



La criptosporidiosis como enfermedad zoonótica, una revisión¹

Cryptosporidiosis as a zoonotic disease, a review

Viviana Ramírez-Navarro², Ricaurte Lopera-Vásquez², Victoria Rodríguez-Gutiérrez³

- ¹ Recepción: 24 de agosto, 2022. Aceptación: 17 de enero, 2023. Este trabajo forma parte de una iniciativa para ampliar el conocimiento en *Cryptosporidium* spp en la comunidad académica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Cooperativa de Colombia. Sede Ibagué.
- ² Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Grupo de investigación Impronta. Sede Ibagué, Campus El salado, Tolima, Colombia. viviana.ramireznavarro@campusucc.edu.co (autor para la correspondencia, <https://orcid.org/0000-0003-2397-1275>), ricaurte.lopera@campusucc.edu.co (<https://orcid.org/0000-0001-6792-1961>).
- ³ Ejercicio particular Veterinaria campestre NanaVet, Vereda Cay 135 Ibagué, Tolima, Colombia. verodriguezg@ut.edu.co (<https://orcid.org/0000-0003-3781-7455>).

Resumen

Introducción. *Cryptosporidium* spp. es un parásito protozoario del grupo de los coccidios, causante de diarreas, trastornos gastroentéricos y respiratorios (baja frecuencia) en diferentes especies de vertebrados a nivel mundial, principalmente en individuos jóvenes. **Objetivo.** Documentar las características más importantes de virulencia y patogenia del *Cryptosporidium* spp. así como, la descripción de sus variantes genéticas y su potencial zoonótico. **Desarrollo.** Existen más de diecinueve especies de *Cryptosporidium* spp., donde se destacan *C. parvum* (humanos) *C. bovis* (bovinos), *C. suis* (porcinos) y *C. ubiquitum* (aves), debido a su alta capacidad infectiva dada por la diversidad de sus factores de virulencia. El parásito posee afinidad por los enterocitos y genera anomalías en la absorción y funciones secretoras del intestino. La criptosporidiosis varía en función del estado del huésped (edad, nutrición e inmunología), la fuente de contaminación (agua o ingesta), transmisión e higiene. Existen técnicas de diagnóstico, desde pruebas coproscópicas convencionales hasta pruebas de biología molecular. **Conclusión.** Factores como la variabilidad y los factores de virulencia del *Cryptosporidium* spp, se consideran mecanismos que favorecen la infección y dispersión del parásito a nivel individual y grupal en humanos y animales domésticos, al igual que la complejidad del ciclo de vida, la resistencia a condiciones ambientales, la capacidad infectiva y la interacción con el huésped consolidan al *Cryptosporidium* spp. como un agente zoonótico con efectos económicos importantes.

Palabras clave: coccidia, diarrea, factores de virulencia, gastroenteritis, protozoario.

Abstract

Introduction. *Cryptosporidium* spp. is a protozoan parasite belonging to the group of coccidia, causing diarrhea, gastroenteric, and respiratory disorders (less frequently) in different vertebrate species worldwide, primarily in young individuals. **Objective.** To document the most important virulence and pathogenic characteristics of *Cryptosporidium* spp., as well as the description of its genetic variants and its zoonotic potential. **Development.** There are more of 19 species of *Cryptosporidium* spp., with *C. parvum* (humans), *C. bovis* (cattle), *C. suis* (swine), and *C. ubiquitum*



(birds) being noteworthy due to their high infectivity capacity, given by the diversity of their virulence factors. The parasite has an affinity for enterocytes and causes abnormalities in the intestinal absorption and secretory functions. Cryptosporidiosis varies depending on the host's status (age, nutrition, and immunity), the source of contamination (water or ingestion), transmission, and hygiene. Diagnostic techniques range from conventional coproscopic tests to molecular biology tests. **Conclusion.** Factors such as the variability and virulence factors of *Cryptosporidium* spp. are considered mechanisms that favor the infection and spread of the parasite at an individual and group level in humans and domestic animals, as well as the complexity of its life cycle, resistance to environmental conditions, the infective capacity, and host interaction consolidate *Cryptosporidium* spp. as a zoonotic agent with significant economic effects.

Keywords: coccidian, diarrhea, gastroenteritis, protozoan, virulence factors.

Introducción

El género *Cryptosporidium* spp. está compuesto por diferentes especies reportadas en vertebrados (Xiao & Fayer, 2008), donde se destaca el *Cryptosporidium parvum* con sus subtipos H y C (humanos y animales domésticos) (Shahbazi et al., 2020; Uga et al., 2000), que suele estar acompañado por *Giardia duodenalis*, *Cyclospora cayetanensis* y los microsporidios (Klein et al., 2008).

Los protozoarios como *Cryptosporidium* spp. son causa común de enfermedades diarreicas parasitarias, iniciadas con la infección de células epiteliales del tracto gastrointestinal de vertebrados domésticos y silvestres (Meireles, 2010; Muadica et al., 2021; Xiao, Sulaiman et al., 2002; Xiao & Fayer, 2008). La enfermedad denominada criptosporidiosis, impacta de moderada a grave en países en desarrollo y es responsable de infecciones clínicas (enteritis y diarreas severas) y subclínicas (sistema respiratorio) (Hernández-Gallo et al., 2018; Zhang et al., 2020). Su principal cuadro clínico es la gastroenteritis aguda: diarrea (<2 semanas de evolución) acompañada de vómitos, dolor abdominal y/o fiebre (Yalda Lucero, 2014).

La infección predomina en animales jóvenes y su patogenicidad varía por factores como edad, inmunidad, genética, huésped y dosis infecciosa (Feng et al., 2018) (Ryan et al., 2014). Se ha reportado en todos los continentes (Xiao & Fayer, 2008) y se considera una zoonosis re-emergente (Díaz-Lee et al., 2011), que presenta alta mortalidad en neonatos o animales jóvenes (50 %) (Connor et al., 2017) y alta prevalencia en terneros (7 y 21 días) (Garber et al., 1994) y niños pequeños (preescolar). En los Estados Unidos, se ha observado un aumento de la incidencia del protozoario en época de verano, mayor incidencia en hombres, así como la división en dos grupos etarios (niños de 1 a 9 años y adultos 30 y 39 años) (Yoder & Beach, 2010)

La inmunosupresión es determinante para su desarrollo, al igual que su asocio a comorbilidades como síndromes de inmunodeficiencia por infecciones virales y de hiperinmunoglobulina M, asociadas a deficiencias de receptores de la familia del factor de necrosis tumoral, expresadas por una variedad de células, incluidas las células B, macrófagos, células dendríticas, principalmente CD40 (Hunter & Nichols, 2002; Lougaris et al., 2005).

La criptosporidiosis presenta diversas vías de contagio, como a) la fecal-oral, b) el contacto directo con el huésped y c) a través de agua, comida y fómites (indirecto); su modo de transmisión es por lo general, horizontal por contacto directo con animales infectados, es frecuente en veterinarios y trabajadores de higiene y salud pública (Drinkard et al., 2015). Entre los factores que favorecen la infección con *Cryptosporidium* spp. están a) la alta cantidad de ooquistes procedentes de individuos infectados (fuentes de agua), b) la resistencia ambiental de los ooquistes y c) el grado de virulencia (infección con números pequeños de ooquistes (Ryan et al., 2014). Esta revisión tiene como objetivo documentar las características más importantes de virulencia y patogenia de *Cryptosporidium* spp., así como la descripción de sus variantes genéticas y su potencial zoonótico.

Cryptosporidium spp.

Cryptosporidium spp. es un protozoo con afinidad entérica del Phylum *Apicomplexa* y la clase *Coccidia*, orden Eucoccidiorida, familia *Cryptosporidae* (Xiao & Fayer, 2008), es un parásito intracelular obligado, monoxeno, con fases de reproducción sexual, que afecta múltiples especies de vertebrados, incluida la humana (Borowski et al., 2010; Thompson et al., 2016).

Se conocen diecinueve especies de *Cryptosporidium*, entre las que se destacan *C. parvum* (humanos), *C. bovis*, *C. ryanae* (bovinos) (Santin, 2020), *C. canis* (caninos) y *C. suis* (porcinos) (Chalmers & Giles, 2010). En humanos se han reportado ocho especies (*C. hominis*, *C. parvum*, *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. canis*, *C. muris*, *C. suis* y *C. cervine*) (Fayer, 2004). Su intensidad clínica y duración varía en función de factores del huésped (edad, estado inmunológico) y del parásito (dosis infectiva, fuente de infección, vida media de los ooquistes) (Del Coco et al., 2008).

