2006) lo que con lleva a pérdidas económicas importantes en la crianza de los animales (30). Al igual *Cryptosporidium* se ha visto asociado con sintomatología relacionada con diarrea, pérdida de peso y mortalidad (21). Las implicaciones que con llevan la presencia de ooquistes-quistes en los animales además de tener importancia socioeconómica, cabe la posibilidad de que estos puedan ser posibles diseminadores de ensamblajes y especies zoonóticas. (21)(89). En pequeños rumiantes, según diversas investigaciones *C. parvum*, *C. xiaoi*, *C. ubiquitum*, *C. andersoni* y *C. Fayeri* son las especies que hasta por el momento se han llegado a detectar en ovinos/ caprinos.(7)(9)(10)(11)(14) Existe especial interés con *C.parvum* y *C. ubiquitum* por la presencia en humanos. (11)(12). En *G. duodenalis* según Zhang et al, identificaron en ovejas el ensamblaje A en un 13,8%, el ensamblaje B en 6,9% y el ensamblaje E 79,3% (30). El ensamblaje E, es predominante tanto en ovejas y cabras, y los ensamblajes A y B infectan una variedad de animales, incluyendo el humano.(73)

De las pruebas empleadas para el diagnóstico y detección de *Cryptosporidium* y *Giardia*, la inmunofluorescencia directa, según Shams et al, (2016) tiene la ventaja que provee un análisis definitivo y dispone de mayor sensibilidad (99,8 al 100%) que los frotis tradicionales.(63)

La información sobre la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* involucra en gran medida los animales de producción, principalmente el ganado bovino pero en menor proporción en pequeños rumiantes y cerdos, (90). Motivo por el cual, se lleva a cabo el estudio, en el que los resultados demuestran que, en un municipio de Boyacá y tres municipios de Cundinamarca, existe presencia de *Cryptosporidium spp* y *G.*

duodenalis en los pequeños rumiantes. Lo que con lleva a que, se requieran mayores investigaciones en diferentes regiones del país y así conocer con mayor profundidad la epidemiología de criptosporidiosis y giardiasis en las ovejas y cabras.

8. CONCLUSIONES

Se identificó la presencia de ooquistes-quistes de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en los pequeños rumiantes, en cuatro granjas de diferentes municipios de Colombia (Mosquera, Paipa, Anolaima y Arbeláez).

Los factores de riesgo asociados a la presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia* fueron: el clima cálido (OR=15,000; IC 95% 2,05-109,24) para *Cryptosporidium* (OR=7,142; IC 95% 1,25-40,79) *Giardia*. Donde las altitudes se encontraban en el rango de 1,579 – 1,382 m.s.n.m. El tipo de producción intensivo (OR= 7,875; IC 95% 1,08-57,34) y (OR= 5,714; IC 95% 1,15-28,33) para *Cryptosporidium* y *Giardia*, respectivamente. La limpieza mensual de los establecimientos (OR=15,000; IC 95% 2,05-129,4) para la presencia de ooquistes, (OR=7,142 IC 95% 1,25-40,79) para quistes. Y el desecho de excretas como abono (OR=3,642; IC 95% 1,12-11,76) (OR=2,725; IC 95% 1,00-7,68)

Por otro lado, la edad ($p>0,05$) y el sexo; hembras ($p= 0,136$ OR=3,166) y machos ($p=0,154$ OR=5,166) para *Cryptosporidium*. Machos ($p=0,409$ OR=1,928) y en hembras ($p=0,069$ OR=3,600) para *Giardia*. No fueron factores asociados.

Debe prestarse mayor atención a los factores asociados con la presencia de oocistos-quistes en los sistemas de producción de pequeños rumiantes, para mejorar las condiciones higiénico-sanitarias y evitar posibles pérdidas económicas, en una explotación que con el tiempo ha adquirido mayor importancia en el sector agropecuario colombiano.

9. RECOMENDACIONES

Dar a conocer a los dueños de la granjas con producción de ovejas y cabras, los factores que pueden aumentar la infección por *Cryptosporidium* y *Giardia*, además, de las complicaciones en salud y disminución en la producción, cuando existe la presencia de alguno o ambos protozoarios.

Que las autoridades competentes del seguimiento y monitoreo sanitario de bienestar animal, realicen estudios con mayor población ovina-caprina en diferentes departamentos para esclarecer la situación epidemiológica de criptosporidiosis y giardiasis en los pequeños rumiantes.

