Ab Intus Revista Ab Intus FAV-UNRC
2022, 10(5): 1-17 ISSN 2618-2734

Características epidemiológicas y clínicas de la infección por *Cryptosporidium* spp. en granjas porcinas intensivas de Argentina

Epidemiological and clinical characteristics of *Cryptosporidium* spp. infection in intensive swine farms in Argentina

DOI: 10.5281/zenodo.7484725

Hernán José Lovera*[1], Bibiana Pelliza[1], Mercedes Vázquez[1]

1-Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto.

RESUMEN. Los cerdos son muy susceptibles a infecciones por varias especies de *Cryptosporidium*. Es usualmente una enfermedad subclínica. Los patrones de infección, duración e importancia económica permanecen sin reportes. En Argentina hay escasos estudios que hayan determinado la prevalencia en los cerdos, características epidemiológicas y clínicas.

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia y distribución de *Cryptosporidium* spp. en cerdos de granjas intensivas de Argentina, y las características de consistencia y color de las fecas. Se muestrearon 22 establecimientos. De cada uno de ellos se tomaron muestras de materia fecal de 10 cerdos de 8, 15 y 22 semanas de edad. Se determinó presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* y cantidad de ooquistes por gramo (opg) de materia fecal, consistencia, color y su relación con la presencia/ausencia del agente, con la edad, cantidad de opg y tipo de piso utilizado. Se concluyó que *Cryptosporidium* es un agente prevalente en granjas intensivas de Argentina. Se detectó en el 86,4% de los establecimientos relevados (prevalencia intrapredial del 6,66% al 26,66%). Es prevalente en animales de 8 y 15 semanas de edad. Parece no ser frecuente en 22 semanas de edad. La materia fecal de animales positivos fue mayormente de color amarronada (hasta amarillenta) y consistencia cremosa (hasta líquida). El 89% de los animales positivos mostraron disminución en la consistencia de la materia fecal. Los niveles de opg mayores se observaron en éste tipo de materias fecales. Finalmente, existiría una probable asociación entre el tipo de piso (enrejillado/sólido) y porcentaje de animales positivos.

Palabras claves: *Cryptosporidium*, criptosporidiosis, porcinos, diarrea.

Artículo recibido: 25/4/22. Artículo aceptado: 22/8/22

***Autor para correspondencia:** Hernán José Lovera. Ruta Nacional 36, Km. 601, 5804 Río Cuarto, Córdoba, Argentina;
E MAIL hlovera@ayv.unrc.edu.ar

Financiamiento: El estudio estuvo enmarcado dentro del "Programa de alta salud para el mejoramiento de la calidad del porcino", aprobado y financiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Río Cuarto

Esta obra está bajo licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es_AR

ABSTRACT. Pigs are highly susceptible to infection by various species of *Cryptosporidium*. It is usually a subclinical disease. Infection patterns, duration and economic importance remain unreported. In Argentina there are few studies that have determined the prevalence in pigs, epidemiological and clinical characteristics. The objective of the present study was to determine the presence and distribution of *Cryptosporidium* spp. in pigs from intensive farms in Argentina, and the characteristics of consistency and color of feces. 22 establishments were sampled. From each of them fecal matter samples were taken from 10 pigs of 8, 15 and 22 weeks of age. The presence of *Cryptosporidium* oocysts and the number of oocysts per gram (opg) of fecal matter, consistency, color and their relationship with the presence/absence of the agent, with age, amount of opg and type of floor used were determined. It was concluded that *Cryptosporidium* is a prevalent agent in intensive farms in Argentina. It was detected in 86.4% of the surveyed establishments (intra-farm prevalence from 6.66% to 26.66%). It is prevalent in animals between 8 and 15 weeks of age. It appears to be infrequent at 22 weeks of age. The fecal matter of positive animals was mostly brownish (up to yellowish) in color and creamy (up to liquid) in consistency. 89% of the positive animals showed a decrease in the consistency of fecal matter. The highest opg levels were observed in this type of fecal matter. Finally, there would be a probable association between the type of floor (grid/solid) and the percentage of positive animals.

Keywords: *Cryptosporidium*, cryptosporidiosis, pigs, diarrhea.

INTRODUCCIÓN

La criptosporidiosis en los cerdos ha sido reportada en todo el mundo (Liu *et al.*, 2015). Es una enfermedad que se describe en todo el mundo en prácticamente todas las especies de ungulados con prevalencias y presentaciones clínicas muy variables (Hatam-Nahavandi *et al.*, 2019; Parsons *et al.*, 2015). Los cerdos son muy susceptibles a la infección por varias especies de *Cryptosporidium* y las tasas de prevalencia son similares a las encontradas en el ganado bovino de la misma región estudiada (Bodager *et al.*, 2014). Es usualmente una enfermedad subclínica (Nemejc *et al.*, 2013-b; Lin *et al.*, 2015) o en su defecto desarrollan una enfermedad diarreica autolimitante (Wang *et al.*, 2018).

De las especies que afectan a los cerdos, *C. suis* es más comúnmente visto en lechones jóvenes, mientras que *C. scrofarum* es relativamente más común en cerdos mayores (Feng *et al.*, 2018; Kaupke *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2021; García-Presedo *et al.*, 2013; Nemejc *et al.* 2013-a).

Existen marcadas diferencias en la estructura poblacional de los criptosporidios de los cerdos y en su caracterización molecular entre y dentro de los diferentes paises (Helmy *et al.*, 2013; Nguyen *et al.*, 2013; Parsons *et al.*, 2015; Petterson *et al.*, 2020).

Lo cierto es que se sabe poco acerca de la incidencia de este parásito en los cerdos (Qia *et al.*, 2020; Suarez-Luengas *et al.*, 2007; Xiao, 2010), como así también acerca de su importancia económica (Qia *et al.*, 2020; Xiao, 2010; Nemejc *et al.*, 2012). La infección está asociada generalmente a infecciones subclínicas sin diarrea, aunque otros estudios revelan la presencia de síntomas clínicos (Suarez-Luengas *et al.*, 2007).

Los estudios sugieren que la contribución de *Cryptosporidium* a la coccidiosis porcina puede haber sido subestimada y los reportes de los diferentes países han mostrado no solo que es prevalente en los cerdos, sino que puede ocurrir simultáneamente con *Isospora* y en animales mayores, lo que pudo aportar a su subestimación (Olalekan *et al.*, 2019).

La criptosporidiosis fue reportada por primera vez en cerdos (*Sus scrofa*) en Estados Unidos en 1977. De allí en adelante, ha sido descripta en países de todo el mundo como Australia, Japón, Estados Unidos y Vietnam (Bodager *et al.*, 2014; Budu-Amoako *et al.*, 2012; Izumiyama *et al.*, 2001; Olalekan *et al.*, 2019; Nemejc *et al.*, 2012; Vitovec *et al.*, 2006; Suarez-Luengas *et al.*, 2007; Johnson *et al.*, 2008; Yui *et al.*, 2014; Kvác *et al.*, 2013), aunque el limitado número de estudios epidemiológicos hace dificultoso conocer la prevalencia de la infección en muchos otros países (Bodager *et al.*, 2014; Qia *et al.*, 2020). Esto último se debe a la opinión establecida en general que *Cryptosporidium* no es un serio causante de enteritis ya sea en lechones neonatos o post destete, ya que no se observan manifestaciones clínicas en lechones infectados experimentalmente de más de 15 días de edad, aunque los ooquistes eran detectados en las heces (Liu *et al.*, 2021). Sin embargo, la criptosporidiosis en cerdos puede ser de interés económico, ya que un efecto negativo se ha asociado con la infección experimental en lechones de 8 días de edad (Bodager *et al.*, 2014).

Numerosos factores de riesgo, incluyendo la edad han sido asociados con la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en terneros, sin embargo, ha sido reportado que las granjas porcinas con buenas prácticas de manejo y buena higiene pueden reducir la contaminación ambiental y de este modo retrasar las infecciones por *Cryptosporidium* spp. (Mirhashemi *et al.*, 2016).

Está bien demostrado entonces que la criptosporidiosis puede ser responsable de diarrea en los lechones (Kvác *et al.*, 2013). En neonatos y sobre todo en individuos inmunocomprometidos puede causar diarrea severa y enfermedad intestinal fatal (Mirhashemi *et al.*, 2016). En general, la prevalencia en maternidad bajo condiciones de infección natural, se reportan muy bajas (Bodager *et al.*, 2014).

Existen muchos trabajos que demuestran que naturalmente la criptosporidiosis está postergada hasta después del destete, con infecciones mayormente asintomáticas y usualmente de baja intensidad sin asociación estadística entre infección y síntomas clínicos (Zhang *et al.*, 2013). Bodaguer *et al.*, (2014), Kvác *et al.* (2014) y Petersen *et al.* (2015) no detectaron ooquistes en lechones lactantes ni adultos. Los mayores grados de infección los observó luego de que fueran destetados. Siempre se sugirió que la falta de infección en las cerdas adultas podría descartarlas como implicadas en algún rol en la epidemiología de la enfermedad en la maternidad. Esto contrasta con lo sugerido por otros autores en donde se implica directamente a las cerdas como fuente de infección para los lechones, pero sugiriendo que no tienen un rol importante, ya que el número de cerdos maduros eliminando ooquistes fue muy bajo (Lin *et al.*, 2015).