El periodo de incubación de *Cryptosporidium* spp. es variable; los primeros síntomas inician alrededor de los 7 (1-14) días después de la ingesta del parásito (por agua y/o alimentos contaminados) (Hunter et al., 2007), la sintomatología se presenta hasta los 122 días (Chen et al., 2004). En humanos, se puede presentar una fase asintomática con episodios de recaída (presencia de diarrea acuosa y/o mucosa o sanguinolenta) a los 45 días (Hunter et al., 2007).

Cryptosporidium spp. tiene un ciclo de vida de tipo monoxeno intracelular obligado (Chen et al., 2004), cursa dos estados el asexual y el sexual, madura en el tejido del hospedero y es autoinfectioso (Tandel et al., 2019). Su ciclo inicia luego de la ingestión del ooquiste por el animal (≤ 10 ooquistes); después que los esporozoitos emergen de los ooquistes, estos se activan a nivel intestinal (enterocitos), adhiriéndose a la membrana del epitelio y se ubica intra y extracitoplasmática en las denominadas vacuolas/sacos parasitóforos (Certad et al., 2017). Luego, se convierten en merontes tipo I, donde pueden continuar en el ciclo asexual o seguir la fase sexual que permite la formación de dos generaciones de merogonias (merontes tipo II). Los merontes tipo I generan entre seis y ocho núcleos y cada uno da lugar a un merozoito que es a nivel estructural igual a un esporozoito. Los merozoitos abandonan el meronte e invaden otras células del huésped donde pueden dar lugar a merontes tipo I o tipo II. Los merontes tipo II, tienen cuatro núcleos y generan cuatro merozoitos (Bouzig et al., 2013) (Figura 1).

Tras la infección de varias células, los merontes tipo II se diferencian en microgametos y macrogametos (equivalentes a espermatozoides y óvulos) y dan inicio a su fase sexual que origina un cigoto que desarrolla el ooquiste con cuatro esporozoitos desnudos (Gerace et al., 2019). Existen dos tipos de ooquistes, los de pared delgada y los de pared gruesa, los primeros son responsables de la infección y los segundos persisten en el medio ambiente por períodos más largos e infecta a nuevos individuos al permanecer en la membrana parasitófoga o dentro de un huésped (merogonias y ooquistes de pared delgada), lo que genera este segundo procesos de autoinfección (Tzipori & Ward, 2002). Los ooquistes poseen una pared trilaminar, resistente a la rotura química y mecánica, que mantiene la viabilidad de los esporozoitos internos en condiciones ambientales adversas (Leitch & He, 2011).

Modos de transmisión y factores de riesgo

Existen diferentes vías de transmisión para *Cryptosporidium* spp. La transmisión directa a través de la ruta fecal-oral, que ocasiona infecciones accidentales con los ooquistes esporulados excretados en las heces de un huésped infectado (Ryan et al., 2014). También se transmite de forma horizontal gracias a su capacidad de sobrevivencia durante días y en condiciones de humedad y temperatura favorables (Gharpure et al., 2019).

La criptosporidiosis se asocia al consumo de aguas contaminadas y al uso de piscinas, por las propiedades del agua que favorecen la sobrevivencia y desarrollo del parásito (Hachich et al., 2004). En Estados Unidos, es considerado un patógeno de categoría B como agente contaminante de las fuentes agua (Rotz et al., 2002). Se ha

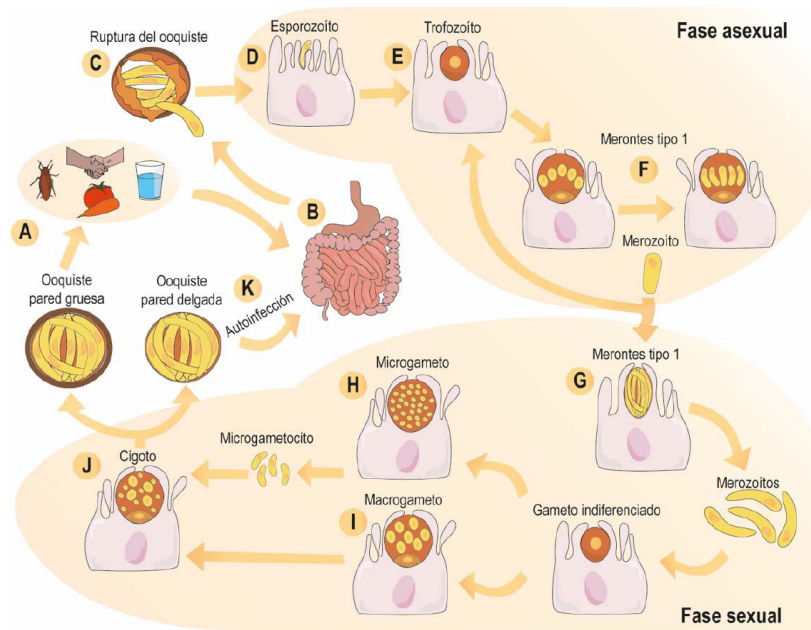


Figura 1. Ciclo biológico del *Cryptosporidium* spp. Modificado de Bouzid et al. (2013).

Figure 1. Biological cycle of *Cryptosporidium* spp. Modified from Bouzid et al. (2013).

encontrado en aguas superficiales, subterráneas, aguas tratadas y sin tratar (Rose, 1997), son las heces humanas y/o animales la principal fuente de contaminación, por la utilización de materia orgánica como abono o por el uso de aguas residuales (Meinhardt et al., 1996). Los oocistos son resistentes a diversos métodos químicos de desinfección, aunque son sensibles a coagulación, filtración y sedimentación (Fayer, 2004), su alta resistencia a el cloro, es una de las principales razones de su alta transmisión en piscinas (Yoder & Beach, 2010).

Los alimentos y subproductos también se consideran fuentes de infección de *Cryptosporidium* spp, la leche cruda (Ursini et al., 2020) y el uso de pasturas contaminadas (Chalmers & Giles, 2010) son las más relevantes, que sumado a las bajas dosis infectantes y la sobrevivencia ambiental, ubican al *Cryptosporidium* spp. como agente causal de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) (Quiroz et al., 2000).

También se han reportado otras fuentes de transmisión como: a) la nosocomial (hospitales y guarderías) (Alpert et al., 1986), b) a través de fómites, c) a través del suelo, d) por insectos vectores (cucarachas y moscas) (Dillingham et al., 2002), e) por inhalación de oocistos durante el vómito (Clavel et al., 1996), f) por posible propagación por vía hematogena (reporte en macrófagos) (Certad et al., 2017) y g) por contacto directo con animales de zoológico (Gu et al., 2016).

Entre los principales factores de riesgo para los humanos se encuentran: a) el contacto con animales, b) brotes de diarrea en el hogar y c) heces en lugares públicos (Bouzid et al., 2018). En animales domésticos los principales factores de riesgo son a) el tipo de rebaño, b) la ubicación geográfica, c) la presencia de crías, d) el clima y e) la habilidad materna. En menor proporción, se reportó la enfermedad en humanos tras el contacto con a) fómites y equipos contaminados, b) profesionales y personal del sector pecuario. Además, en lecherías se reportó que a) la presencia de gatos, b) la inclusión de individuos externos, c) el uso de aguas subterráneas, d) no tratar las excretas, e) la manipulación de equipos de ordeño y f) la presencia permanente de los humanos en la misma explotación, incrementan la probabilidad de presencia de la enfermedad. Por otro lado, el efecto de personal tecnificado, buenas

prácticas ganaderas, el tratamiento del agua y el tratamiento de las excretas, reducen los riesgos de transmisión del *Cryptosporidium* spp. (Garro et al., 2016).

Factores de virulencia de *Cryptosporidium* spp.

Existen diversos factores responsables del establecimiento y perpetuación de la infección por *Cryptosporidium* spp. (Okhuysen & Chappell, 2002), en donde se destaca su capacidad de inducir la patogenicidad (virulencia) (Thompson et al., 2016), lo que genera las consecuencias en el hospedero. Entre los más relevantes están los que influyen en: a) la excitación (proteasas y aminopeptidasas), b) la unión al epitelio (circumsporozoitos –gp900, gp60 y P30), c) el deslizamiento, d) la invasión (fosfolipasas secretoras), e) la supervivencia intracelular y f) el daño de la célula huésped (hemolisinas) (Bouazid et al., 2013). La detección de estos factores de virulencia se ha realizado por métodos moleculares e inmunológicos. Los factores de virulencia asociados a la infección por *Cryptosporidium*, spp. se enumeran en el Cuadro 1 y en la Figura 2 se evidencia el mecanismo mediante el cual muchos de ellos influyen sobre la patogenicidad.