La prevención y control de protozoarios como eje fundamental para evitar y/o mitigar infección, debido a la inexistencia de tratamientos eficaces contra los mismos. Por tal motivo, es recomendable seguir medidas de prevención del Instituto Nacional de Salud, tales como:

- Consumo de agua tratada por medio del mecanismo por filtración de alta calidad

- Agua de consumo debe ser hervida a 65°C durante 10 minutos y así eliminar los ooquistes/quistes.
- Higiene personal y buenas practicas de higiene (lavado de manos frecuente)
- Saneamiento ambiental (Manejo del agua y excretas)
- Adecuado lavado de frutas y vegetales

Con respecto al manejo de los animales:

Es recomendable:

- Limpieza y desinfección de todas las instalaciones establecimientos
- Adecuada nutrición de animales
- Impedir alojamiento en un mismo corral con diferentes grupos etarios
- Impedir el alojamiento de varias especies en un corral
- Aislamiento de los animales sanos de los enfermos
- Tratamiento del agua de bebida
- Adecuado manejo de excretas

10. REFERENCIAS

1. Especie ovino caprina [Internet]. 2020. Available from: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/enfermedades-animales/especie-ovino-caprina.aspx>
2. S.A.S ELR. El negocios de ovinos y caprinos es rentable pero de mucho cuidado [Internet]. 2020. Available from: <https://www.agronegocios.co/ganaderia/negocios-ovino-y-caprino-son-rentables-pero-de-cuidado-2621594>
3. Cabanelas E, Díaz P, Pérez-Creo A, Remesar S, Prieto A, Díaz JM, et al. Principales parasitosis del ganado ovino. OviSpain [Internet]. 2017;24–6. Available from: https://www.researchgate.net/publication/317727165_PRINCIPALES_PARASITOSIS_DEL_GANADO_OVINO
4. Urbina A, Mata L, Rojas J. Criptosporidiosis: Una zoonosis de reciente interes. ADELMICROBIOLENFINFECC [Internet]. 1984;3:160–74. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/7dd6/5e9169b0188cd8d5812330553c00bea27661.pdf>
5. Ahourai P, Ezzi A, Gholami MR, Vandyoosefi J, Kargar R, Maalhigh N. Cryptosporidium SPP. In new born lambs in Iran. Trop Anim Health Prod [Internet]. 1985 Feb 19;17(1):6–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF02356126>
6. B.D H. Enteric protozoa in ruminants: diagnosis and control of Cryptosporidium, the role of the immune response. Rev Sci Tech [Internet]. 1990;9(2):423–40. Available from:

- https://doc.oie.int/seam/resource/directMedia/_SK8U6oZg0QtlwmhaIDSsRYDEJiz0G5B?binaryFileId=7854&cid=59
7. Xiao L, Sulaiman IM, Ryan UM, Zhou L, Atwill ER, Tischler ML, et al. Host adaptation and host-parasite co-evolution in *Cryptosporidium*: implications for taxonomy and public health. *Int J Parasitol* [Internet]. 2002;32(14):1773–85. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12464424>
 8. Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2004;17(1):72–97. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC321466/>
 9. Ye J, Xiao L, Wang Y, Wang L, Amer S, Roellig DM, et al. Periparturient transmission of *Cryptosporidium xiaoi* from ewes to lambs. *Vet Parasitol* [Internet]. 2013;197(3–4):627–33. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23953146>
 10. Imre K, Luca C, Costache M, Sala C, Morar A, Morariu S, et al. Zoonotic *Cryptosporidium parvum* in Romanian newborn lambs (*Ovis aries*). *Vet Parasitol* [Internet]. 2013;191(1–2):119–22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22995338>
 11. Baroudi D, Hakem A, Adamu H, Amer S, Khelef D, Adjou K, et al. Zoonotic *Cryptosporidium* species and subtypes in lambs and goat kids in Algeria. *Parasit Vectors* [Internet]. 2018 Dec 12;11(1):582. Available from: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-3172-2>
 12. Díaz P, Navarro E, Prieto A, Pérez-Creo A, Viña M, Díaz-Cao JM, et al. *Cryptosporidium* species in post-weaned and adult sheep and goats from N.W. Spain: Public and animal health significance. *Vet Parasitol* [Internet]. 2018;254:1–5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29656992>
 13. Al-Habsi K, Yang R, Williams A, Miller D, Ryan U, Jacobson C. Zoonotic *Cryptosporidium* and *Giardia* shedding by captured rangeland goats. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* [Internet]. 2017 Feb 19;7:32–5. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405939016302040>
 14. Peng X-Q, Tian G-R, Ren G-J, Yu Z-Q, Lok JB, Zhang L-X, et al. Infection rate of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp. and *Enterocytozoon bieneusi* in cashmere, dairy and meat goats in China. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis* [Internet]. 2016;41:26–31. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27017915>
 15. López S, Garcia AJ, López J, Garde J, Gallego L. CRÍA DE NEONATOS DE MUFLÓN (*Ovis ammon musimon*) MEDIANTE LACTANCIA ARTIFICIAL. CONSIDERACIONES SOBRE EL RIESGO DE INFECCIONES Y PARASITOSIS. *Galemys* [Internet]. 1998;10:3–12. Available from: <http://www.secem.es/wp-content/uploads/2013/03/G-10-NE-1-Lopez-Saez-et-al-3-12.pdf>
 16. Fayer R, Trout JM, Graczyk TK, Lewis EJ. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Eimeria* infections in post-weaned and adult cattle on three Maryland farms. *Vet Parasitol* [Internet]. 2000;93(2):103–12. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11035228>
 17. Dumoulin A, Guyot K, Lelièvre E, Dei-cas E, Cailliez JC. *Cryptosporidium* et faune sauvage : un risque pour l’homme? *Parasite* [Internet]. 2000;7(3):167–72. Available from: <https://www.parasite-journal.org/articles/parasite/pdf/2000/03/parasite2000073p167.pdf>