Vitovec y Koudela (2002) reportaron no encontrar diferencias en ubicación y grado de infección criptosporidial entre lechones infectados experimentalmente ya sea, privados de calostro como alimentados con calostro, concluyendo que el calostro de las madres no parece proteger a los lechones contra la infección por *Cryptosporidium* spp. Sin embargo, llamativamente, Yui *et al.*, (2014) y Kvác *et al.* (2014) observaron una prevalencia del doble a la reportada previamente por Vitovec *et al.*, (2006) con anterioridad, para República Checa. Bodager *et al.* (2014), y Zhang *et al.* (2013), reportaron que *Cryptosporidium* es más prevalente y que es más frecuentemente reportado en animales entre las 6 y 12 semanas de edad. Otros estudios han demostrado bajas prevalencias en animales mayores. Lin *et al.* (2015) sugieren que el estrés que causa el destete podría hacer que sean más susceptible a la infección.

Estudios en Italia, Cuba y Checoslovaquia mostraron que los grados de infección en lechones lactantes fueron del 0,5 %, 2,1 % y 9 % respectivamente. Mientras que otros autores, también en Italia, no encontraron animales infectados de 88 lechones muestreados (Bodager *et al.*, 2014). Contrariamente a muchos de estos reportes, en China, en un estudio de prevalencia, los coccidios en general, siempre se aislaron con mayor frecuencia en lechones lactantes (Xiao *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2021). Recientemente algunos estudios han indicado especificidad de edad para varias especies/genotipos de *Cryptosporidium* en cerdos, hecho ya demostrado con anterioridad en los rumiantes (Yui *et al.*, 2014; Nemejc *et al.*, 2012).

En lechones, la concentración pico de ooquistes en las heces se correlacionó con diarrea en 11 de 12 lechones, pero la eliminación de ooquistes continuó por varios días luego de acabada la diarrea (Wang *et al.*, 2022). La edad media en la cual los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. fueron detectados fue mayor en cerdos que en terneros de tambos (Silverlas y Blanco-Penedo, 2013). Mirhashemi *et al.* (2016) estudió la eliminación de ooquistes en cerdos en una granja porcina al este de Calgary y reportó una edad promedio de detección inicial de ooquistes de 45,2 días después del destete, con una duración promedio de infección de 28,7 días (Ryan y Xiao, 2005).

Respecto a la asociación de la enfermedad con otros patógenos, se ha confirmado en varias oportunidades que la diarrea en lechones lactantes y destetados es usualmente un problema multifactorial donde infecciones mixtas entre *Cryptosporidium* spp. y *E. coli* o *Rotavirus* son frecuentes y que la presencia de otros patógenos podría realzar el desarrollo de criptosporidiosis clínica (Song *et al.*, 2015; Bodager *et al.*, 2014; Budu-Amoako *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2022).

En muchos países como por ejemplo en Croacia, se implementaron varias unidades de producción al aire libre. Al lograrse baja densidad de animales en producción, se influenciaba positivamente el crecimiento de los cerdos jóvenes que, en unidades confinada, donde prevalecían las enfermedades respiratorias o *Lawsonia intracelulares*. Experiencias húngaras y alemanas citaron que la producción al aire libre trae aparejados otros problemas como *Ascaris summ* y *E. coli*. *Giardia duodenalis*, *Balantidum coli* y *Cryptosporidium* spp. son patógenos transmitidos por alimento, agua o ambiente contaminado (Ruecker *et al.*, 2012). Desde el punto de vista veterinario, son patógenos que aparecen tanto en crianzas al aire libre como confinados. (Rzezuka *et al.*, 2014).

La prevalencia de *Cryptosporidium* spp. muestra grandes variaciones en todo el mundo: Alemania (8,3 %), España (21,9 %), Japón (33,2 %), Canadá (9,7 %) y Estados Unidos (7,1 %) (Wieler, et al. 2001; Mirhashemi *et al.*, 2016). Algunos de estos resultados, subrayan el hecho de que, a pesar de la higiene, técnicas diagnósticas y de los esfuerzos de prevención durante los últimos años, los enteropatógenos en general son aún comunes en unidades de producción de lechones (Zou *et al.*, 2017).

En Canadá hay varios estudios que determinaron diferentes niveles de prevalencia. En Ontario, basado sobre muestras histológicas, 5,3% de 3491 cerdos, estaban infectados. La mayoría estaban entre 1-12 semanas de edad, pero cerdos mayores, como de 30 semanas de edad estuvieron infectados (Fayer *et al.*, 2010). Budu-Amoako *et al.* (2012) encontraron en Canadá una prevalencia del 26% sobre 633 cerdos muestreados y 86% de granjas infectadas.

Un ensayo pudo reproducir la infección exitosamente de *C. parvum* genotipo I (genotipo humano) en lechones e inclusive en corderos usando ooquistes de *Cryptosporidium* de pacientes humanos diarreicos (Rasková *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2021). Posteriormente, en otro ensayo, *C. parvum* genotipo I fue exitosamente establecido en lechones gnotobióticos (Widmer *et al.*, 2000).

Hoy se reconoce a los cerdos como reservorio de *Cryptosporidium*, por lo tanto es de primordial importancia entender la prevalencia de *Cryptosporidium* en los cerdos para diseñar medidas de control y prevención de la criptosporidiosis tanto en animales como en humanos (García-Presedo *et al.*, 2013; Zeng *et al.*, 2019).

Los objetivos del presente trabajo fueron:

-Determinar la presencia y frecuencia de presentación de *Cryptosporidium* spp. en granjas intensivas porcinas (predial e intrapredial).

-Determinar la distribución etaria de la infección por *Cryptosporidium* spp. en cerdos post destete.

-Caracterizar la materia fecal de los animales positivos a *Cryptosporidium* spp.

-Establecer una relación entre la presentación de diarreas y el tipo de piso utilizado en las categorías estudiadas.

-Establecer una relación entre el evento diarrea y la cantidad de ooquistes por gramo de materia fecal (opg) de *Cryptosporidium* spp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población a estudiar (animales y establecimientos)

Para la detección de la prevalencia de predios se requirió de 27 granjas, considerando una prevalencia estimada de 80%, un nivel de confianza del 95% y un error del 15%. Los establecimientos se consideraron positivos con la detección de al menos un animal positivo a *Cryptosporidium* spp. Para el cálculo del tamaño de la muestra y ajuste por tamaño, se consideraron 280 establecimientos de ciclo completo en Argentina y se utilizaron las fórmulas citadas por Thrusfield (2013). Basándose en estos datos, si la prevalencia medida coincide con la esperada, entonces la prevalencia verdadera estará entre el 59,7% y el 94,3%. Debido a que no se pudo concretar la visita con las 27 granjas, finalmente se muestrearon 22 granjas.

Se realizó un estudio de corte transversal. Los establecimientos se seleccionaron utilizando un método de muestreo por conveniencia (Thrusfield, 2013). La condición para estar incluidos en la muestra, fue que contaran con etapas productivas de parto a terminación y que su ubicación geográfica ayudara a contemplar las diferentes provincias de mayor producción porcina del país. Para definir el número de animales a muestrear en cada granja y determinar la presencia o ausencia de animales positivos a *Cryptosporidium* spp. en las categorías de 8, 15 y 22 semanas de vida, se utilizó una confianza del 95% y una prevalencia estimada del 30%, resultando un total de 30 animales por establecimiento (10 animales por cada una de las categorías de 8, 15 y 22 semanas de vida) lo que totalizaron 660 muestras (22 granjas por 30 muestras/granja). En cada faja etaria se extrajo al azar materia fecal de 10 animales por categoría.

Caracterización de las instalaciones

Se tuvo en cuenta el tipo de pisos sobre los que se encontraban alojadas las diferentes categorías bajo estudio. Sólo se registró si el piso era sólido (concreto o cemento), parcialmente enrejillado o totalmente enrejillado.

Caracterización de la materia fecal

Color: se tomaron fotos con ayuda de una cámara digital *HP Photosmart M23* y a medida que el estudio avanzó, la escala se fue adaptando de acuerdo a los hallazgos. Finalmente, y con el objeto de cubrir las diferentes gamas de colores posibles a encontrar se elaboró la escala definitiva en: amarillo, amarronado, gris y rojiza. Vale aclarar que el color caracterizado como amarillo incluye todas las variantes de tonalidades del color, al igual que para el amarronado, gris y rojizo incluyen todas las variantes del color base.

Consistencia: su calificación fue adaptada de acuerdo con una ya existente realizada por Sobestiansky *et al.* (2005). La escala definitiva (de mayor a menor consistencia) de acuerdo a los hallazgos fue pastosa, cremosa y líquida.

Muestras: Las muestras de materia fecal fueron tomadas directamente del recto y se almacenó individualmente en bolsa de polietileno a 4ºC en conservadora de telgopor e identificada con la fecha de toma de la muestra, identificación del establecimiento e identificación de la categoría a la que pertenecía el animal muestreado.

Procedimientos de laboratorio: Cada muestra fue homogeneizada manualmente en su bolsa de polietileno, se tomó una alícuota de 1 gr. y la misma fue procesada y concentrada mediante la técnica de Telleman Modificado (Allen y Ridley, 1970).