Patogenicidad del *Cryptosporidium*

El parásito se ubica en la superficie del epitelio gastrointestinal y del tracto respiratorio de los mamíferos, aves, reptiles y peces. Se presenta una forma respiratoria en aves y otra entérica en mamíferos, su ciclo de vida se desarrolla en un solo huésped en la superficie luminal del epitelio intestinal (Gerace et al., 2019).

Para la forma entérica, tras la ingestión vía oral del ooquiste, este es transportado por la faringe, esófago, estómago e intestino (peristaltismo), donde al interactuar con ácidos gástricos, pancreáticos y sales biliares (Laurent et al., 1999), facilitan su excreción por: a) el debilitamiento de la pared, b) el aumento de la permeabilidad (Chatterjee et al., 2010) y c) el incremento de la temperatura. La etapa infecciosa de *Cryptosporidium* spp. está mediada por ooquistes esporulados (esporozoitos) de pared gruesa (4-6 µm de diámetro) (Dowle et al., 2013), que en bajo número (<10) causan la infección (Lendner & Dausgschies, 2014).

Los esporozoitos secretan proteasas, tripsinas y adhesinas en la primera hora de infección a los orgánulos apicales de la célula, lo que facilita su invasión, recubre las puntas y los lados de las vellosidades intestinales (tropismo por yeyuno e íleon), lo que favorece el desarrollo intracelular (Chatterjee et al., 2010), que genera alteraciones como el acortamiento de las vellosidades y el alargamiento de las criptas. La presencia del parásito estimula la liberación de mediadores inflamatorios como interferón-gamma (INF-β), interleucina 8 (IL-8) y factor de necrosis tumoral (TNF, por sus siglas en inglés), así como, la liberación de factores solubles que incrementan la secreción de cloro (Cl⁻) y agua (H₂O), disminuyen la absorción de sodio (Na), lo que favorece la diarrea por osmosis (Certad et al., 2017).

La pared del ooquiste de *Cryptosporidium* spp. contiene glicoproteínas similares a la mucina y a adhesinas relacionadas con la trombospondina (Certad et al., 2017), que favorecen su adhesión al enterocito a través de vías y receptores (glicoproteínas gp900, gp60 y CSL). Luego se liberan esporozoitos móviles en el intestino y que, mediante roptria y micronemas, penetran en otras células y forman vacuolas parasitológicas, para la reproducción asexual (merogonía) y/o la reproducción sexual (gametogonía), mediante la liberación de ooquistes de paredes gruesas y de ooquistes de paredes delgadas (García, 2016).

El complejo apical y de superficie expresa receptores de membrana fundamentales en la invasión y/o adhesión a la célula y mesénquima, denominadas glicoproteínas similares a los circumsporozoitos o CSL (por sus siglas en inglés -circumsporozoite like glycoprotein-), interactúa con proteínas de membrana como GalNac

Cuadro 1. Factores de virulencia del *Cryptosporidium* spp.**Table 1.** Virulence factors of *Cryptosporidium* spp.

Factores de virulencia	Funciones	Descripción	Referencias
CSL	Adhesión	Localizado en micronemas y gránulos densos del complejo apical y presente en superficie esporozoitos y merozoitos	Tzipori & Ward (2002)
TRAP-C1	Adhesión Locomoción	Se encuentra en <i>Eimeria</i> , <i>Toxoplasma</i> y <i>Plasmodium</i>	Bouزيد et al. (2013)
Cp47	Adhesión	Localizado entre la película apical del esporozoito y microtúbulos de membrana asociados a la proteína	Boulter-Bitzer et al. (2007); Bouزيد et al. (2013)
CPS-500	Adhesión - locomoción	Antígeno polar glicolípido y tubulovesicular citoplasmático de esporozoito y merozoitos	Bouزيد et al. (2013)
GP900	Adhesión	Almacenado en la superficie del esporozoito durante la infección	Cevallos et al. (2000)
Gp15/45/60 o Cpgp40 /15 o S60 o Gp 15/45	Penetración y motilidad	Glicoproteína que se localiza en la superficie de esporozoito y merozoito	O'Connor et al. (2007)
Gp60/40/15	Adhesión	Glicoproteína de superficie	Bouter-Bitzer et al. (2007)
GP25-200	Ocupa la superficie de la célula del hospedador	Antígeno gp apical de superficie de esporozoitos y merozoitos	Carey et al. (2004)
Gal1/GalNAc lectin	Excitación	Inhibe la adhesión de esporozoitos a células Caco-2. Asociado con estructuras membranosas	Joe et al. (1994)
p23	Adhesión – locomoción	Involucrado en la motilidad y deslizamiento	Borowski et al. (2010); Okhuysen & Chappell (2002)
p30	Adhesión	Involucrado en adhesión a las células	Bouزيد et al. (2013)
ATP	Transporte	Ayuda a los cambios electrolíticos	Okhuysen & Chappell (2002)
Cistein proteasa o calpaina	Remodelación del citoesqueleto	Activa la cisteína proteasas. Se activa en respuesta al Ca ⁺	Perez-Cordon et al. (2011)
Serin proteasa	Invasión	Digestión de proteínas Evade respuestas inmunes Esencial para supervivencia del parasito y crecimiento	Nava et al. (2019)
Aminopeptidasa	Excitación	De los esporozoitos	Okhuysen & Chappell (2002)
HSP70	Proteína de choque térmico	Chaperona dependiente de ATP	Jian et al. (2014)
HSP90	Proteína de choque térmico	Chaperona dependiente de ATP	Feng et al. (2009)

(N-acetilgalactosamina) y glicoproteínas GP900. Los esporozoitos y merozoitos también expresan glicoproteínas de superficie como 15/40/60, p23, TRAP-C1, entre otras (Bouزيد et al., 2013).

Otro factor que regula la invasión de *Cryptosporidium* spp. es el calcio (Ca²⁺), al modular transportadores en el retículo endoplasmático, mitocondrias y membrana celular. *Cryptosporidium* spp. posee Ca²⁺ que convierte adenosín monofosfato (AMP) en adenosín monofosfato cíclico (AMPC), para estimular las paredes basolaterales del enterocito a nivel de la bomba sodio potasio ATPasa, lo que genera la pérdida de electrolitos en el individuo. La teoría de la vía Ca²⁺ está asociada a la activación de la calpaina en enterocito, influyen sobre el Ca²⁺ y activan las fosfolipasas (Luo et al., 2016; Sarkhosh et al., 2019). Un incremento en el nivel de Calcio (Ca²⁺) intracelular, produce diversos procesos

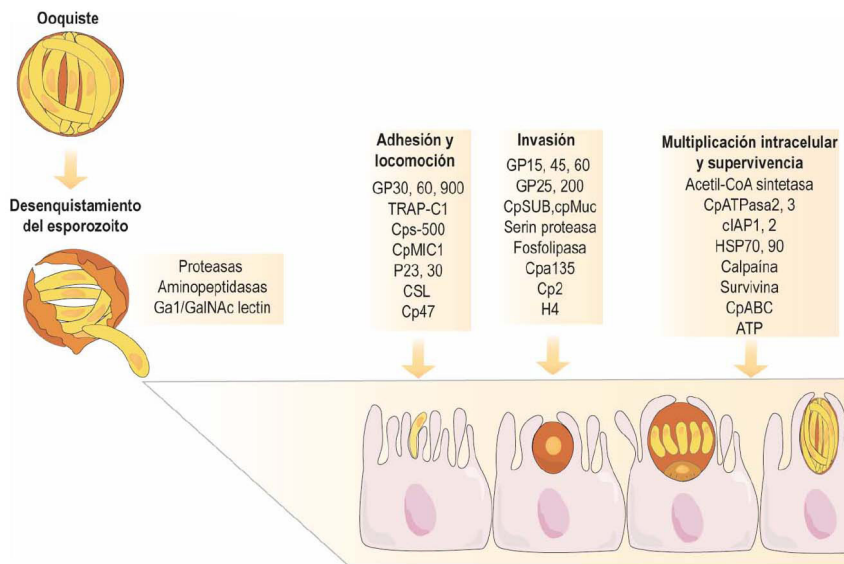


Figura 2. Influencia de diversos factores de virulencia sobre la patogenia del *Cryptosporidium* spp. Modificado de Bouzid et al. (2013).