18. Zambrano C, Escalona A, Maldonado A. Evaluación biológica y económica de un rebaño ovino en Barinas. In: IX Seminario de pastos y forrajes [Internet]. Barinas; 2005. p. 158–70. Available from: http://avpa.ula.ve/eventos/ix_seminario_pastosyforraje/Conferencias/C12-CesarZambrano.pdf
19. Causapé AC, Quílez J, Sánchez-Acedo C, del Cacho E, López-Bernad F. Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (Northeastern Spain). *Vet Parasitol* [Internet]. 2002;104(4):287–98. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11836029>
20. Bomfim TCB, Huber F, Gomes RS, Alves LL. Natural infection by *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. in dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties. *Vet Parasitol* [Internet]. 2005;134(1–2):9–13. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16105719>
21. Geurden T, Thomas P, Casaert S, Vercruyssen J, Claerebout E. Prevalence and molecular characterisation of *Cryptosporidium* and *Giardia* in lambs and goat kids in Belgium. *Vet Parasitol* [Internet]. 2008;155(1–2):142–5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18565678>
22. Sanchez C, Quílez J, Cacho Malo E, Gallego M, Bernad L, Estrada A. DIARREAS NEONATALES de los pequeños rumiantes: criptosporidiosis. *Sitio Argentino Prod Anim* [Internet]. 2009;10(1):23–9. Available from: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_caprinos/34-criptosporidiosis.pdf
23. Romero-Salas D, Alvarado-Esquivel C, Cruz-Romero A, Aguilar-Domínguez M, Ibarra-Priego N, Merino-Charrez JO, et al. Prevalence of *Cryptosporidium* in small ruminants from Veracruz, Mexico. *BMC Vet Res* [Internet]. 2016 Feb 19;12(1):14. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/12/14>
24. Holsback L, Lima HE, Vidotto O, Silva MA da, Patelli THC, Martins FDC, et al. *Cryptosporidium* occurrence in ruminants from the North Pioneer mesoregion of Paraná, Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária* [Internet]. 2018 Feb 19;27(2):248–53. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1984-29612018000200248&lng=en&nrm=iso&tlng=en
25. Koudela B, Vítovec J. Experimental giardiasis in goat kids. *Vet Parasitol* [Internet]. 1998;74(1):9–18. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9493306>
26. Taylor MA, Webster KA. Recent advances in the diagnosis in livestock of *Cryptosporidium*, *Toxoplasma*, *Giardia* and other protozoa of veterinary importance. *Res Vet Sci* [Internet]. 1998 Mar 1;65(3):183–93. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528898901412>
27. Doménech J. *Cryptosporidium* y *Giardia*, problemas emergentes en el agua de consumo humano. *Offarm* [Internet]. 2003 Mar 1;22(11):112–6. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-cryptosporidium-giardia-problemas-emergentes-el-13055926>
28. Adam RD. Biology of *Giardia lamblia*. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2001 Mar 1;14(3):447–75. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88984/>
29. Jin Y, Fei J, Cai J, Wang X, Li N, Guo Y, et al. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* in Tibetan sheep and yaks in Qinghai, China. *Vet Parasitol*