El sedimento obtenido de cada una de las muestras, se resuspendió con solución salina formolada hasta llevarlo a un volumen de 1 ml y se almacenó en tubos tipo *eppendorf* de 1,5 ml con tapa a presión. De cada una de las muestras se extrajo con micropipeta (previa homogeneización con vórtex) un volumen de 200 µl, y se realizó un extendido sobre un portaobjetos el cuál se secó a temperatura ambiente y se fijó en alcohol etanol absoluto por 10 minutos. Luego se realizó la coloración de Zielh-Neelsen modificado (Henriksen y Pohlenz, 1981). El extendido se examinó mediante microscopía óptica con objetivo de 40x, contabilizando la totalidad de ooquistes observados en la totalidad del extendido. La misma se multiplicó por 5, para estimar así la cantidad de opg (ooquistes por gramo) de materia fecal.

Análisis estadísticos:

-Se calculó la frecuencia de establecimientos positivos a *Cryptosporidium* spp., y dentro de cada establecimiento la frecuencia del total de animales positivos y por edad.

-Se analizó la existencia de asociación entre la edad y la presencia del agente mediante tablas de contingencia, y se calculó el chi cuadrado, razón de prevalencia e intervalos de confianza (IC) de la razón de prevalencia.

-Para cada una de las proporciones obtenidas para color, consistencia de materia fecal y sus combinaciones se determinó un intervalo de confianza al 95%.

-Se determinó la mediana de opg y se describió la distribución de cada consistencia de materia fecal respecto a la mediana de opg.

-Se describió la distribución de las diferentes consistencias de materia fecal para los diferentes tipos de pisos registrados en cada categoría.

-Los datos se cargaron en planilla de cálculo Microsoft Office Excel 2016 (12.0.6425.1000) SP2 MSO (12.0.6425.1000).

-Para el procesamiento de la información se utilizó el Programa para Análisis Epidemiológico de Datos Tabulados. Versión 4.2 (EPIDAT), Julio 2016.

RESULTADOS

Se muestrearon 22 establecimientos, debido a que no se pudo concretar la visita con algunos de los productores. Los mismos se encontraron distribuidos de la siguiente manera: Córdoba (6), Buenos Aires (5), Santa Fe (4), Tucumán (2), Entre Ríos (2), La Pampa (1), San Juan (1) y San Luis (1). Abarcando el muestreo las siete provincias de mayor producción porcina del país (Figura 1-Suplementario).

Sólo el 13,6% (3/22) de los establecimientos fueron negativos, por lo que el 86,3% (19/22) de los establecimientos resultó positivo a la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium spp*. en materia fecal (Figura 2-Suplementario).

Al analizar los resultados de los 660 cerdos de manera individual, se encontró que independientemente de la edad, fueron positivos el 10,7% (71/660) (Figura 3-Suplementario).

En la figura 4 (Suplementario)se observa la distribución de animales positivos y negativos para las diferentes edades muestreadas. Puede observarse una clara tendencia declinante de la frecuencia de presentación del agente a medida que los animales aumentan en edad. De las muestras tomadas al azar, en todos los establecimientos que resultaron

positivos (19) se encontraron animales positivos a las 8 semanas de edad. En cuatro establecimientos hubo animales positivos a las 15 semanas de edad, y no se encontraron animales positivos en la categoría de 22 semanas de edad.

Al ser la población de 8 semanas de edad la que más manifestó la presencia del agente se intentó poner en evidencia que los animales pertenecientes a esta faja etaria fueron los más susceptibles de adquirir el agente. Para éste fin se utilizó una tabla de contingencia con un nivel de confianza del 95% en donde se evaluaron los animales positivos y negativos de 8 semanas de edad, y los animales positivos y negativos mayores a 8 semanas de edad (Tabla 1-Suplementario).

Como resultado de la tabla de contingencia obtenemos una razón de prevalencia igual 4,45, es decir, que por cada un individuo mayor a 8 semanas de edad, tenemos 4,45 individuos positivos de 8 semanas de edad (Tabla 2-Suplementario).

La tabla 3 (Suplementario) muestra el tipo de piso sobre el que estaban alojados los animales bajo estudio, y el porcentaje de animales positivos total y en cada una de las categorías de los 22 establecimientos muestreados. Vemos que la categoría de 8 semanas es la que mayor frecuencia de presentación tuvo del agente (10% a 50%). La frecuencia de presentación intrapredial varió entre el 10% y el 26,66%. De la observación general de ésta tabla podemos apreciar que la categoría de 8 semanas de edad fue la que más presentación tuvo del agente. Si nos centramos en ésta categoría, el 80% de los establecimientos que tienen pisos parcialmente enrejillados tienen 30% o más en porcentaje de positividad. Mientras que, en la categoría de 15 semanas de edad, el 57% de los establecimientos que resultaron negativos a ésta categoría, tenían pisos enrejillados completos.

Algunos ejemplos de diferentes tipos de pisos de los establecimientos bajo estudio se muestran en las figuras 5 al 9 (Suplementario).

La figura 10 (Suplementario) muestra las características de la consistencia observadas de las materias fecales del total de los animales (660) muestreados discriminados por edad. Podemos observar que en todas las edades estudiadas la consistencia predominante fue la pastosa, seguida por la cremosa y luego la líquida en menor proporción.

En la figura 11 (Suplementario) se muestra la coloración de las materias fecales del total de la población estudiada (660). Todas las variantes de colores fueron encontradas en las diferentes edades en distintas proporciones. En relación a la coloración, la que predominó fue la amarronada, seguidas en orden decreciente por la gris, la amarilla y por último, en muy baja proporción la rojiza.

Sin embargo, si vemos como se distribuyeron los colores y consistencia de materias fecales en los animales negativos observamos que la consistencia predominante fue claramente la pastosa, seguida en orden decreciente por la cremosa y la líquida (Figura 12-Suplementario). Mientras que el color predominante fue el gris (con una participación creciente a mayor edad), que junto a la amarronada (en segundo lugar) fueron los colores predominantes. En el caso de la amarronada, mostró una participación decreciente a mayor edad (Figura 13-Suplementario).

Con respecto a la distribución según la edad de las consistencias y color de las materias fecales, dentro de la población que resultó positiva la podemos observar en las figuras 14 y 15 (Suplementario), respectivamente. Vemos que la consistencia cremosa seguida de la líquida fueron las predominantes. En una baja proporción, se presentó como pastosa. Y el color predominante fue el amarronado, seguido por el amarillento.

En la tabla 4 (Suplementario) se muestran en detalle las características tanto de consistencia como color de la totalidad de los animales (660) muestreados, mostrando además el porcentaje que representan y su correspondiente intervalo de confianza (IC) al 95%. En esta tabla podemos apreciar que la consistencia más frecuente de observar, incluso en todas las edades evaluadas, es la consistencia pastosa (57,12%-IC 53,27-60,97). Mientras que lo que respecta al color de la materia fecal, en las categorías de 8 semanas (47,27%-IC 40,45-54,10) y 15 semanas (43,64%-IC 36,85-50,41) es el color amarronado, y en los animales de 22 semanas de edad, el color predominante fue el gris. Si consideramos al total de animales, sin discriminar por edades, el mayor número de animales se encasilló en la materia fecal de color gris (43,03%-IC 39,17-46,88).

En la tabla 5 (Suplementario) se muestra la misma información que la tabla 4 (Suplementario), pero en éste caso, correspondiente a los animales que resultaron negativos. Haciendo una observación similar a la hecha anteriormente, podemos apreciar que la consistencia predominante en este grupo de animales fue la pastosa (62,65%-IC 58,66-66,64), coincidente con lo visto en la tabla 4 (correspondiente a la totalidad de la población-Suplementario).

En cuanto al color de la materia fecal, observamos que el predominante en los animales de 8 semanas de edad fue el amarronado (50,88%-IC 43,09-58,66), mientras que para los animales de 15 y 22 semanas de edad fue el gris (43,94%-IC 36,77-51,10 y 55,91%-IC 49,12-62,70, respectivamente). Si consideramos al total de ésta población (animales negativos), sin discriminar por edades, el mayor número de animales se encasilló dentro de la materia fecal de color gris (45,33%-IC 41,23-49,44). Estas observaciones coinciden mayoritariamente con lo observado en la tabla 7 (Suplementario), por lo que nos permiten definir que la materia fecal de consistencia pastosa, y color gris es la que podría tomarse como de características predominantes en la mayoría de los establecimientos intensivos confinados, y definirla como "*normal*" o la que mayor frecuencia de presentación tuvo en la población estudiada.

En la tabla 6 (Suplementario) se presentan en detalle las características tanto de consistencia como color de los animales muestreados que resultaron positivos, mostrando además el porcentaje que representan y su correspondiente intervalo de confianza (IC) al 95%. Cuando analizamos ésta información, vemos que el 53% de los animales tuvieron materia fecal cremosa (IC=38,06-68,05), mostrando una clara disminución en la consistencia de la materia fecal (respecto a la totalidad de la población y a los animales que resultaron negativos), y un 35% de los animales tuvo materia fecal líquida (IC=23,40-47,02). Los animales que tuvieron materia fecal cremosa y líquida en conjunto representaron el 89% del total de animales positivos (IC=80,67-96,79). Mientras que el color que prevaleció fue el amarillento para los animales de 8 semanas de edad (con 39% de presentación y un IC=24,11-53,44), y el amarronado para los animales de 15 semanas de edad (con un 68% de presentación y un IC=45,13-86,13). Si consideramos al total de ésta subpoblación positiva, sin discriminar por edades, la mayor cantidad de animales se encasilló dentro de la materia fecal de consistencia cremosa (54%-IC=41,22-65,83) y color amarronado (45%-IC=32,79-57,35).