Figure 2. Virulence factors influence on the pathogenesis of *Cryptosporidium* spp. Modified from Bouzid et al. (2013).

bioquímicos, uno de ellos la activación de la Calpaína, la cual una vez estimulada degrada sustratos de membrana, citoplasmáticos y nucleares, lo que altera la arquitectura celular y lleva a la apoptosis (Reza Momeni, 2011).

Para completar el ciclo biológico, el *Cryptosporidium* spp. sale de la célula infectada e invade los mecanismos de defensa celular y de apoptosis, a través de sus factores de virulencia de multiplicación celular y supervivencia (Figura 2). Entre los mecanismos inhibitorios para el *C. parvum* están las proteínas inhibitorias de las caspasas (IAP), (cIAP1, cIAP2 y survivina) (Liu et al., 2008). La inducción de apoptosis por parte del parásito para escapar de la célula huésped que se ha demostrado *in vitro* (Chen et al., 1999) e *in vivo*, aún está por esclarecer el proceso al considerarse la apoptosis un mecanismo de defensa (Sasahara et al., 2003).

Respuesta inmunológica

La inmunidad contra *Cryptosporidium* spp. se basa en respuestas inmunitarias innatas y adaptativas. Las respuestas innatas provienen de las células natural killer (tNK), las dendríticas, los macrófagos, las quimiocinas, los receptores tipo toll y la óxido nítrico sintetasa (ONS). Además, el factor de necrosis insulínico β activa los macrófagos para producir óxido nítrico (vía óxido nítrico sintetasa); las células auxiliares Th1 y CD4 actúan contra los parásitos intracelulares, producen interferón beta (INF- β), interleucinas (IL-2, IL-12) y factor de necrosis tumoral (TNF), y las células auxiliares Th2 ayudan a eliminar parásitos. Las respuestas adaptativas provienen de células T y B (Leitch & He, 2011).

Lesiones macroscópicas

No se reportan lesiones macroscópicas específicas generadas por *Cryptosporidium* spp. en mamíferos y aves, ya que la enteritis es común para varios patógenos. No obstante, se asocia a a) aumento en la fluidez del contenido intestinal, b) hiperemia de la mucosa y c) distensión general del intestino. Los ganglios mesentéricos

se agrandan, el yeyuno, íleon y colon pueden presentar congestión e hiperemia junto con úlceras multifocales de distribución difusa. A nivel sistémico, se encuentran anomalías de la absorción y de las funciones secretoras del intestino y deshidratación severa. Las lesiones respiratorias pueden incluir rinitis, conjuntivitis, sinusitis, traqueítis y aerosaculitis (aves). También se pueden encontrar riñones pálidos y agrandados (Mohteshamuddin et al., 2020).

Técnicas de diagnóstico para *Cryptosporidium* spp.

Las muestras más comunes para el diagnóstico de *Cryptosporidium* spp. son las heces de individuos sospechosos. El análisis macroscópico se basa en la consistencia de las heces en donde confluye la consistencia acuosa y presencia de moco. No obstante, pueden existir individuos asintomáticos con heces sólidas (cargas de ooquistes de bajas a moderadas). El análisis coprológico debe hacerse seriado, se muestrea por pareado o triplicado, para poder realizar entre cinco a seis frotis que brinden confiabilidad (García, 2016).

La cuantificación de los ooquistes se realiza con las técnicas de flotación o sedimentación. Las técnicas de flotación más relevantes son la de sacarosa de Sheather, el sulfato de Zinc y el cloruro de Sodio saturado (Pakdad et al., 2018), que bajo microscopía de campo claro permite observar ooquistes teñidos de rosa y bajo microscopía de contraste de fases permite observar ooquistes brillantes y birrefringentes (McNabb et al., 1985).

Existen técnicas de microscopía en otros fluidos, tejidos y en heces que también identifican ooquistes como: a) la tinción en muestras de líquido duodenal, bilis, esputo, lavado broncoalveolar y biopsias, b) el montaje húmedo de yodo-solución salina (en heces concentradas), c) la tinción ácido-resistente (naturaleza de esporozoitos) (económica) (Morgan et al., 1998), d) la tinción con azul de safranina y azul de metileno en metanol (ooquistes de color naranja-rosa) (Baxby et al., 1984), e) la tinción negativa (carbol fuschina y nigrosina / safranina / verde malaquita) y f) la tinción ácido-alcohol resistente + DMSO (ooquistes de color rosa brillante) (Pohjola et al., 1985). Se pueden utilizar tinciones fluorescentes (más específicas) en donde se destacan: a) auramina-rodamina, b) auramina-fenol, auramina-carbol fucsina y c) naranja de acridina (Mirhashemi et al., 2015), al igual que usar ácido-alcohol resistentes + anticuerpos fluorescentes anti-*Cryptosporidium* y tinciones con hematoxilina y eosina Giemsa / Jenner, que permiten identificar las etapas de desarrollo (cuerpos pequeños, esféricos y basófilos) en las microvellosidades intestinales (Current & Reese, 1986).

Entre las pruebas serológicas está la detección de anticuerpos (ELISA) anti-*Cryptosporidium*, a través de la presencia de IgG e IgM (Vanathy et al., 2017). La sensibilidad (66 - 100 %) y especificidad (93 - 100 %) en humanos son variables (De, 2013). La observación de antígenos específicos para *Cryptosporidium/Giardia* o para *Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba* se realiza mediante inmunocromatografía rápida (Agnamey et al., 2011).

Los marcadores moleculares más utilizados para la tipificación de *Cryptosporidium* spp. son los genes ARN 18s ribosomal (18S rRNA) y de la glicoproteína de 60 kDA (gp60). Este último codifica una proteína precursora de las glicoproteínas gp45, gp40 y gp15 implicadas en la unión y posterior invasión al enterocito, basado en la heterogeneidad de algunos trinucleótidos (TCA, TCG o TCT) ubicados en el extremo 5' (Zahedi et al., 2016), que ha facilitado la definición de diferentes subtipos dentro de una misma especie (Ryan et al., 2014).

Entre los métodos moleculares para la detección de *Cryptosporidium* spp., se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual se considera una de las técnicas diagnósticas más sensibles y específicas para muestras clínicas y ambientales, al permitir la genotipificación y subtipificación del ADN (ácido desoxirribonucleico) de *Cryptosporidium* spp. La PCR anidada (nested PCR) permite amplificar un mayor número de copias del gen, los más utilizados son *gp60*, *hsp70*, *ARNr 18S*, *COWP* y *TRAP (C1 y C2)*. La PCR en tiempo real (qPCR) detecta el ADN en tiempo real mediante sondas de hibridación (Higgins et al., 2001; Limor et al., 2002) y la PCR múltiple combina la amplificación de diferentes genes diana (Verweij et al., 2004). No obstante, las pruebas de PCR

requieren de protocolos estrictos de extracción y procesamiento de ADN en la materia fecal.

El análisis de microsátélites permite identificar las repeticiones de secuencia simple o los microsátélites e identificar polimorfismos dentro de diferentes tipos de *Cryptosporidium* spp. (Snelling et al., 2007). No obstante, las especies y/o genotipos de *Cryptosporidium* spp., solo pueden ser identificados mediante secuenciación de genes o análisis de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, por sus siglas en inglés). Estos RFLP analizan los productos de la PCR cortados con enzimas de restricción e identifican diferentes genotipos de *Cryptosporidium* spp mediante genotipado y subtipificación (Snelling et al., 2007). Otra técnica para la detección de *Cryptosporidium* spp. es hibridación fluorescente *in situ* (FISH), que permite la hibridación mediante una sonda de oligonucleótidos sintéticos dirigidas a regiones particulares de ARN ribosomal (ARNr) del patógeno (Alagappan et al., 2009).

Especies de *Cryptosporidium* spp. en humanos y animales domésticos

Cryptosporidium spp. tiene diferentes especies que afectan humanos y animales domésticos, silvestres y peces, en donde *C. parvum* presenta mayor prevalencia en humanos y en algunas especies animales, e influye con mayor frecuencia e intensidad en individuos jóvenes (Zhang et al., 2020). En bovinos, también presenta afinidad por animales jóvenes (3 a 21 días) identificándose *C. parvum*, *C. bovis* y *C. ryanae* en animales post destete y *C. andersoni* en adultos. El *C. parvum* presenta una alta prevalencia (90 %) y es considerada una zoonosis muy influyente, que hace parte del complejo de diarrea neonatal no específica en terneros (Thompson et al., 2016). La tasa de infección del *C. bovis* en terneros pre-destete puede llegar al 100 % y post-destete al 33 % (Murakoshi et al., 2012). La prevalencia fluctúa entre 0 a 100 %, con diversos *Cryptosporidium* spp. en diferentes edades (Del Coco et al., 2008; Mohteshamuddin et al., 2020). Se ha reportado *C. parvum* en búfalos de agua como parte de la diarrea neonatal no específica (Maurya et al., 2013).