- [Internet]. 2017;247:70–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29080768>
30. Aloisio F, Filippini G, Antenucci P, Lepri E, Pezzotti G, Cacciò SM, et al. Severe weight loss in lambs infected with *Giardia duodenalis* assemblage B. *Vet Parasitol* [Internet]. 2006;142(1–2):154–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16891057>
 31. Castro-Hermida JA, Almeida A, González-Warleta M, Correia da Costa JM, Rumbo-Lorenzo C, Mezo M. Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in healthy adult domestic ruminants. *Parasitol Res* [Internet]. 2007;101(5):1443–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17569991>
 32. Ruiz A, Foronda P, González JF, Guedes A, Abreu-Acosta N, Molina JM, et al. Occurrence and genotype characterization of *Giardia duodenalis* in goat kids from the Canary Islands, Spain. *Vet Parasitol* [Internet]. 2008;154(1–2):137–41. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18436382>
 33. Rodríguez FPC. Bases de la producción animal [Internet]. Universidad de Sevilla; 2003. 520 p. Available from: https://books.google.com.co/books?id=YQxTe3v1GqkC&pg=PA269&dq=fisiologia+digestiva+de+los+ruminantes&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi4gJ_Nn4HkAhVFq1kKHd8BCgEQ6AEIKDAA#v=onepage&q=fisiologia+digestiva+de+los+ruminantes&f=false
 34. Espinal C, Martínez H, Amézquita J. La cadena de ovinos y caprinos en Colombia [Internet]. 2006. Available from: http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/3914/1/20078611357_caracterizacion_ovinosycaprinos.pdf
 35. Sáenz G AA. Ovinos y Caprinos [Internet]. 2007. Available from: <http://repositorio.una.edu.ni/2442/1/nl01s127o.pdf>
 36. Salazar S PA. La cabra en Colombia [Internet]. Engormix. 2007. Available from: <https://www.engormix.com/ovinos/articulos/cabra-colombia-t27137.htm>
 37. Segura Ó. La ganadería ovina vive su mejor momento en Colombia | CONtexto ganadero | Noticias principales sobre ganadería y agricultura en Colombia [Internet]. Contexto Ganadero. 2013. Available from: <https://www.contextoganadero.com/reportaje/la-ganaderia-ovina-vive-su-mejor-momento-en-colombia>
 38. Pulido-Medellín MO, García-Corredor D, Díaz-Anaya A, Andrade-Becerra R. Pesquisa de parásitos gastrointestinales en pequeñas explotaciones ovinas del municipio de Toca, Colombia. *Rev Salud Anim* [Internet]. 2014 Mar 1;36(1):65–9. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0253-570X2014000100012&lng=es&nrm=iso&tlng=pt
 39. Guiquelin W, Felipelli G, Zanetti W, Pires W, Cayeiro B, Rabelo T, et al. Fauna helmintológica de ovinos provenientes da microrregião de Jaboticabal, estado de São Paulo, Brasil. *Ciência Rural* [Internet]. 2014;44(3):492–7. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/331/33130091017.pdf>
 40. Maratea KA, Miller MA. Abomasal coccidiosis associated with proliferative abomasitis in a sheep. *J Vet Diagnostic Investig* [Internet]. 2007 Mar 1;19(1):118–21. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/104063870701900122>
 41. Ozdal N, Tanritanir P, Goz Y, Deger S, Kozat S. PARASITIC PROTOZOANS (EIMERIA, GIARDIA, AND CRYPTOSPORIDIUM) IN LAMBS WITH

- DIARRHOEA IN THE VAN PROVINCE (TURKEY). Bull Vet Inst Pulawy [Internet]. 2009;53:47–51. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Nalan_Ozdal/publication/285967067_Parasitic_protozoans_Eimeria_Giardia_and_Cryptosporidium_in_lambs_with_diarrhoea_in_the_van_province_Turkey/links/567aa59e08ae051f9addd0b2.pdf
42. Current WL, Navin TR. Cryptosporidium: Its biology and potential for environmental transmission. Crit Rev Environ Control [Internet]. 1986 Mar 10;17(1):21–51. Available from: <https://doi.org/10.1080/10643388609388328>
 43. Chalmers RM, Davies AP. Minireview: Clinical cryptosporidiosis. Exp Parasitol [Internet]. 2010 Mar 10;124(1):138–46. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014489409000356>
 44. Leitch GJ, He Q. Cryptosporidiosis-an overview. J Biomed Res [Internet]. 2011 Mar 10;25(1):1–16. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3368497/>
 45. Bouzid M, Hunter PR, Chalmers RM, Tyler KM. Cryptosporidium pathogenicity and virulence. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2013;26(1):115–34. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23297262>
 46. Thompson RCA, Olson ME, Zhu G, Enomoto S, Abrahamsen MS, Hijjawi NS. Cryptosporidium and cryptosporidiosis. Adv Parasitol [Internet]. 2005;59:77–158. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16182865>
 47. Riggs MW. Recent advances in cryptosporidiosis: the immune response. Microbes Infect [Internet]. 2002;4(10):1067–80. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12191657>
 48. Mohammed HO, Wade SE, Schaaf S. Risk factors associated with Cryptosporidium parvum infection in dairy cattle in southeastern New York State. Vet Parasitol [Internet]. 1999;83(1):1–13. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10392763>
 49. Ahamed I, Yadav A, Katoch R, Godara R, Saleem T, Nisar NA. Prevalence and analysis of associated risk factors for Cryptosporidium infection in lambs in Jammu district. J Parasit Dis [Internet]. 2015 Mar 10;39(3):414–7. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12639-013-0353-y>
 50. Sánchez R, Romero J, Rossanigo C. Capítulo 16: Epidemiología y control de Coccidios y Cryptosporidium [Internet]. 2013th ed. 357–380 p. Available from: https://www.researchgate.net/publication/305479096_Epidemiologia_y_control_de_Coccidios_y_Cryptosporidium
 51. Sánchez E, Cruz R, Ortiz R, Castro E, Batiz E, Vázquez Z. Cryptosporidium parvum: prevalencia y factores de riesgo en becerros del municipio de Cuajinicuilapa, Guerrero, México. Vet y Zootecnia [Internet]. 2013;7(2011–5415):49–61. Available from: <http://vip.ucaldas.edu.co/vetzootec/downloads/v7n1a04.pdf>
 52. Núñez F. Capítulo 18: Giardia lamblia [Internet]. 1ra Edició. Llop A, Valdés-Dapena M, Zuazo JL; 2001. 31–38 p. Available from: https://www.researchgate.net/publication/280087571_Giardia_lamblia
 53. Bernander R, Palm JED, Svärd SG. Genome ploidy in different stages of the Giardia lamblia life cycle. Cell Microbiol [Internet]. 2001 Mar 10;3(1):55–62. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1462-5822.2001.00094.x>
 54. Dubourg A, Xia D, BSc KT her, France her Ms in, interests then crossed over the channel to do a P in parasitology at UEAH research, Underst PL in the, et al. Giardiasis from proteomics to pathogenesis [Internet]. BugBitten. 2018.