Con respecto a la cantidad de ooquistes que eliminaban los animales, por gramo de materia fecal varió desde 50 a 1250 ooquistes por gramo. En la tabla 7 (Suplementario) se presenta las muestras individuales de los animales que resultaron positivos (71), edad de los animales, la cantidad de ooquistes por gramo (opg) de materia fecal, la consistencia y el color de la materia fecal.

Para una mejor visualización de los resultados, se determinó la mediana del número de ooquistes por gramo de materia fecal que fue de 550 opg, y mostrar estos resultados en función de la consistencia de la materia fecal en las distintas edades relevadas. Podemos ver estos datos en la tabla 8, tabla 9 y tabla 10.

En la tabla 8 vemos claramente una mayor cantidad de animales (38/71) que presentan materia fecal cremosa distribuidos casi equitativamente por encima y por debajo de la mediana de ooquistes por gramo que eliminaban estos animales (20/38 por debajo de la mediana de opg y 18/38 por encima de la mediana de opg). Pero si observamos a los animales que presentaron materia fecal líquida, que representan el 35,2% (25/71) del total de animales positivos, hay casi un 100% más de animales con materia fecal líquida que está eliminando ooquistes por encima de la mediana de opg (17/25) respecto a los que eliminan por debajo de la mediana de opg (8/25).

Ahora, volvemos a la necesidad de definir a que llamamos diarrea. Si es una disminución de la consistencia de la materia fecal con respecto al parámetro de normalidad establecido (consistencia más frecuente de encontrar en la población total o en la población que resultó negativa), que para nuestro caso fue la pastosa, entonces significaría que las cremosa y la líquida serían materias fecales con diferentes grados de diarreas (leve y marcado o severo, por ejemplo).

En éste caso (si consideramos diarrea a las materias fecales cremosas y las líquidas), significa que el 89% (63/71) de la población que resultó positiva padeció del evento diarrea. De los cuales el 55,5% (35/63) se encontraban por encima de la mediana de opg. Es decir que más de la mitad de éstos animales presentó diarrea.

Tabla 8. Características de las materias fecales de los animales positivos en función de la mediana de opg con respecto a la consistencia. Se muestra el número de animales (n), porcentaje (%) del total en esa categoría e intervalos de confianza (IC) al 95%.

	Pastosa			Cremosa			Líquida			Tot vl
Mediana de opg	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	
Igual o menor de 549	7	87,5	47,3-99,7	20	53,0	35,4-70,0	8	32,0	11,7-52,3	35
Igual o mayor de 550	1	12,5	1,1-53,0	18	47,4	30,2-64,6	17	68,0	47,7-88,3	36
Total	8	11,3		38	53,5		25	35,2		71

Tabla 9. Características de las materias fecales de los animales positivos de 8 semanas de edad en función de la mediana de opg con respecto a la consistencia. Se muestra el número de animales (n), porcentaje (%) del total en esa categoría e intervalos de confianza (IC) al 95%.

	Pastosa			Cremosa			Líquida			Total
Mediana de opg	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	
Igual o menor de 549	4	100,0	39,8-100,0	10	38,5	17,8-59,1	5	27,8	9,1-51,2	19
Igual o mayor de 550	0	-	-	16	61,5	41,0-82,2	14	72,2	46,5-90,3	30
Total	4	8,2		26	53		19	38,8		49

Tabla 10. Características de las materias fecales de los animales positivos de 15 semanas de edad en función de la mediana de opg con respecto a la consistencia. Se muestra el número de animales (n), porcentaje (%) del total en esa categoría e intervalos de confianza (IC) al 95%.

	Pastosa			Cremosa			Líquida			Total
Mediana de opg	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	
Igual o menor de 549	4	100	39,8-100	10	83,3	51,6-98,0	3	50,0	11,8-88,2	17
Igual o mayor de 550	0	-	-	2	16,7	2,1-48,4	3	50,0	11,8-88,2	5
Total	4	18,2		12	54,5		6	27,3		22

En la tabla 9 vemos la consistencia de la materia fecal de los animales positivos, pero de 8 semanas de edad respecto a la mediana de opg. Haciendo un análisis como el que hicimos en la tabla 8 vemos una tendencia a disminuir la consistencia de la materia fecal. Si observamos sólo las líquidas vemos que el 38,8% (19/49) de éstos animales presentó éste tipo de consistencia de los cuales el 73,7% (14/19) de éstos animales que presentó materia fecal líquida se encontraba por encima de la mediana de opg. Si incluimos a los animales de materia fecal cremosa y tomamos en conjunto a los que tienen consistencia cremosas y líquidas observamos que el 91,8% (45/49) de éstos animales presentó diarrea (según lo definido anteriormente), de los cuales el 66,6% (30/45) con materia fecal cremosa y líquida se encontraban por encima de la mediana de opg (están eliminando más de 550 opg).

En la tabla 10 vemos la consistencia de la materia fecal de los 22 animales positivos de 15 semanas de edad. Podemos observar que los animales con materia fecal líquida representaron el 27,3% (6/22), de los cuales el 50% (3/6) de éstos animales se encontraba por encima de la mediana de opg. Es decir, hubo una distribución equitativa de éstos animales con materia fecal líquida respecto a la mediana de opg. Si ahora observamos a los animales con materia fecal cremosa y líquida en su conjunto vemos que el 81,8% (18/22) de éstos animales tuvieron diarrea (por lo definido anteriormente), de los cuales el 72,2% (13/18) se encontraban por debajo de la mediana de opg. A diferencia de lo visto en la tabla 11 (Suplementario) y tabla 12 (Suplementario) en este caso hubo mayor cantidad de animales que eliminaban ooquistes por debajo de la mediana de opg (13/18) que los animales que tuvieron materia fecal cremosa y líquida que eliminaban ooquistes por encima de la mediana de opg que alcanzaron sólo el 27,8% (5/18).

DISCUSIÓN

Frecuencia de presentación de establecimientos positivos

Como vimos en los resultados. de los 22 establecimientos relevados se encontró que el 86,36% (19/22) de los establecimientos estudiados fueron positivos a ooquistes de *Cryptosporidium* spp. (Tabla 2-Suplementario). Respecto a estos hallazgos, en la bibliografía consultada hay algunas referencias a la prevalencia de granjas positivas. Por un lado, un estudio hecho en Alberta, Canadá (Guselle *et al.*, 2003) en donde se encontró que un 32% de un total de 50 granjas relevadas, fue positivo. Otro estudio menciona que se relevaron 89 granjas de las que el 71,9% resultaron positivas (Nguyen *et al.*, 2012). Petersen *et al.* (2015) detectaron positividad en el 100% de 13 granjas relevadas que involucraron

222 muestras de las cuales el 25% fueron positivas. Budu-Amoako *et al.* (2012) citaron una prevalencia de 86% de granjas positivas, de 28 muestreadas De estas descripciones, sólo éste último es coincidente con nuestro hallazgo. Esto, sin duda, es debido a diferentes factores a considerar. Según Cheng y Huang (2007) son muchos los factores que pueden contribuir a estas diferencias como por ejemplo el clima, las prácticas de manejo, los sistemas productivos implementados en diferentes países y factores propios tanto del huésped como del parásito. Aún con diagnósticos convencionales, poco es lo que se conoce acerca de la prevalencia y significancia de los criptosporidios en los cerdos (Qia *et al.*, 2020). Un factor importante a tener en cuenta cuando comparamos resultados de otros autores con los nuestros es que nosotros muestreamos un número limitado de muestras, en comparación con los citados por otros autores donde fueron un número sustancialmente mayor de granjas relevadas.

La prevalencia hallada por diferentes autores, puede desempeñar un rol fundamental en la variabilidad de los resultados, pudiendo estar subestimada, en primer lugar, por la eliminación intermitente de ooquistes en la materia fecal, un comportamiento muy conocido en bovinos, pero que aún no ha sido claramente demostrado en cerdos de acuerdo a lo descripto por Guselle *et al.* (2003). Por otro lado, la criptosporidiosis puede encontrarse enmascarada, debido a que puede presentarse simultáneamente con otros patógenos como *Isospora suis* e incluso encontrarse en animales adultos, por lo que puede ser subestimada (Olalekan y Ademola., 2019; Petersen *et al.*, 2015). Así, resulta muy complejo el estudio epidemiológico de la enfermedad, ya que factores tanto del huésped como del parásito juegan un rol fundamental, sobre todo al implementar estudios de tipo transversal (Fayer, 2010).

Frecuencia de presentación de cerdos positivos

Cuando analizamos la frecuencia de presentación individual encontramos que el 10,7% (71/660) de los animales que se muestrearon resultó positivo (Tabla 3-Suplementario). Sin embargo, son pocos los reportes de la enfermedad a nivel nacional tanto predial como intrapredial (Venturini *et al.* 1996).

A nivel internacional, existen muchos estudios acerca de la prevalencia de *Cryptosporidium* en cerdos. Nuestros resultados son coincidentes a los encontrados en China, Corea y Canadá, Cheng y Huang (2007) reportaron una prevalencia del 12%, 10,5% y 11% respectivamente. Aunque otros autores describieron en Henan (China) prevalencias menores, del orden del 8,2% (Feng *et al.*, 2018), y otros autores reportaron prevalencias mayores en Shangai (Kaupke *et al.*, 2017). En algunos trabajos se citan prevalencias menores a las encontradas en nuestro estudio. Por ejemplo, 6% en granjas relevadas de Australia (Qia *et al.* 2020), entre 5,3% y 7,1% en Estados Unidos (Cheng y Huang, 2007; Guselle *et al.*, 2003), 1,4% en Alemania (Cheng y Huang, 2007); mientras que otros autores citan prevalencias mayores a las encontradas en nuestro estudio, por ejemplo las descriptas en España de 21,9%, Japón de 33,2%, Trinidad y Tobago del 19,6% (Xiao *et al.*, 2006), Australia de 22,1% (Johnson *et al.*, 2008) y en Suiza con prevalencias de hasta el 25% (Petersen *et al.*, 2015).