En porcinos, se reportan especies como *C. parvum*, *C. suis*, *C. scrofarum*, *C. muris* y *C. tyzzeri*, que a su vez causan enteritis (necrótica) y diarrea, aunque poco frecuente, en cerdos entre los ocho a veintidós días, con signos como deshidratación, inapetencia y pérdida de peso (Guselle et al., 2003). También se identificó el *C. suis* en humanos en forma asintomática (Xiao, Bern et al., 2002).

En ovinos y caprinos, si bien existe literatura antigua (Barker & Carbonell, 1974), son pocos los reportes (Mason et al., 1981) que presentan coincidencia con otros rumiantes. La mayor susceptibilidad se da en animales jóvenes menores de un mes de vida, donde se presenta alta morbilidad y mortalidad (Vieira et al., 1997). Se han identificado diversas especies como *C. parvum*, *C. ubiquitum*, *C. xaioi*, *C. homininis*, *C. suis*, *C. andersoni*, *C. fayeri*, *C. scrofarum*, entre otros (Foreyt, 1990; Majeed et al., 2018; Robertson et al., 2014).

En camélidos suramericanos se ha detectado *C. parvum*, sin embargo, en estos no se presentan signos clínicos (Zhang et al., 2020). En conejos se ha reportado *C. parvum* y *C. cuniculus*, en gazapos antes del destete con curso asintomático y con signos de diarrea, acompañada de alta mortalidad (Robinson & Chalmers, 2010).

En caninos, *C. canis*, presenta la diarrea como su principal síntoma, en individuos menores de veinticuatro meses (Fayer et al., 2001). En felinos domésticos, *C. felis* y *C. parvum*, causa diarrea recurrente asociada a inmunosupresión secundaria proveniente de leucemia felina (Mtambo et al., 1991), aunque se reportan casos de enfermedad grave y persistente (Barr et al., 1994).

La criptosporidiosis aviar se presenta en diversas especies de aves de forma subclínica y suele alojarse en el ciego. Se han identificado ooquistes similares a *C. parvum*, al igual que *C. meleagridis* (Sréter et al., 2000), *C. bayley* y *C. galli*, en la bolsa de Fabricio, la cloaca y el proventrículo (Baroudi et al., 2013; Chvala et al., 2006). En peces se ha identificado *C. scophthalmi* en el epitelio intestinal y *C. molnari* en el estómago, y con el tiempo

ha ganado protagonismo como fuente de contaminación de aguas con un impacto zoonótico y en salud pública (Certad et al., 2015; Reid et al., 2010).

En serpientes el *C. serpentis* causa hiperemia y engrosamiento de la mucosa gástrica, con aspecto empedrado y ausencia de pliegues rugosos, así como el *C. varanii* causa enteritis (Yimming et al., 2016).

Tratamiento y prevención

A pesar de los avances en investigación no existe un tratamiento eficaz y específico contra la criptosporidiosis por su localización intracelular y por los factores de resistencia del *Cryptosporidium* spp. Si bien, se reportan tratamientos basados en combinación de medicamentos antiparasitarios (paromomicina, zitromicina y nitazoxanida) considerados moderadamente efectivos (Sparks et al., 2015), son los factores de prevención como a) el lavado de manos y fómites, b) la interrupción de las vías de transmisión, c) la protección de individuos vulnerables, d) evitar el contacto con heces (humanas y de animales) y e) evitar la ingesta de aguas sin tratamiento, los que reducen la incidencia de la enfermedad (Chalmers & Davies, 2010).

Conclusiones

La variabilidad en la prevalencia, la amplia distribución, la diversidad de mecanismos de interacción con el huésped, la complejidad de su ciclo de vida, la resistencia a diferentes ambientes y la capacidad infectiva (virulencia), ubican al *Cryptosporidium* spp como un agente zoonótico relevante. Factores como la juventud del huésped, la especie de *Cryptosporidium* spp, la vía infección (contacto directo – ingesta agua y leche contaminadas), el tipo de explotación, la ubicación geográfica y los condiciones ambientales, influyen en la variabilidad en las tasas de infección (0 a 100 %). De igual forma, la inespecificidad de los síntomas y la co-infección con otros patógenos en diferentes especies, generan confusión en el diagnóstico clínico y son los métodos diagnósticos de laboratorio y moleculares los que determinan su diagnóstico certero e identificación de variante. El diagnóstico y tratamiento oportuno evita los efectos letales de la enfermedad, aunque la diarrea y sus efectos secundarios tienen un impacto económico importante. El control sanitario ha mostrado ser efectivo en la disminución del patógeno y el uso de la información epidemiológica ha permitido construir mapas claros con factores de riesgo y ubicación, lo que genero mayor conocimiento sobre sus zonas de influencia. Sin embargo, la variabilidad genética dentro de la especie, las características del huésped, y los factores de virulencia (adhesión, invasión y permanencia celular), presentan un reto para la salud pública. La morbilidad y mortalidad de los animales infectados en producciones pecuarias y en animales de compañía, depende de la intensidad de los síntomas clínicos (diarrea) y de la prevalencia e incidencia dependiente de los factores de riesgo, por lo que se recomienda continuar con investigaciones que contribuyan a documentar las características de patogenia, transmisión, prevención y control del *Cryptosporidium* spp .

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Cooperativa de Colombia, en particular a la sede Ibagué por el apoyo para la elaboración de este manuscrito.

Referencias

- Agnamey, P., Sarfati, C., Pinel, C., Rabodoniriina, M., Kapel, N., Dutoit, E., Garnaud, C., Diouf, M., Garin, J., Totet, A., Derouin, F., & ANOFEL Cryptosporidium National Network. (2011). Evaluation of four commercial rapid immunochromatographic assays for detection of *Cryptosporidium* antigens in stool samples: A blind multicenter trial. *Journal of Clinical Microbiology*, *49*(4), 1605–1607. <https://doi.org/10.1128/JCM.02074-10>
- Alagappan, A., Bergquist, P. L., & Ferrari, B. C. (2009). Development of a two-color fluorescence in situ hybridization technique for species-level identification of human-infectious *Cryptosporidium* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, *75*(18), 5996–5998. <https://doi.org/10.1128/AEM.00643-09>
- Alpert, G., Bell, L. M., Kirkpatrick, C. E., Budnick, L. D., Campos, J. M., Friedman, H. M., & Plotkin, S. A. (1986). Outbreak of cryptosporidiosis in a day-care center. *Pediatrics*, *77*(2), 152–157. <https://doi.org/10.1542/peds.77.2.152>
- Barker, I. K., & Carbonell, P. L. (1974). *Cryptosporidium agni* sp.n. From lambs, and *Cryptosporidium bovis* sp.n. from a calf, with observations on the oocyst. *Zeitschrift Für Parasitenkunde*, *44*(4), 289–298. <https://doi.org/10.1007/BF00366112>
- Baroudi, D., Khelef, D., Goucem, R., Adjou, K. T., Adamu, H., Zhang, H., & Xiao, L. (2013). Common occurrence of zoonotic pathogen *Cryptosporidium meleagridis* in broiler chickens and turkeys in Algeria. *Veterinary Parasitology*, *196*(3–4), 334–340. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.02.022>
- Barr, S. C., Jamrosz, G. F., Hornbuckle, W. E., Bowman, D. D., & Fayer, R. (1994). Use of paromomycin for treatment of cryptosporidiosis in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *205*(12), 1742–1743.
- Baxby, D., Blundell, N., & Hart, C. A. (1984). The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. *Epidemiology & Infection*, *93*(2), 317–323. <https://doi.org/10.1017/S0022172400064858>
- Borowski, H., Thompson, R. C. A., Armstrong, T., & Clode, P. L. (2010). Morphological characterization of *Cryptosporidium parvum* life-cycle stages in an *in vitro* model system. *Parasitology*, *137*(1), 13–26. <https://doi.org/10.1017/S0031182009990837>
- Boulter-Bitzer, J. I., Lee, H., & Trevors, J. T. (2007). Molecular targets for detection and immunotherapy in *Cryptosporidium parvum*. *Biotechnology Advances*, *25*(1), 13–44. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.08.003>
- Bouzid, M., Hunter, P. R., Chalmers, R. M., & Tyler, K. M. (2013). *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. *Clinical Microbiology Reviews*, *26*(1), 115–134. <https://doi.org/10.1128/CMR.00076-12>
- Bouzid, M., Kintz, E., & Hunter, P. R. (2018). Risk factors for *Cryptosporidium* infection in low and middle income countries: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *12*(6), Article e0006553. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006553>
- Carey, C. M., Lee, H., & Trevors, J. T. (2004). Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Research*, *38*(4), 818–862. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.10.012>
- Certad, G., Dupouy-Camet, J., Gantois, N., Hammouma-Ghelboun, O., Pottier, M., Guyot, K., Benamrouz, S., Osman, M., Delaire, B., Creusy, C., Viscogliosi, E., Dei-Cas, E., Aliouat-Denis, C. A., & Follet, J. (2015). Identification of *Cryptosporidium* species in fish from Lake Geneva (Lac Léman) in France. *PLoS ONE*, *10*(7), Article e0133047. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133047>