- Available from:
<http://blogs.biomedcentral.com/bugbitten/2018/03/23/giardiasis-from-proteomics-to-pathogenesis/>
55. Jiménez JC, Fontaine J, Grzych J-M, Dei-Cas E, Capron M. Systemic and mucosal responses to oral administration of excretory and secretory antigens from giardia intestinalis. *Clin Diagn Lab Immunol* [Internet]. 2004 Mar 10;11(1):152–60. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC321332/>
 56. Ponce-Macotela M, González-Maciel A, Reynoso-Robles R, Martínez-Gordillo MN. Goblet cells: are they an unspecific barrier against Giardia intestinalis or a gate? *Parasitol Res* [Internet]. 2008;102(3):509–13. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18038237>
 57. Castro-Hermida JA, García-Presedo I, Almeida A, González-Warleta M, Da Costa JMC, Mezo M. Detection of Cryptosporidium spp. and Giardia duodenalis in surface water: a health risk for humans and animals. *Water Res* [Internet]. 2009;43(17):4133–42. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19576608>
 58. Hernández N, Cortés J. Prevalencia y factores de riesgo de Cryptosporidium spp. y Giardia spp. en terneros de ganado lechero de la zona noroccidental de la Sabana de Bogotá. *Rev salud pública* [Internet]. 2012;14:169–81. Available from: <https://www.scielosp.org/pdf/rsap/2012.v14n1/169-181/es>
 59. Feng Y, Xiao L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of giardia species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2011 Mar 10;24(1):110–40. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3021202/>
 60. Zhang W, Zhang X, Wang R, Liu A, Shen Y, Ling H, et al. Genetic characterizations of giardia duodenalis in sheep and goats in heilongjiang province, china and possibility of zoonotic transmission. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2012 Mar 1;6(9). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3447956/>
 61. Adeyemo FE, Singh G, Reddy P, Stenström TA. Methods for the detection of Cryptosporidium and Giardia: From microscopy to nucleic acid based tools in clinical and environmental regimes. *Acta Trop* [Internet]. 2018 Mar 20;184:15–28. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X17304291>
 62. Vohra P, Sharma M, Chaudhary U. A comprehensive review of diagnostic techniques for detection of cryptosporidium parvum in stool samples. *IOSR J Pharm* [Internet]. 2012;2(5):15–26. Available from: http://iosrphr.org/papers/v2i5/Part_7/D0251526.pdf
 63. Shams S, Khan S, Khan A, Khan I, Ijaz M, Ullaj A. DIFFERENTIAL TECHNIQUES USED FOR DETECTION OF CRYPTOSPORIDIUM OOCYSTS IN STOOL SPECIMENS. :1–10. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/338823938_DIFFERENTIAL_TECHNIQUES_USED_FOR_DETECTION_OF_CRYPTOSPORIDIUM_OOCYSTS_I N_STOOL_SPECIMENS](https://www.researchgate.net/publication/338823938_DIFFERENTIAL_TECHNIQUES_USED_FOR_DETECTION_OF_CRYPTOSPORIDIUM_OOCYSTS_IN_STOOL_SPECIMENS)
 64. Jex AR, Smith H V, Monis PT, Campbell BE, Gasser RB. Cryptosporidium — Biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotechnol Adv* [Internet]. 2008 Mar 20;26(4):304–17. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975008000189>
 65. Calderón R. Instituto de Biotecnología [Internet]. 2007. Available from: <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/inmunoquimica.pdf>