Como podemos observar, existe una gran variabilidad, lo que se puede atribuir a los factores mencionados anteriormente. Según Xiao *et al.* (2006), la prevalencia de *Cryptosporidium* permanece poco clara debido, entre otras cosas, a que la mayoría de los estudios involucran pocas granjas y pocos animales.

Además, éstos valores prevalenciales tienen grandes fluctuaciones, en función de la edad de los animales involucrados en los diferentes muestreos, tal como lo describen Zou *et al.* (2017) y Nguyen *et al.* (2012) en donde determinaron que la aparición de éstos patógenos entéricos estuvo significativamente asociada con la edad de los animales examinados, por lo que la inmunidad juega un rol importante en términos de resolución y/o reinfección y va ligado a la edad. La dosis infectante puede ser más pequeña en un individuo susceptible que en otro parcialmente inmune. Todos estos factores son fundamentales en el desarrollo o no de una infección y por ende hacen variar la prevalencia, o la presencia o no del agente en un establecimiento. Estos hechos fueron claramente descriptos por Xiao *et al.* (2006).

Frecuencia de presentación de cerdos positivos por edad

En relación a la edad, si bien es de esperar la mayor presentación del agente en los animales más jóvenes (Xiao, 2010), existe también un patrón de presentación dentro de las diferentes etapas productivas que podemos tener, incluso dentro del primer mes de vida condicionado básicamente por la lactancia de los lechones. En definitiva, podemos describir dos momentos en la vida de los lechones

en los cuales se discute la mayor o menor presentación del agente en esta categoría: antes y después del destete.

En nuestro caso, cuando analizamos la frecuencia de presentación de la enfermedad en función de la edad (tabla 1 y tabla 2-Suplementario) se observa que hay una fuerte asociación (p=0,0000) entre los animales positivos y los animales de 8 semanas de edad, donde vemos que por cada 4,5 individuos IC 95% (2,76-7,17) positivos de 8 semanas de edad, hay un animal positivo mayor a 8 semanas de edad. La bibliografía consultada es bastante consistente en este aspecto, y muy coincidente con nuestros hallazgos. Por ejemplo, Nemejc *et al.* (2013-b) informaron que la prevalencia de los criptosporidios en cerdos es muy baja en la maternidad. A la vez que Bodager *et al.* (2014) no detectaron ooquistes en lechones lactantes ni adultos, sino que los mayores grados de infección los observaron en los destetados. Varios estudios demostraron que, en forma natural, la criptosporidiosis no se produce hasta después del destete, con infecciones mayormente asintomáticas y usualmente de baja intensidad sin asociación estadística entre infección y síntomas clínicos. Existe además una variación de presentación en las diferentes etapas productivas en función de la especie y genotipo de criptosporidios actuantes (Yin *et al.*, 2013). A pesar de ello, Nguyen *et al.* (2012) describieron que los lechones en predestete fueron los de más alto riesgo de infección, seguidos por los lechones del pos destete.

Además, siempre se supone que la falta de infección en las cerdas adultas podría descartarlas como implicadas en algún rol en la epidemiología de la enfermedad en la maternidad. Esto contrasta con lo sugerido por Bodager *et al.* (2014) y Nguyen *et al.* (2012) en donde se implica directamente a las cerdas como fuente de infección para los lechones, pero sugiriendo que no tienen un rol importante, ya que el número de cerdos maduros eliminando ooquistes fue muy bajo.

Vitovec *et al.* (2006) en República Checa en un estudio que involucró 4338 muestras fecales (135 de cerdas, 3368 de lechones pre destete y 835 de lechones post destete) reportaron una prevalencia del 5,7% en lechones predestete, mientras que en los destetados fue bastante superior, alcanzando niveles del 24,1% de prevalencia. Algo similar fue descripto por Feng *et al.* (2018) en donde la más alta tasa de infección (20,6%) la encontraron después del destete en animales de entre 1 a 2 meses de edad y la más baja entre los 3 y los 6 meses de edad.

Si bien en el presente trabajo no se muestrearon animales lactantes hasta el destete, en concordancia con estos autores, podemos afirmar que la infección por *Cryptosporidium* spp. en cerdos es muy prevalente en las categorías jóvenes destetados, al menos de 8 semanas de edad. De acuerdo a nuestros hallazgos, la prevalencia va disminuyendo en la medida que los animales aumentan la edad. Encontramos una prevalencia de 22,2% (49/220) en animales de 8 semanas de edad de los 220 animales muestreados en esa categoría, muy similar a la prevalencia descripta por Vitovec *et al.* (2006) (Figura 4). Es de destacar que este mismo autor, cuatro años antes había reportado no encontrar diferencias en ubicación y grado de infección criptosporidial entre lechones infectados experimentalmente ya sea, privados de calostro como alimentados con calostro, concluyendo en ese entonces que el calostro de las madres no parecía proteger a los lechones contra la infección de *Cryptosporidium* spp. (Vitovec y Koudela, 2002). Posiblemente, factores inmunes innatos o adquiridos en la leche de la madre podrían proteger a los lechones en la maternidad del desarrollo de las infecciones (Bodager *et al.*, 2014; Guselle *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2013).

Según Yin *et al.* (2013), la presencia de la enfermedad se describe entre la primera y segunda semana de vida. Otros investigadores determinaron que la infección, predominantemente se dio en lechones destetados. A pesar de ello, estos hallazgos pueden relacionarse con el efecto de la inmunidad, y la discusión en la literatura sigue abierta (Zhang *et al.*, 2013).

El hecho que diversos estudios informen tasas de infección cercanas al 100% en el momento inmediato al destete, sugiere que *Cryptosporidium* es fácilmente transmitido entre los lechones. La transmisión, probablemente haya sido una resultante de los lechones susceptibles, que se ponían en contacto con materia fecal de lechones infectados en el momento en que los animales se mezclaban en los lotes de destete. Si bien, a medida que los animales avanzan en edad las prevalencias van disminuyendo, algunos estudios (Xiao *et al.*, 2006) aseguran que las infecciones tempranas en los lechones, pueden persistir en cerdos mayores, o que los cerdos mayores pueden reinfectarse con la misma especie de *Cryptosporidium*.

Una posible explicación para la mayor incidencia de infecciones encontradas en los destetes podría ser que por el estrés que causa. Se produce una depresión inmunitaria, que lo haría mas susceptible a la

infección por *Cryptosporidium* spp. Lin *et al.* (2015) sugirieron la posibilidad del efecto inmunosupresor que éstas prácticas podrían tener.

Características de la materia fecal: consistencia y color

Otro aspecto para discutir es la característica tanto de consistencia como de color de la materia fecal de la población estudiada.

Si bien la coloración de la materia fecal es un aspecto que se encuentra muy influenciado por varios factores como alimentación, edad, e incluso la presencia de otros agentes biológicos, la bibliografía consultada no describe claramente el color de la materia fecal ante la presencia de *Cryptosporidium* spp. Particularmente Fayer *et al.* (2010) hace una referencia al color amarillo, como una característica de especial presentación en los animales hallados con criptosporidiosis, coincidiendo esta descripción con nuestros hallazgos en las categorías menores (8 semanas de edad). Con estas observaciones podríamos señalar que los animales con materia fecal cremosa y amarillenta tendría probabilidades de ser compatibles con la presencia de *Cryptosporidium* spp., entre otros agentes posibles.

En cuanto a la consistencia, si bien es difícil establecer cuáles de las consistencias señaladas anteriormente la llamamos diarrea, el sentido común haría referencia a la materia fecal líquida. Al respecto, existen varias definiciones. Algunas hacen referencia a la frecuencia de deposiciones, otras al volumen, pero la mayoría tienen como común denominador a la disminución de la consistencia, refiriéndolas como heces líquidas o "sueltas" (Rodés *et al.*, 2002).

El vocablo "diarrea" deriva del griego antiguo "*diarrhoia*" que significa "a través" o "corriente de flujo". Es una alteración de las heces en cuanto a volumen, frecuencia, pero, sobre todo, fluidez en comparación con las condiciones fisiológicas (Rodés *et al.*, 2002). En nuestro caso, podemos decir que el 35% de los animales positivos presentó la materia fecal diarreica, ya que allí se encasillaron los animales con materia fecal líquida (IC=23,40-47,02), pero, lo que sí es muy importante remarcar es que el 89% de los animales positivos, mostró una clara tendencia a disminuir la consistencia de la materia fecal (consistencias cremosas y líquidas).

Con respecto a este aspecto, sobre *Cryptosporidium* y su relación con la presencia o no de diarrea, la bibliografía es muy dispar en sus hallazgos. Como consecuencia, no ha sido posible determinar adecuadamente la contribución de *Cryptosporidium* a la diarrea en los cerdos (Peterson *et al.*, 2020; Qia *et al.*, 2020).