- Certad, G., Viscogliosi, E., Chabé, M., & Cacciò, S. M. (2017). Pathogenic mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends in Parasitology*, 33(7), 561–576. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.02.006>
- Cevallos, A. M., Bhat, N., Verdon, R., Hamer, D. H., Stein, B., Tzipori, S., Pereira, M. E. A., Keusch, G. T., & Ward, H. D. (2000). Mediation of *Cryptosporidium parvum* infection in vitro by mucin-like glycoproteins defined by a neutralizing monoclonal antibody. *Infection and Immunity*, 68(9), 5167–5175. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.9.5167-5175.2000>
- Chalmers, R. M., & Davies, A. P. (2010). Minireview: Clinical cryptosporidiosis. *Experimental Parasitology*, 124(1), 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.02.003>
- Chalmers, R. M., & Giles, M. (2010). Zoonotic cryptosporidiosis in the UK – challenges for control. *Journal of Applied Microbiology*, 109(5), 1487–1497. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04764.x>
- Chatterjee, A., Banerjee, S., Steffen, M., O'Connor, R. M., Ward, H. D., Robbins, P. W., & Samuelson, J. (2010). Evidence for mucin-like glycoproteins that tether sporozoites of *Cryptosporidium parvum* to the inner surface of the oocyst wall. *Eukaryotic Cell*, 9(1), 84–96. <https://doi.org/10.1128/EC.00288-09>
- Chen, X. -M., Gores, G. J., Paya, C. V., & LaRusso, N. F. (1999). *Cryptosporidium parvum* induces apoptosis in biliary epithelia by a Fas/Fas ligand-dependent mechanism. *The American Journal of Physiology*, 277(3), 599–608. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1999.277.3.G599>
- Chen, X. -M., O'Hara, S. P., Huang, B. Q., Nelson, J. B., Lin, J. J. -C., Zhu, G., Ward, H. D., & LaRusso, N. F. (2004). Apical organelle discharge by *Cryptosporidium parvum* is temperature, cytoskeleton, and intracellular calcium dependent and required for host cell invasion. *Infection and Immunity*, 72(12), 6806–6816. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.12.6806-6816.2004>
- Chvala, S., Fragner, K., Hackl, R., Hess, M., & Weissenböck, H. (2006). *Cryptosporidium* infection in domestic geese (*Anser anser f. domestica*) detected by in-situ hybridization. *Journal of Comparative Pathology*, 134(2–3), 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2005.11.002>
- Clavel, A., Arnal, A. C., Sánchez, E. C., Castillo, F. J., Varea, M., Gómez-Lus, R., Cuesta, J., Letona, S., & Amiguet, J. A. (1996). Respiratory cryptosporidiosis: Case series and review of the literature. *Infection*, 24(5), 341–346. <https://doi.org/10.1007/BF01716076>
- Connor, E. E., Wall, E. H., Bravo, D. M., Evock-Clover, C. M., Elsasser, T. H., Baldwin, R. L., Santín, M., Vinyard, B. T., Kahl, S., & Walker, M. P. (2017). Reducing gut effects from *Cryptosporidium parvum* infection in dairy calves through prophylactic glucagon-like peptide 2 therapy or feeding of an artificial sweetener. *Journal of Dairy Science*, 100(4), 3004–3018. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11861>
- Current, W. L., & Reese, N. C. (1986). A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. *The Journal of Protozoology*, 33(1), 98–108. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1986.tb05567.x>
- De, A. (2013). Current laboratory diagnosis of opportunistic enteric parasites in human immunodeficiency virus-infected patients. *Tropical Parasitology*, 3(1), 7–16. https://journals.lww.com/tpar/Fulltext/2013/03010/Current_laboratory_diagnosis_of_opportunistic.3.aspx
- Del Coco, V. F., Córdoba, M. A., & Basualdo, J. A. (2008). *Cryptosporidium* infection in calves from a rural area of Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 158(1–2), 31–35. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.08.018>
- Díaz-Lee, A., Mercado, R., Onuoha, E. O., Ozaki, L. S., Muñoz, P., Muñoz, V., Martínez, F. G., & Fredes, F. (2011). *Cryptosporidium parvum* in diarrheic calves detected by microscopy and identified by immunochromatographic and molecular methods. *Veterinary Parasitology*, 176(2–3), 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.001>

- Dillingham, R. A., Lima, A. A., & Guerrant, R. L. (2002). Cryptosporidiosis: Epidemiology and impact. *Microbes and Infection*, 4(10), 1059–1066. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)01630-1](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01630-1)
- Dowle, M., Hill, N. J., & Power, M. L. (2013). *Cryptosporidium* from a free-ranging marsupial host: Bandicoots in urban Australia. *Veterinary Parasitology*, 198(1–2), 197–200. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.017>
- Drinkard, L. N., Halbritter, A., Nguyen, G. T., Sertich, P. L., King, M., Bowman, S., Huxta, R., & Guagenti, M. (2015). Outbreak of Cryptosporidiosis among veterinary medicine students—Philadelphia, Pennsylvania, February 2015. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 64(28), Article 773. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6428a7>
- Fayer, R., Trout, J. M., Xiao, L., Morgan, U. M., Lal, A. A., & Dubey, J. P. (2001). *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. *The Journal of Parasitology*, 87(6), 1415–1422. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2001\)087\[1415:CCNSFD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[1415:CCNSFD]2.0.CO;2)
- Fayer, R. (2004). *Cryptosporidium*: A water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology*, 126(1–2), 37–56. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.004>
- Feng, Y., Dearen, T., Cama, V., & Xiao, L. (2009). 90-Kilodalton heat shock protein, Hsp90, as a target for genotyping *Cryptosporidium* spp. known to infect humans. *Eukaryotic Cell*, 8(4), 478–482. <https://doi.org/10.1128/EC.00294-08>
- Feng, Y., Ryan, U. M., & Xiao, L. (2018). Genetic Diversity and Population Structure of *Cryptosporidium*. *Trends in Parasitology*, 34(11), 997–1011. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.07.009>
- Foreyt, W. J. (1990). Coccidiosis and Cryptosporidiosis in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 6(3), 655–670. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30838-0](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30838-0)
- Garcia, L. S. (2016). *Diagnostic medical parasitology* (6th ed.). American Society of Microbiology. <https://doi.org/10.1128/9781555819002>
- Garber, L. P., Salman, M. D., Hurd, H. S., Keefe, T., & Schlater, J. L. (1994). Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205(1), 86–91.
- Garro, C. J., Morici, G. E., Utgés, M. E., Tomazic, M. L., & Schnittger, L. (2016). Prevalence and risk factors for shedding of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in dairy calves of Buenos Aires Province, Argentina. *Parasite Epidemiology and Control*, 1(2), 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2016.03.008>
- Gerace, E., Lo Presti, V. D. M., & Biondo, C. (2019). *Cryptosporidium* infection: epidemiology, pathogenesis, and differential diagnosis. *European Journal of Microbiology & Immunology*, 9(4), 119–123. <https://doi.org/10.1556/1886.2019.00019>
- Gharpure, R., Perez, A., Miller, A. D., Wikswo, M. E., Silver, R., & Hlavsa, M. C. (2019). Cryptosporidiosis outbreaks—United States, 2009–2017. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 68(25), 568–572. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6825a3>
- Gu, Y., Wang, X., Zhou, C., Li, P., Xu, Q., Zhao, C., Liu, W., & Xu, W. (2016). Investigation on *Cryptosporidium* infections in wild animals in a zoo in anhui province. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 47(3), 846–854. <https://doi.org/10.1638/2015-0301.1>
- Guselle, N. J., Appelbee, A. J., & Olson, M. E. (2003). Biology of *Cryptosporidium parvum* in pigs: From weaning to market. *Veterinary Parasitology*, 113(1), 7–18. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(03\)00039-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(03)00039-6)
- Hachich, E. M., Sato, M. I. Z., Galvani, A. T., Menegon, J. R. N., & Mucci, J. L. N. (2004). Giardia and *Cryptosporidium* in source waters of São Paulo State, Brazil. *Water Science and Technology*, 50(1), 239–245. <https://doi.org/10.2166/wst.2004.0061>