66. Johnston SP, Ballard MM, Beach MJ, Causer L, Wilkins PP. Evaluation of three commercial assays for detection of giardia and cryptosporidium organisms in fecal specimens. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2003 Mar 11;41(2):623–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC149727/>
67. 59 MERIFLUOR. Direct immunofluorescent detection procedure for the simultaneous detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in fecal material. [Internet]. Available from: https://www.meridianbioscience.com/uploads/250050_pi.pdf
68. Fayer R, Santín M, Trout JM, DeStefano S, Koenen K, Kaur T. Prevalence of microsporidia, cryptosporidium spp. , and giardia spp. In beavers(*Castor canadensis*) in massachusetts. *J Zoo Wildl Med* [Internet]. 2006 Mar 20;37(4):492–7. Available from: <https://bioone.org/journals/Journal-of-Zoo-and-Wildlife-Medicine/volume-37/issue-4/06-013.1/PREVALENCE-OF-MICROSPORIDIA-CRYPTOSPORIDIUM-SPP-AND-GIARDIA-SPP-IN-BEAVERS/10.1638/06-013.1.full>
69. Olson ME, Thorlakson CL, Deselliers L, Morck DW, McAllister TA. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. *Vet Parasitol* [Internet]. 1997 Mar 17;68(4):375–81. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401796010722>
70. Squire SA, Yang R, Robertson I, Ayi I, Ryan U. Molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* in farmers and their ruminant livestock from the Coastal Savannah zone of Ghana. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis* [Internet]. 2017;55:236–43. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28941990>
71. Castro-Hermida JA, Pors I, Poupin B, Ares-Mazás E, Chartier C. Prevalence of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium parvum* in goat kids in western France. *Small Rumin Res* [Internet]. 2005 Mar 17;56(1):259–64. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448804001427>
72. Delafosse A, Castro JA, Baudry C, Pors I, Ares ME, Chartier C. Prévalence et facteurs de risque de la cryptosporidiose caprine dans le département des Deux Sèvres (France). *Renc Rech Ruminants* [Internet]. 2003;289–92. Available from: http://www.journees3r.fr/IMG/pdf/sante_06_Delafosse.pdf
73. Santín M, Trout JM, Fayer R. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* species and genotypes in sheep in Maryland. *Vet Parasitol* [Internet]. 2007;146(1–2):17–24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17335979>
74. Castro-Hermida JA, González-Warleta M, Mezo M. Natural infection by *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in sheep and goats in Galicia (Nw Spain). *Small Rumin Res* [Internet]. 2007 Mar 17;72(2):96–100. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448806002355>
75. Tzanidakis N, Sotiraki S, Claerebout E, Ehsan A, Voutzourakis N, Kostopoulou D, et al. Occurrence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in sheep and goats reared under dairy husbandry systems in Greece. *Parasite* [Internet]. 2014 Mar 17;21. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4154256/>
76. Castro N, Castro N, Enríquez I, Portillo J, Gaxiola S. PREVALENCIA FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A *Cryptosporidium* spp EN CORDEROS DE _ELO DEL MUNICIPIO DE CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO. *Rev Científica, FCV-LUZ* [Internet]. 2017;4:211–9. Available from:

- <https://www.redalyc.org/pdf/959/95953011003.pdf>
77. Sari B, Arslan MÖ, Gıcık Y, Kara M, Taşçı GT. The prevalence of *Cryptosporidium* species in diarrhoeic lambs in Kars province and potential risk factors. *Trop Anim Health Prod* [Internet]. 2008 Mar 17;41(5):819. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11250-008-9260-0>
 78. Majewska AC, Werner A, Sulima P, Luty T. Prevalence of *Cryptosporidium* in sheep and goats bred on five farms in west-central region of Poland. *Vet Parasitol* [Internet]. 2000 Mar 17;89(4):269–75. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401700002120>
 79. Xiao L, Herd RP, Rings DM. Diagnosis of *Cryptosporidium* on a sheep farm with neonatal diarrhea by immunofluorescence assays. *Vet Parasitol* [Internet]. 1993;47(1–2):17–23. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8493764>
 80. Clima anolaima: temperatura, climograma y tabla climática para anolaima - climate-data. Org [Internet]. 2020. Available from: <https://es.climate-data.org/america-del-sur/colombia/cundinamarca/anolaima-49867/>
 81. Green R, Alessandro FT, Amarante, Luciene, Mascarini. THE SEASONAL DISTRIBUTION OF *Cryptosporidium* oocysts IN SHEEP RAISED IN THE STATE OF SÃO PAULO. *Rev Bras Parasitol*. 2004;13:125–7.
 82. Mukbel RM, Ghaith AO, Halaweh MA, Abo-Shehada MN. Prevalence of giardia assemblages among equines in Jordan. *J Equine Vet Sci* [Internet]. 2017 Mar 17;57:1–7. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080617304100>
 83. Robertson LJ, Gjerde BK, Furuseth Hansen E. The zoonotic potential of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Norwegian sheep: a longitudinal investigation of 6 flocks of lambs. *Vet Parasitol* [Internet]. 2010;171(1–2):140–5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20381251>
 84. Fayer R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Vet Parasitol* [Internet]. 2004;126(1–2):37–56. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15567578>
 85. Karanis P. *Giardia* and *cryptosporidium*: occurrence in water supplies. In: *Encyclopedia of Environmental Health* [Internet]. Elsevier; 2011. p. 271–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444639516005659>
 86. Olson M, Goh J, Phillips M, Guselle N, McAlister T. *Giardia* Cyst and *Cryptosporidium* Oocyst Survival in Water, Soil, and Cattle Feces. *J Environ Qual* [Internet]. 1999;28:1991–5. Available from: https://www.researchgate.net/publication/250107059_Giardia_Cyst_and_Cryptosporidium_Oocyst_Survival_in_Water_Soil_and_Cattle_Feces
 87. Ramo A, Del Cacho E, Sánchez-Acedo C, Quílez J. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in raw and finished drinking water in north-eastern Spain. *Sci Total Environ* [Internet]. 2017;580:1007–13. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27993472>
 88. Maddox-Hyttel C, Langkjaer RB, Enemark HL, Vigre H. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs--occurrence and management associated risk factors. *Vet Parasitol* [Internet]. 2006;141(1–2):48–59. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16797848>
 89. Sahraoui L, Thomas M, Chevillot A, Mammeri M, Polack B, Vallée I, et al. Molecular characterization of zoonotic *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* pathogens in Algerian sheep. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*