La infección inducida experimentalmente puede producir signos clínicos, pero la infección natural en muchos casos es asintomática. En Canadá desde 1981 a 1985, 5,3% de 3491 cerdos pertenecientes a 133 granjas para diagnóstico histológico fueron positivos. De estos animales infectados el 26% tuvo diarrea (en concordancia con nuestros hallazgos) pero la mayoría albergaba otro agente primario productor de diarrea además de *Cryptosporidium*. En un predio de remate en California, sobre un período de tres meses se encontró que el 5% de 200 cerdos estaban infectados con *Cryptosporidium*. De estos, 7 parecían saludables y 3 tuvieron diarrea. Ningún otro patógeno ni viral ni bacteriano se detectó en estos animales así que la infección mixta fue desechada (Lin *et al.*, 2015).

En Trinidad y Tobago 19,6% (54 de 275) de los lechones muestreados estaban infectados con *Cryptosporidium* de los cuales aproximadamente el 50% presentaba diarrea (Parsons *et al.*, 2015), mientras otro estudio similar en ese país, *Cryptosporidium* fue más frecuentemente detectado en cerdos diarreicos (21,1 %) que en cerdos no diarreicos (17,3 %), pero las diferencias no fueron significativas. Estudios previos mostraron que *Cryptosporidium* es una causa de diarrea en cerdos neonatos experimentalmente infectados en la primera semana de edad, pero no en lechones mayores de 15 días (Bouzid *et al.*, 2013). Sobre dos granjas porcinas en Ohio, infecciones leves estuvieron confinadas a la maternidad y destete. La infección por *C. parvum* en cerdos aparece como común y tiene potencial como contaminante ambiental, pero las infecciones pueden no demostrarse debido a su naturaleza asintomática (Zheng *et al.*, 2019).

La infección en cerdos está asociada generalmente a infecciones subclínicas sin asociación estadística entre la infección y los síntomas clínicos (Bouzid *et al.*, 2013) y podría decirse que no es una causa seria de enteritis ya sea en neonatos como en el post destete. Esta ausencia de signología clínica evidente en la mayoría de las infecciones sugeriría una adaptación al huésped porcino. Sin embargo, unos estudios en lechones lactantes naturalmente infectados han mostrado una prevalencia significativamente mayor entre los lechones diarreicos que entre los lechones con consistencia fecal normal (Suarez-Luengas *et al.*, 2007).

Algunos reportes demostraron que no hubo asociación entre la ocurrencia de diarrea y la eliminación de ooquistes en cerdos (Guselle *et al.*, 2003). Particularmente Vitovec *et al.* (2006) reportaron no haber encontrado correlación entre infección por *Cryptosporidium* y diarrea. En España, en un estudio de prevalencia en granjas porcinas observaron que la tasa de infección fue mayor en los no diarreicos que en los diarreicos (Bodager *et al.*, 2014).

En Noruega, Lin *et al.* (2015) en un estudio que involucró muestras de 639 lechones, encontraron que 171 muestras (26,8 %) fueron diarreicas, mientras que 468 muestras fueron de consistencia normal. De las muestras diarreicas, sólo 20 (11,7 %) fueron positivas a *Cryptosporidium*. De las muestras con consistencia normal, 30 (6,4 %) fueron positivas a *Cryptosporidium*. Es decir, había una prevalencia significativamente mayor entre las muestras diarreicas que entre aquellas que presentaron consistencia normal. Los resultados de este estudio sugieren que hay una asociación entre diarrea y *Cryptosporidium* en lechones de maternidad en contraste a otros estudios en los que se afirma que *Cryptosporidium* spp. está relegado hasta después del destete (Yin *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013).

En el presente estudio, si bien no se buscaron otros patógenos, muchos autores afirman que cuando hay diarrea, existen otros enteropatógenos asociados a *Cryptosporidium* spp. (Guselle *et al.*, 2003).

Otros estudios, tanto en establecimientos al aire libre como confinados confirmaron que la diarrea en lechones lactantes y destetados es usualmente un problema multifactorial donde infecciones mixtas entre *C. parvum* y *E. coli* o *Rotavirus* son frecuentes y que la presencia de otros patógenos podría realzar el desarrollo de criptosporidiosis clínica (Song *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2022).

Han *et al.* (1995) confirmaron estos hechos en un estudio en el cual grupos de lechones de 10 días de edad se les administraron *C. parvum*, *Rotavirus porcino* y ambos patógenos juntos. De acuerdo a estos resultados la diarrea fue más severa, el recuento de ooquistes más alto y las lesiones intestinales más pronunciadas en lechones con ambos patógenos, sugiriendo un efecto aditivo o sinérgico entre ambos patógenos. También sugiere que la virulencia de rotavirus en ausencia de otros patógenos puede llegar a ser despreciable en lechones incluso aquellos infectados a muy temprana edad. Esto podría sugerir a *Cryptosporidium* como un importante copatógeno de etiología multifactorial. Aunque el parásito frecuentemente actúa solo, las pérdidas más pronunciadas se dan cuando enteropatógenos concurrentes están presentes (Yin *et al.*, 2013; Guselle *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2015).

Frecuencia de presentación de animales positivos y su relación con el tipo de piso utilizado

En lo que respecta a los sistemas productivos, si bien este estudio se dirigió a sistemas intensivos confinados, existe mucha variabilidad en el diseño de las instalaciones, sobre todo en los diferentes tipos de piso utilizados para alojar a las distintas categorías de animales (Figuras 5, 6, 7, 8 y 9-Suplementario). Tal es así, que en los tres establecimientos que resultaron negativos, las subpoblaciones muestreadas, sobre todo las categorías de 8 semanas de edad (y en algunos casos los de 15 semanas de edad) se encontraban alojadas sobre pisos totalmente enrejillados y parcialmente enrejillados (entre 30%-50% de la superficie) (tabla 3-Suplementario). Uno de estos establecimientos que resultó negativo, alojaba a la categoría de 15 semanas de edad sobre piso totalmente enrejillado, y adicionalmente en este mismo establecimiento, se implementaban medidas de higiene estrictas, ya que se encontraba en proceso de ser declarado libre de otra enfermedad. Este hecho, pudo haber sido muy influyentes en la negatividad encontrada en este establecimiento en relación a *Cryptosporidium*. La observación general fue que, en la categoría de 8 semanas de edad, el 80% de los establecimientos que tienen pisos parcialmente enrejillados tienen 30% o más en cuanto a frecuencia de presentación del agente. Mientras que, en la categoría de 15 semanas de edad, el 57% de los establecimientos que resultaron negativos, tenían pisos enrejillados completos. Al respecto, Guselle *et al.* (2003) reportaron que granjas porcinas con buenas prácticas de manejo y buena higiene pueden reducir la contaminación ambiental y de este modo retrasar las infecciones por *Cryptosporidium*. Por otro lado, tal como lo comentan Xiao *et al.* (2006) y Qia *et al.* (2020) en sus trabajos, cuando el piso era sólido (cemento y/o concreto) se registraron los niveles mas altos de número de ooquistes eliminados por materia fecal. Estos mismos autores, observaron que disminuían con piso parcialmente o totalmente enrejillado.

Un trabajo interesante es el de Fayer (2010) en donde en un muestreo realizado en California, 5% de 200 cerdos estaban eliminando ooquistes. En una granja de Ohio, no se encontraron ooquistes en 20 lechones de maternidad ni en sus madres, pero 8 de 30 destetados excretaban ooquistes. En una se-

gunda granja 7 de 24 lechones de maternidad y 6 de 32 destetes, pero no así sus madres, excretaban ooquistes. La primera granja mantenía a los animales sobre piso enrejillado, mientras que la segunda granja lo hacía sobre piso sólido de concreto poroso. Sin duda, esto tendría una relación directa con el grado de exposición a los ooquistes infectivos presentes en la materia fecal de algunos animales. En definitiva, el tipo de piso y la higiene cobran gran relevancia (Nguyen *et al.*, 2012) ya que es sabido que el piso enrejillado deja pasar permanentemente la materia fecal evitándo su acumulación y en muchas granjas, a su vez, es lavada a diario. No obstante, esto algunos de los establecimientos que resultaron positivos, también utilizan el mismo tipo de piso que los que resultaron negativos. Cabe destacar que el establecimiento que resultó con la presentación más alta de los 22 establecimientos relevados (26,66% de prevalencia) (tabla 3-Establecimiento 4-Suplementario), particularmente presentaba serias deficiencias de higiene de las pistas de engorde, y los pisos de algunas de las categorías relevadas eran sólidos (cemento), y en algunos casos estaban anegados con agua y materia fecal (Figuras 8 y 9-Suplementario).

Nivel de ooquistes eliminados y su relación con la consistencia de la materia fecal

En cuanto al nivel de excreción de ooquistes y su relación con la consistencia de la materia fecal, si analizamos la situación de todos los positivos en su conjunto (sin discriminar edad- tabla 8), vemos claramente que la mayor cantidad de animales se corresponden con materia fecal cremosa y vemos una distribución muy equitativa de ellos por encima y por debajo de la mediana de ooquistes por gramo que eliminaban estos animales. Pero si observamos a los animales que presentaron materia fecal líquida, que representan el 35,2% (25/71) del total de animales positivos, hay casi un 100% más de animales con materia fecal líquida que está eliminando ooquistes por encima de la mediana de opg (17/25 versus 8/25).