- Hernández-Gallo, N., Hernández-Flórez, L. J., & Cortés-Vecino, J. A. (2018). Criptosporidiosis y «Una Salud». *Revista de Salud Pública*, 20(1), 138–143. <https://doi.org/10.15446/rsap.V20n1.69959>
- Higgins, J. A., Fayer, R., Trout, J. M., Xiao, L., Lal, A. A., Kerby, S., & Jenkins, M. C. (2001). Real-time PCR for the detection of *Cryptosporidium parvum*. *Journal of Microbiological Methods*, 47(3), 323–337. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(01\)00339-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(01)00339-6)
- Hunter, P. L., & Nichols, G. (2002). Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(1), 145–154. <https://doi.org/10.1128/cmr.15.1.145-154.2002>
- Hunter, P. R., Hadfield, S. J., Wilkinson, D., Lake, I. R., Harrison, F. C. D., & Chalmers, R. M. (2007). Correlation between Subtypes of *Cryptosporidium parvum* in Humans and Risk. *Emerging Infectious Diseases*, 13(1), 82–88. <https://doi.org/10.3201%2F1301.060481>
- Jian, F., Qi, M., He, X., Wang, R., Zhang, S., Dong, H., & Zhang, L. (2014). Occurrence and molecular characterization of *Cryptosporidium* in dogs in Henan province, China. *BMC Veterinary Research*, 10, Article 26. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-26>
- Joe, A., Hamer, D. H., Kelley, M. A., Pereira, M. E., Keusch, G. T., Tzipori, S., & Ward, H. D. (1994). Role of a Gal/GalNAc-specific sporozoite surface lectin in *Cryptosporidium parvum*-host cell interaction. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 41(5), 44S.
- Klein, P., Kleinová, T., Volek, Z., & Šimůnek, J. (2008). Effect of *Cryptosporidium parvum* infection on the absorptive capacity and paracellular permeability of the small intestine in neonatal calves. *Veterinary Parasitology*, 152(1–2), 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.11.020>
- Laurent, F., McCole, D., Eckmann, L., & Kagnoff, M. F. (1999). Pathogenesis of *Cryptosporidium parvum* infection. *Microbes and Infection*, 1(2), 141–148. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(99\)80005-7](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(99)80005-7)
- Leitch, G. J., & He, Q. (2011). Cryptosporidiosis-an overview. *Journal of Biomedical Research*, 25(1), 1–16. [https://doi.org/10.1016/S1674-8301\(11\)60001-8](https://doi.org/10.1016/S1674-8301(11)60001-8)
- Lendner, M., & Dauschies, A. (2014). *Cryptosporidium* infections: Molecular advances. *Parasitology*, 141(11), 1511–1532. <https://doi.org/10.1017/S0031182014000237>
- Limor, J. R., Lal, A. A., & Xiao, L. (2002). Detection and differentiation of cryptosporidium parasites that are pathogenic for humans by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(7), 2335–2338. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.7.2335-2338.2002>
- Liu, J., Enomoto, S., Lancto, C. A., Abrahamsen, M. S., & Rutherford, M. S. (2008). Inhibition of apoptosis in *Cryptosporidium parvum*-infected intestinal epithelial cells is dependent on survivin. *Infection and Immunity*, 76(8), 3784–3792. <https://doi.org/10.1128/IAI.00308-08>
- Lougaris, V., Raffaele B., Ferrari S., & Plenaby A. (2005). Hyper immunoglobulin M syndrome due to CD40 deficiency: clinical, molecular, and immunological features. *Immunological Reviews*, 203(1), 48–66. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2005.00229.x>
- Luo, X., Jedlicka, S., & Jellison, K. (2016). Pseudo-second-order calcium-mediated *Cryptosporidium parvum* oocyst attachment to environmental biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(1), article e02339-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02339-16>

- Majeed, Q. A. H., El-Azazy, O. M. E., Abdou, N.-E. M. I., Al-Aal, Z. A., El-Kabbany, A. I., Tahrani, L. M. A., AlAzemi, M. S., Wang, Y., Feng, Y., & Xiao, L. (2018). Epidemiological observations on cryptosporidiosis and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in sheep and goats in Kuwait. *Parasitology Research*, 117(5), 1631–1636. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5847-1>
- Mason, R. W., Hartley, W. J., & Tilt, L. (1981). Intestinal cryptosporidiosis in a kid goat. *Australian Veterinary Journal*, 57(8), 386–388. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1981.tb00529.x>
- Maurya, P. S., Rakesh, R. L., Pradeep, B., Kumar, S., Kundu, K., Garg, R., Ram, H., Kumar, A., & Banerjee, P. S. (2013). Prevalence and risk factors associated with *Cryptosporidium* spp. infection in young domestic livestock in India. *Tropical Animal Health and Production*, 45(4), 941–946. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0311-1>
- McNabb, S. J., Hensel, D. M., Welch, D. F., Heijbel, H., McKee, G. L., & Istre, G. R. (1985). Comparison of sedimentation and flotation techniques for identification of *Cryptosporidium* sp. oocysts in a large outbreak of human diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(4), 587–589. <https://doi.org/10.1128/jcm.22.4.587-589.1985>
- Meinhardt, P. L., Casemore, D. P., & Miller, K. B. (1996). Epidemiologic aspects of human cryptosporidiosis and the role of waterborne transmission. *Epidemiologic Reviews*, 18(2), 118–136. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a017920>
- Meireles, M. V. (2010). *Cryptosporidium* infection in Brazil: Implications for veterinary medicine and public health. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria*, 19(4), 197–204. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612010000400002>
- Mirhashemi, M. E., Zintl, A., Grant, T., Lucy, F. E., Mulcahy, G., & De Waal, T. (2015). Comparison of diagnostic techniques for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in animal samples. *Experimental Parasitology*, 151-152, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2015.01.018>
- Mohteshamuddin, K., Hamdan, L., AlKaabi, A. B., & Barigye, R. (2020). *Cryptosporidium parvum* and other enteric pathogens in scouring neonatal dairy calves from the Al Ain region, United Arab Emirates. *Veterinary Parasitology, Regional Studies and Reports*, 21, Article 100435. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100435>
- Morgan, U. M., Pallant, L., Dwyer, B. W., Forbes, D. A., Rich, G., & Thompson, R. C. A. (1998). Comparison of PCR and microscopy for detection of *Cryptosporidium parvum* in Human fecal specimens: Clinical trial. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(4), 995–998. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.4.995-998.1998>
- Mtambo, M. M., Nash, A. S., Blewett, D. A., Smith, H. V., & Wright, S. (1991). *Cryptosporidium* infection in cats: Prevalence of infection in domestic and feral cats in the Glasgow area. *The Veterinary Record*, 129(23), 502–504.
- Muadica, A. S., Balasegaram, S., Beebeejaun, K., Köster, P. C., Bailo, B., Hernández-de-Mingo, M., Dashti, A., Dacal, E., Saugar, J. M., Fuentes, I., & Carmena, D. (2021). Risk associations for intestinal parasites in symptomatic and asymptomatic schoolchildren in central Mozambique. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(4), 624–629. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.05.031>
- Murakoshi, F., Xiao, L., Matsubara, R., Sato, R., Kato, Y., Sasaki, T., Fukuda, Y., Tada, C., & Nakai, Y. (2012). Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in grazing beef cattle in Japan. *Veterinary Parasitology*, 187(1–2), 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.12.011>
- Nava, S., White, A. C., & Castellanos-González, A. (2019). *Cryptosporidium parvum* subtilisin-like serine protease (SUB1) is crucial for parasite egress from host cells. *Infection and Immunity*, 87(5), e00784–18. <https://doi.org/10.1128/IAI.00784-18>