- [Internet]. 2019 Mar 17;16:100280. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405939018302417>
90. Geurden T, Vercruysse J, Claerebout E. Is Giardia a significant pathogen in production animals? *Exp Parasitol* [Internet]. 2010;124(1):98–106. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19285075>

ANEXOS

Anexo 1. Registro de fincas

REGISTRO DE FINCAS 2019



Formato para determinar los factores de riesgo de la presencia de *Cryptosporidium spp* y *Giardia duodenalis* en ovino-caprinos en el área de muestreo.

N° de Ovino o caprinos muestreados:

	Lugar de la finca
	Fecha de diligenciamiento:
	Vereda: _____

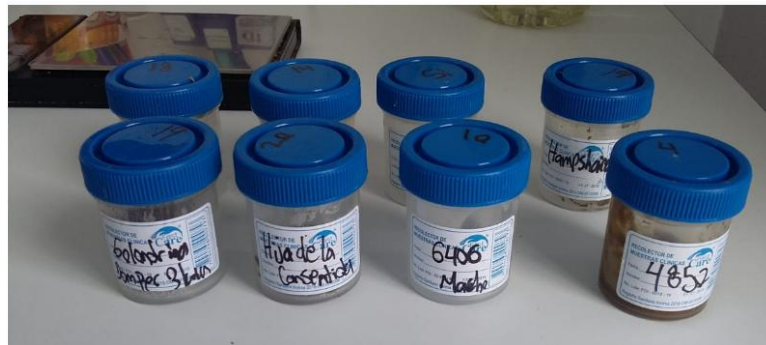
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Bacteriología y Laboratorio Clínico
Énfasis en Diagnóstico Clínico Veterinario

Características de la finca	
¿Cuál es el hábitat de los ovinos o caprinos? : libres _____ establos _____ rediles _____	
Raza de ovino _____	Raza caprino _____
Cruce de especies. SI _____ NO _____	
¿Entre que especies?: _____	
¿Realiza rotación de potreros? SI _____ NO _____ frecuencias o periodo: _____	
Tipo de producción: carne _____ leche _____ Mixta _____ Lana _____	
Tipo de explotación: Intensiva _____ Extensiva _____	
Zona inundable: SI _____ NO _____	
¿Quién realiza la Asistencia médica?: Profesional _____ Técnico _____ Otro _____	

Manejo y cuidado de los animales		
El Agua es de: pozo _____ municipal _____ estanque _____	¿Le realiza tratamiento al agua? SI _____ NO _____	
	¿Cual? : _____	
Tipo de alimento: leche _____ leche sustituta _____ concentrado _____ forraje _____ pasto _____ Mixta _____		
Número de corderos o cabritos por rebaño: _____		
¿Existen otros tipos de animales en la finca? SI _____ NO _____		
Especie	Número	Entre que edades
Bovinos		
Porcinos		
Equinos		
Aves		
Caninos y felinos		

Otro. Cuál? _____			
Limpieza del área de corderos o cabritos: semanal _____ Quincenal _____ Mensual _____			
Realiza desinfección?: SI _____ NO _____		¿Qué desinfectante o desinfectantes utiliza?: ○ ○	
Desecho de excretas		Pozo _____	Abono _____ Otro ¿Cuál? _____
Desparasitación	¿Cada cuánto? Al observar presencia de parásitos macroscópicos _____ Cada tres meses _____ Cada seis meses _____		
Presencia de corderos o cabritos diarreicos SI _____ NO _____			
Presencia de otros síntomas, ¿cuáles?			