Pero como se mencionó antes, el asunto está en determinar a qué llamamos materia fecal diarreica. De la clasificación que hicimos nosotros de materia fecales en pastosa, cremosa y líquida, si consideramos, por ejemplo, que materia fecal diarreica es solamente cuando es líquida, podemos decir, que el 35,2% (25/71) de los animales positivos presentaron este tipo de consistencia y que el 68% (17/25) de los animales que tenían este tipo de consistencia eliminaban mas de 550 opg (estaban por sobre la mediana) (tabla 8).

Ahora, si consideramos diarrea a la materia fecal que disminuye la consistencia a menor consistencia que la pastosa (que fue la que consideramos, en nuestro caso como materia fecal normal), significa que las materias fecales cremosas y líquidas podrían considerarse diarreicas. Por lo que el 89% (63/71) de los animales positivos tendrían materia fecal diarreica y además el 49% (35/71) eliminan por sobre la mediana de 550 ooquistes por gramo de materia fecal (tabla 8).

Ahora, si vemos los animales positivos pero de 8 semanas de edad (tabla 9) y analizamos que relación hay con el nivel de excreción de ooquistes y la consistencia de la materia fecal, vemos que se agudiza mas aún, la tendencia a disminuir la consistencia de la materia fecal y los animales que se encuentran por encima de la mediana de opg. De los 49 animales positivos de 8 semanas de edad, vemos que el 92% (45/49) de los animales se distribuyeron entre las materias fecales cremosas y líquidas (menor consistencia que la pastosa, definida como normal), y de ellos, el 67% (30/45) está eliminando más de 550 opg.

En el caso de los animales positivos de 15 semanas de edad (tabla 10), son sólo 22 animales. Igualmente, el mayor porcentaje de animales se distribuye entre las materias fecales cremosas y líquidas, representando el 86% (19/22), teniendo una mayor prevalencia la materia fecal cremosa con el 59% (13/22) de presentación. Aunque en este caso hubo mas animales que eliminaban ooquistes por debajo de la mediana de opg. Aquí, pudo jugar un rol importante, factores inmunológicos, que hagan disminuir la cantidad de ooquistes por gramo de materia fecal eliminados por estos animales que resultaron positivos, a diferencia de los animales de 8 semanas de edad donde vemos que el 92% de los animales que presentaron diarrea, el 46% estaban eliminando ooquistes por encima de la mediana de opg.

Al respecto Singh *et al.* (2006) en un estudio hecho en terneros de tambo, demostró que los terneros positivos a *Cryptosporidium* spp. que presentaban diarrea eran particularmente los que más tasa de eliminación de ooquistes por gramo de materia fecal tenían, demostrando una asociación positiva de estos hechos. Si bien en la bibliografía consultada no hay antecedentes que estos hallazgos hayan sido demostrados en cerdos, en nuestro trabajo hay indicadores de que algo similar podría estar sucediendo.

CONCLUSIONES

-*Cryptosporidium* spp. es un agente con alta frecuencia de presentación en granjas porcinas intensivas de la República Argentina.

-Si bien no se midió su presencia en animales previo al destete, podemos afirmar que tiene una alta frecuencia de presentación en animales de 8 semanas de edad y de 15 semanas de edad (aunque en menor medida). Parece no ser un patógeno frecuente en categorías de 22 semanas de edad y mayores.

-La materia fecal de animales con infección por *Cryptosporidium* spp. la podemos caracterizar como de color amarronada (hasta amarillenta) y consistencia cremosa (hasta líquida).

-El 89% de los animales que resultaron positivos mostró una clara disminución en la consistencia de sus materias fecales (materias fecales cremosas a líquidas).

-Existiría una relación directa entre el nivel de eliminación de ooquistes por gramo de materia fecal y la consistencia cremosa y/o líquida de la materia fecal.

-Existiría una probable asociación entre el tipo de piso (enrejillado total/enrejillado parcial/sólido) y el nivel de presentación de diarreas.

BIBLIOGRAFIA

Allen A., Ridley D. (1970). Further observations on the formol-ether concentration technique for faecal parasites. Journal of Clinical Pathology 23: 545-546.

Bodager J.R., Parsons M.B., Wright P.C., Rasambainarivo F., Roellig D., Xiao L., Gillespie T.R. (2014). Complex epidemiology and zoonotic potential for *Cryptosporidium* suis in rural Madagascar. Veterinary Parasitology 207 (1–2), 140–143.

Bouzid, M., P.R. Hunter, R.M., Chalmers, L. (2013). *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence, Clinical Microbiology Reviews 26:115–134.

Budu-Amoako, E., Greenwood, S., Dixond, B., Barkema, H., Hurnik, D., Estey, C., McClure, J. (2012). Occurrence of Giardia and *Cryptosporidium* in pigs on Prince Edward Island, Canada. Veterinary Parasitology 184:18–24.

Cheng, F. y Huang, K. (2007). Prevalence and Phylogenetic Analysis of *Cryptosporidium* in Pigs in Eastern China. Zoonoses Public Health. 54: 393–400.

Fayer R. 2010. Taxonomy, general biology and species delimitation in *Cryptosporidium*. Veterinary Parasitology 124: 90–97.

Feng, Y., Ryan, U.M., Xiao, L., (2018). Genetic diversity and population structure of *Cryptosporidium*. Trends in Parasitology 34, 997–1011.

García-Presedo, I., Pedraza-Díaz, S., González-Warleta, M., Mezo, M., Gómez-Bautista, M., Ortega-Mora, L., Castro-Hermida, J. (2013). Presence of *Cryptosporidium scrofarum*, *C. suis* and *C. parvum* subtypes IIaA16G2R1 and IIaA13G1R1 in Eurasian wild boars (Sus scrofa). Veterinary Parasitology 196:497-502.

Guselle, N., Appelbee, A., Olson, M. (2003). Biology of *Cryptosporidium parvum* in pigs: from weaning to market. Veterinary Parasitology 113:7-18.

Han, D., Kang, U., Park, N., Wee, S. (1995). Pathogenesis of enteritis induced by *Cryptosporidium parvum* alone and combined with porcine rotavirus in piglets. Korean Journal of Veterinary Research 35:149-158.

Hatam-Nahavandi, K., Ahmadpour, E., Carmena, D., Spotin, A., Bangoura, B., Xiao, L. (2019). *Cryptosporidium* infections in terrestrial ungulates with focus on livestock: a systematic review and meta-analysis. Parasites Vectors 12:453.

Helmy, Y., Krücken, J., Nöckler, K., Von Samson-Himmelstjern, G., Zessin, K. (2013). Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* in livestock animals and humans in the Ismailia province of Egypt. Veterinary Parasitology 193:15–24.

Henriksen, S. y Pohlenz, J. (1981). Staining of criptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. Acta Veterinaria Scandinavica 22:594-596.

Izumiyama, S., Furukawa, I., Kuroki, T., Yamai, S., Sugiyama, H., Yagita, K., Endo, T. (2001). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infections in weaned piglets and fattening porkers in Kanagawa Prefecture, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases Feb,54(1):23-6.

Johnson, J., Buddle, R., Reid, S., Armson, A., Ryan U. (2008). Prevalence of *Cryptosporidium* genotypes in pre and post-weaned pigs in Australia. Experimental Parasitology 119:418–421.

Kaupke, A., Gawor, J., Rzezutka, A., Gromadka, R. (2017) .Identification of pig-specific *Cryptosporidium* species in mixed infections using Illumina sequencing technology. Experimental Parasitology 182:22-25

Kvác, M., Kestranova, M., Pinkova, M., Květoňová, M., Kalinova, J., Wagnerová, P., Kotkova, M., Vitovec, J., Ditrich, O., McEvoy, J., Stenger, B., Sak, B.

(2013). *Cryptosporidium scrofarum* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in domestic pigs (*Sus scrofa*). Veterinary Parasitology 191:218– 227.

Kvác, M., Nemejc, K., Kestránová, M., Kvetonová, D.B., Wagnerová, P., Kotková, M., Rost, M., Samková, E., McEvoy, J., Sak, B. (2014). Age related susceptibility of pigsto *Cryptosporidium scrofarum* infection. Veterinary Parasitology 202 (3–4), 330–334.

Lin, Q., Wang, X.Y., Chen, J.W., Ding, L., Zhao, G.H. (2015). *Cryptosporidium suis* infection in post-weaned and adult pigs in Shaanxi province, northwestern China. Korean Journal of Parasitology 53, 113–117.

Liu, H., Ni, H., Xu, J., Wang, R., Li, Y., Shen, Y., Cao, J., Yin, J. (2021). Genotyping and zoonotic potential of *Cryptosporidium* and *Enterocytozoon bieneusi* in pigs transported across regions in China, Microbial pathogenesis 154:104823.

Mirhashemi, M., Zintl, A., Grant, T., Lucy, F., Mulcahy, G., De Waal, T. (2016). Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* species in livestock inIreland. Veterinary Parasitology 216:18–22.

Nemejc, K., Sak, B., Kvetonova, D., Hanzal, V., Jeníková, M., Kvác, M. (2012). The first report on *Cryptosporidium suis* and *Cryptosporidium* pig genotype II in Eurasian wild boars (Sus scrofa) (Czech Republic). Veterinary Parasitology 184:122– 125.

Nemejc, K., Sak, B., Kvetonová, D., Hanzala, V., Janiszewskid, P., Forejteke, P., Rajsky, D., Ravaszová P., McEvoy, J., Kvác, M. (2013-a). *Cryptosporidium suis* and *Cryptosporidium scrofarum* in Eurasian wild boars (Sus scrofa) in Central Europe. Veterinary Parasitology 197:504– 508.