Anexo 2. Muestras en frascos de tapa rosca debidamente rotulados y refrigerados



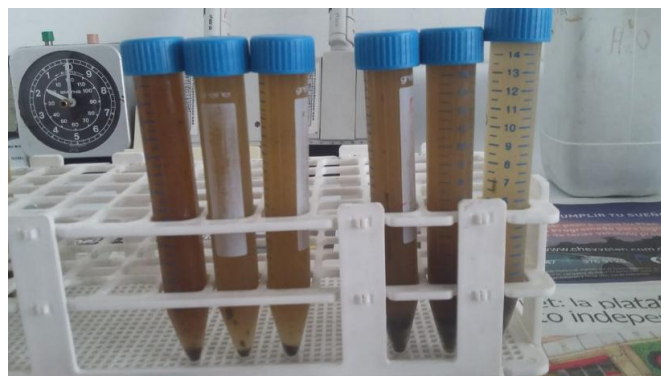
Anexo 3. Mezcla de los 15 gramos de materia fecal y 35 ml de agua destilada



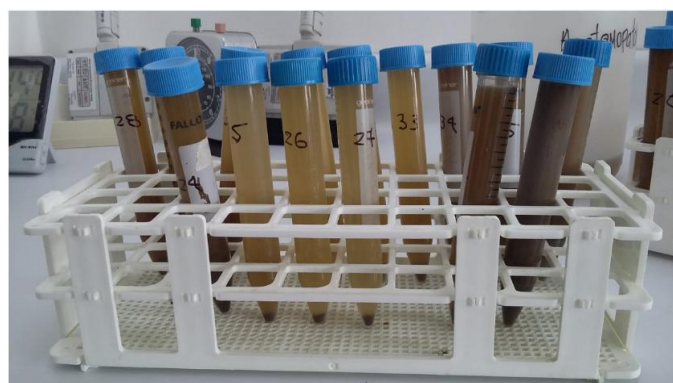
Anexo 4. Filtración de la mezcla resultante del paso anterior por embudo y gasa.



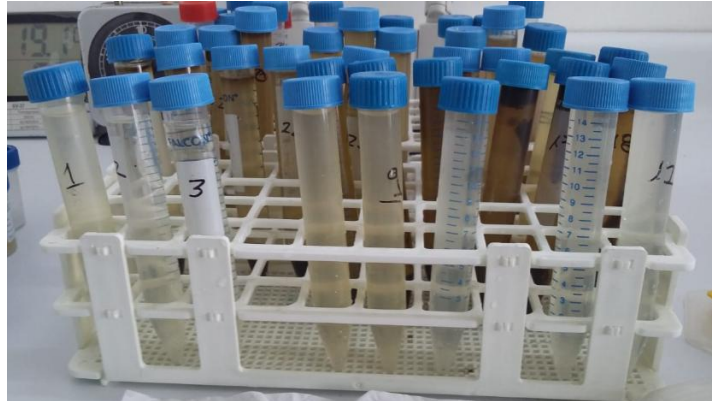
Anexo 5. Líquido del paso anterior se coloca por triplicado en los tubos Falcon y se completan con agua destilada.



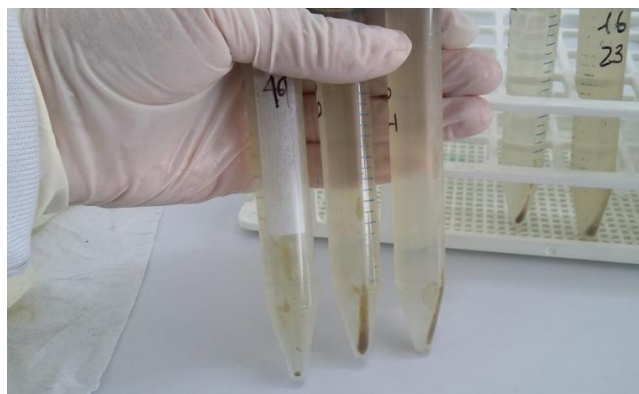
Anexo 6. Tubos que después de salir de la centrifuga se les ha descartado el sobrenadante para obtener sólo el pellet y mezclarlo con la solución azucarada de Sheather.



Anexo 7. Después de centrifugar los tubos con la Solución azucarada, se obtienen 4ml del sobrenadante para posteriormente colocarlo en nuevos tubos Falcon que van a contener 10 ml de agua destilada.



Anexo 8. Descarte de sobrenadantes y recuperación del Pellet.



Anexo 9. Tubos Eppendorf con las respectivas alícuotas de cada muestra



Anexo 10. Proceso de la Inmunofluorescencia Directa