Nemejc, K., Sak, B., Květoňová, D., Kernerová, N., Rost, M., Cama, V., Kváč, M. (2013-b). Occurrence of *Cryptosporidium suis* and *Cryptosporidium scrofarum* on commercial swine farms in the Czech Republic and its associations with age and husbandry practices. journal Parasitology Research 112:1143–1154.

Nguyen, S., Fukuda Y., Tada, C., Sato, R., Huynh, V., Nguyen, D., Nakai, Y. (2013). Molecular characterization of *Cryptosporidium* in pigs in central Vietnam. journal Parasitology Research 112:187–192.

Nguyen, S., Honma, H., Geurden, T., Ikarash, M., Fukuda, Y., Huynh, V., Nguyen, D., Nakai, Y. (2012). Prevalence and risk factors associated with *Cryptosporidium* oocysts shedding in pigs in Central Vietnam. Research in Veterinary Science 93:848–852.

Olalekan Odeniran, P. y Ademola, I. (2019). Epidemiology of *Cryptosporidium* infection in different hosts in Nigeria: A meta-analysis. Parasitology International 71:194–206.

Parsons, M., Travis, D., Lonsdorf, E., Lipende, I., Roellig, D., Kamenya, S. (2015). Epidemiology and Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp. in Humans, Wild Primates, and Domesticated Animals in the Greater Gombe Ecosystem, Tanzania. PLOS Neglected Tropical Diseases 10(2):0003529.

Petersen, H., Jianmin, W., Katakama, K., Thamsborg, S., Dalsgaard, A., Olsen, A., Enemark, H. (2015). *Cryptosporidium* and *Giardia* in Danish organic pig farms: Seasonaland age-related variation in prevalence, infection intensity and species/genotypes. Veterinary Parasitology 214:29–39.

Pettersson, E., Ahola, H., Frössling, J., Wallgren, P., Troell, K. (2020). Detection and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in Swedish pigs. Acta Vet Scand 62:40.

Qia, M., Zhang, Q., Xu, C., Zhang, Y., Xing, J., Tao, D., Li, J., Zhang, L. (2020). Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in pigs in Xinjiang, China. Acta Tropica 209-105551.

Rasková, V., Kvetonová, D., Sak, B., McEvoy, J., Edwinson, A., Stenger, B., Kvác, M. (2013). Human cryptosporidiosis caused by *Cryptosporidium tyzzeri* and *C. parvum* isolates presumably transmitted from wild mice. Journal of Clinical Microbiology 51:360–362.

Rodés, J., Carné, X., Trilla A. (2002). (en español). Manual de terapéutica médica. Elsevier España. pp. 329. ISBN 8445811487.

Ruecker, N., Matsune, J., Wilkes, G., Lapen, D., Topp, E., Edge, T., Sensen, C., Xiao, L., Neumann, N. (2012). Molecular and phylogenetic approaches for assessing sources of *Cryptosporidium* contamination in water. Water. Research 46:5135-5150.

Ryan, U. y Xiao L. (2005). Molecular epidemiology of emerging protozoan diseases: selection of molecular targets for delimiting species versus those used for epidemiological studies. The 20th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, pag. 114. 16-20 October 2005, Christchurch, New Zealand.

Rzeżutka, A., Kaupke, A., Kozyra, I., Pejsak, Z. (2014). Molecular studies on pig cryptosporidiosis in Poland. Polish Journal of Veterinary Sciences Vol. 17, No. 4:577–582.

Silverlas, C. y Blanco-Penedo, I., (2013). *Cryptosporidium* spp. in calves and cows from organic and conventional dairy herds. Epidemiology and Infection 141 (3), 529–539.

Singh, B., Sharma, R., Kumar H., Banga, H., Aulakh, R., Singh Gill, J., Sharma, J. (2006). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Punjab (India) and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. Veterinary Parasitology 140:162–165.

Sobestiansky, J., Barcellos, D., Moreno, A., Sobestiansky, A., Poleze E. (2005). Suínos: Coleta e remessa de materiais para laboratorios para fines de diagnóstico. Goiânia, Brasil, p.13-69.

Song, D., Zhou, X., Peng, Q., Chen, Y., Zhang, F., Huang, T., Zhang, T., Li, A., Huang, D., Wu, Q., He, H., Tang, Y. (2015). Newly emerged porcine deltacoronavirus associated with diarrhoea in swine in China: identification, prevalence and full-length genome sequence analysis. Ransboundary and Emerging Diseases 62:575–580.

Suarez-Luengas, L., Clavel, A., Quílez, J., Goñi-Cepero, M., Torres, E., Sánchez-Acedo, C., del Cacho, E. (2007). Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from pigs in Zaragoza (northeastern Spain). Veterinary Parasitology 148:231–235.

Thrusfield, M. Veterinary Epidemiology. (2013). ISBN 978-1-483-161907. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

Venturini L., Aguirre J., Armocida A., Risso M., Machuca M., Perfumo C. (1996). Diarrea post destete en cerdos: *Cryptosporidium parvum* y otros protozoarios. IV Congreso Nacional y pre-latino de Producción Porcina. IX Jornadas de Actualización Porcina. p. S15, Paraná, Argentina.

Vitovec, J. y Koudela, B. (2002). Pathogenesis of intestinal cryptosporidiosis in conventional and gnotobiotic piglets. Veterinary Parasitology Jun,43(1-2):25-36.

Vitovec, J., Hamadejova, K., Landova, L., Kvác, M., Kvetonova, D., Sak, B. (2006). Prevalence and pathogenicity of *Cryptosporidium suis* in pre and post weaned pigs. Journal of Veterinary Medicine. Infectious Diseases and Veterinary Public Health, Jun,53(5):239-243.

Wang, H., Zhang, Y., Wu, Y., Li, J., Qi, M., Li, T., Wang, J., Wang, R., Zhang, S., Jian, F., Ning, C., Zhang, L. (2018). Occurrence, Molecular characterization, and assessment of zoonotic risk of *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Enterocytozoon bieneusi* in pigs in Henan, Central China. Journal of Eukaryotic Microbiology 65:893–901.

Wang, P., Li, S., Zou, Y., Du, Z., Song, D., Wang, P., Chen, X. (2022). The infection and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in diarrheic pigs in southern China. Microbial Pathogenesis 165:105459.

Wang, W., Gong, Q., Zeng, A., Li, M., Zhao, Q., Ni, H. (2021). Prevalence of *Cryptosporidium* in pigs in China: A systematic review and meta-analysis. Transboundary and Emerging Diseases, 68:1400–1413.

Widmer, G., Akiyoshi, D., Buckholt, M., Feng, X., Rich, S., Deary, K., Bowman, C., Xu, P., Wang, Y., Wang, X., Buck, G., Tzipori S. (2000). Animal propagation and genomic survey of a genotype I isolate of *Cryptosporidium parvum*. Molecular and Biochemical Parasitology May,108(2):187-97.

Wieler, L., Ilieff, A., Herbst, W., Bauer, C., Vieler, E., Bauerfeind, R., Failing, K., Klos, H., Baljer, G., Zahner, H. (2001). Prevalence of enteropathogens in suckling and weaned piglets with diarrhoea in southern Germany. Journal of Veterinary Medicine 48:151-159.

Xiao L. (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: An update. Experimental. Parasitology 124:80–89.

Xiao, L., Moore, J., Ukoh, U., Gatei, W., Lowery, J., Murphy, T., Dooley, J., Millar B., Rooney, P., Rao, J. (2006). Prevalence and identity of *Cryptosporidium* spp. in pig slurry. Applied and Environmental Microbiology June, p. 4461–4463.

Xiao, L., An, W., Chen, Z., Zhang, D., Yu, J., Yang, M. (2012). Occurrences and genotypes of *Cryptosporidium* oocysts in river network of southern-eastern China. journal Parasitology Research 110:1701–1709.

Yin, J., Yuan, Z., Cai, H., Shen, Y., Jiang, Y., Zhang, J., Wang, Y., Cao, J. (2013). Age-related Infection with *Cryptosporidium* Species and Genotype in Pigs in China. Biomedical and Environmental Sciences 26(6):492-495.

Yui, T., Nakajima, T., Yamamoto, N., Kon, M., Abe, N., Matsubayashi, M., Shibahara, T. (2014). Age-related detection and molecular characterization of *Cryptosporidium suis* and *Cryptosporidium scrofarum* in pre- and post-weaned piglets and adult pigs in Japan. journal Parasitology Research 113 (1), 359–365.

Zhang, W., Yang, F., Liu, A., Wang, R., Zhang, L., Shen, Y., Cao, J., Ling, H. (2013). Prevalence and genetic characterizations of *Cryptosporidium* spp. In pre-weaned and post-weaned piglets in Heilongjiang province, China. PLOS One July. Vol. 8. Iss. 7.

Zeng, S., Li, D., Zhou, C., Zhang, S., Wu, Y., Chang, Y., Chen, Y., Huang, J., Ning, C., Zhang, G., Zhang, L. (2019). Molecular identification and epidemiological comparison of *Cryptosporidium* spp. among different pig breeds in Tibet and Henan, China. Veterinary Research 15:101.

Zou, Y., Ma, J., Yue, D., Zheng, W., Zhang, X., Zhao, Q., Zhu, X. (2017). Prevalence and risk factors of *Cryptosporidium* infection in farmed pigs in Zhejiang, Guangdong, and Yunnan provinces, China. Tropical Animal Health and Production 49:653–657.