- O'Connor, R. M., Wanyiri, J. W., Cevallos, A. M., Priest, J. W., & Ward, H. D. (2007). *Cryptosporidium parvum* glycoprotein gp40 localizes to the sporozoite surface by association with gp15. *Molecular and Biochemical Parasitology*, *156*(1), 80–83. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2007.07.010>
- Okhuysen, P. C., & Chappell, C. L. (2002). *Cryptosporidium* virulence determinants – are we there yet? *International Journal for Parasitology*, *32*(5), 517–525. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00356-3](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00356-3)
- Pakdad, K., Nasab, S. D. M., Damraj, F. -A., & Ahmadi, N. A. (2018). Comparing the efficiency of four diagnostic concentration techniques performed on the same group of intestinal parasites. *Alexandria Journal of Medicine*, *54*(4), 495–501. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.11.005>
- Perez-Cordon, G., Nie, W., Schmidt, D., Tzipori, S., & Feng, H. (2011). Involvement of host calpain in the invasion of *Cryptosporidium parvum*. *Microbes and Infection*, *13*(1), 103–107. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2010.10.007>
- Pohjola, S., Jokipii, L., & Jokipii, A. M. (1985). Dimethylsulphoxide-Ziehl-Neelsen staining technique for detection of cryptosporidial oocysts. *The Veterinary Record*, *116*(16), 442–443.
- Quiroz, E. S., Bern, C., MacArthur, J. R., Xiao, L., Fletcher, M., Arrowood, M. J., Shay, D. K., Levy, E. E., Glass, R. I., & Lal, A. (2000). An outbreak of cryptosporidiosis linked to a foodhandler. *The Journal of Infectious Diseases*, *181*(2), 695–700. <https://doi.org/10.1086/315279>
- Reid, A., Lymbery, A., Ng, J., Tweedle, S., & Ryan, U. (2010). Identification of novel and zoonotic *Cryptosporidium* species in marine fish. *Veterinary Parasitology*, *168*(3-4), 190–195. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.11.015>
- Reza Momeni, H. (2011). Role of calpain in apoptosis. Review article. *Cell Journal (Yakhteh)*, *13*(2), 65–72. https://www.celljournal.org/article_250071.html
- Robertson, L. J., Björkman, C., Axén, C., & Fayer, R. (2014). Cryptosporidiosis in farmed animals. In S. M. Cacciò, & G. Widmer (Eds.), *Cryptosporidium: Parasite and disease* (pp. 149–235). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1562-6_4
- Robinson, G., & Chalmers, R. M. (2010). The European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), a source of zoonotic cryptosporidiosis. *Zoonoses and Public Health*, *57*(7–8), e1-e13. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01308.x>
- Rose, J. B. (1997). Environmental ecology of *Cryptosporidium* and public health implications. *Annual Review of Public Health*, *18*, 135–161. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.18.1.135>
- Rotz, L. D., Khan, A. S., Lillibridge, S. R., Ostroff, S. M., & Hughes, J. M. (2002). Public Health Assessment of Potential Biological Terrorism Agents. *Emerging Infectious Diseases*, *8*(2), 225–230. <https://doi.org/10.3201%2F0802.010164>
- Ryan, U., Fayer, R., & Xiao, L. (2014). *Cryptosporidium* species in humans and animals: Current understanding and research needs. *Parasitology*, *141*(13), 1667–1685. <https://doi.org/10.1017/S0031182014001085>
- Santin, M. (2020). *Cryptosporidium* and *Giardia* in ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *36*(1), 223–238. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.11.005>
- Sarkhosh, T., Zhang, X. F., Jellison, K. L., & Jedlicka, S. S. (2019). Calcium-mediated biophysical binding of *Cryptosporidium parvum* oocysts to surfaces is sensitive to oocyst age. *Applied and Environmental Microbiology*, *85*(17), Article e00816-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.00816-19>
- Sasahara, T., Maruyama, H., Aoki, M., Kikuno, R., Sekiguchi, T., Takahashi, A., Maruyama, H., Aoki, M., & Inoue, M. (2003). Apoptosis of intestinal crypt epithelium after *Cryptosporidium parvum* infection. *Journal of Infection and Chemotherapy*, *9*(3), 278–281. <https://doi.org/10.1007/s10156-003-0259-1>

- Shahbazi, P., Aligolzadeh, A., Khordadmehr, M., Hashemzadeh Farhang, H., & Katiraei, F. (2020). Molecular study and genotyping of *Cryptosporidium baileyi* and *Cryptosporidium parvum* from free-range and commercial broiler chickens in Guilan province, Iran. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 69, Article 101411. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101411>
- Snelling, W. J., Xiao, L., Ortega-Pierres, G., Lowery, C. J., Moore, J. E., Rao, J. R., Smyth, S., Millar, B. C., Rooney, P. J., Matsuda, M., Kenny, F., Xu, J., & Dooley, J. S. G. (2007). Cryptosporidiosis in developing countries. *Journal of Infection in Developing Countries*, 1(3), 242–256. <https://doi.org/10.3855/jidc.360>
- Sparks, H., Nair, G., Castellanos-Gonzalez, A., & White, A. C. (2015). Treatment of *Cryptosporidium*: What we know, gaps, and the way forward. *Current Tropical Medicine Reports*, 2(3), 181–187. <https://doi.org/10.1007/s40475-015-0056-9>
- Sréter, T., Kovács, G., da Silva, A. J., Pieniazek, N. J., Széll, Z., Dobos-Kovács, M., Márialigeti, K., & Varga, I. (2000). Morphologic, Host Specificity, and Molecular Characterization of a Hungarian *Cryptosporidium meleagridis* Isolate. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(2), 735–738. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.2.735-738.2000>
- Tandel, J., English, E. D., Sateriale, A., Gullicksrud, J. A., Beiting, D. P., Sullivan, M. C., Pinkston, B., & Striepen, B. (2019). Life cycle progression and sexual development of the apicomplexan parasite *Cryptosporidium parvum*. *Nature Microbiology*, 4(12), 2226–2236. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0539-x>
- Thompson, R. C. A., Koh, W. H., & Clode, P. L. (2016). *Cryptosporidium*—What is it? *Food and Waterborne Parasitology*, 4, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2016.08.004>
- Tzipori, S., & Ward, H. (2002). Cryptosporidiosis: Biology, pathogenesis and disease. *Microbes and Infection*, 4(10), 1047–1058. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)01629-5](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01629-5)
- Uga, S., Matsuo, J., Kono, E., Kimura, K., Inoue, M., Rai, S. K., & Ono, K. (2000). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocyst shedding in calves in Japan. *Veterinary Parasitology*, 94(1-2), 27–32. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00338-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00338-1)
- Ursini, T., Moro, L., Requena-Méndez, A., Bertoli, G., & Buonfrate, D. (2020). A review of outbreaks of cryptosporidiosis due to unpasteurized milk. *Infection*, 48(5), 659–663. <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01426-3>
- Vanathy, K., Parija, S. C., Mandal, J., Hamide, A., & Krishnamurthy, S. (2017). Detection of *Cryptosporidium* in stool samples of immunocompromised patients. *Tropical Parasitology*, 7(1), 41–46. https://journals.lww.com/tpar/Fulltext/2017/07010/Detection_of_Cryptosporidium_in_stool_samples_of.8.aspx
- Verweij, J. J., Blangé, R. A., Templeton, K., Schinkel, J., Brienens, E. A. T., van Rooyen, M. A. A., van Lieshout, L., & Polderman, A. M. (2004). Simultaneous detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium parvum* in fecal samples by using multiplex real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(3), 1220–1223. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.1220-1223.2004>
- Vieira, L. S., Silva, M. B., Tolentino, A. C., Lima, J. D., & Silva, A. C. (1997). Outbreak of cryptosporidiosis in dairy goats in Brazil. *The Veterinary Record*, 140(16), 427–428. <https://doi.org/10.1136/vr.140.16.427>
- Xiao, L., Bern, C., Arrowood, M., Sulaiman, I., Zhou, L., Kawai, V., Vivar, A., Lal, A. A., & Gilman, R. H. (2002). Identification of the cryptosporidium pig genotype in a human patient. *The Journal of Infectious Diseases*, 185(12), 1846–1848. <https://doi.org/10.1086/340841>

- Xiao, L., & Fayer, R. (2008). Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *International Journal for Parasitology*, 38(11), 1239–1255. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.006>
- Xiao, L., Sulaiman, I. M., Ryan, U. M., Zhou, L., Atwill, E. R., Tischler, M. L., Zhang, X., Fayer, R., & Lal, A. A. (2002). Host adaptation and host–parasite co-evolution in *Cryptosporidium*: Implications for taxonomy and public health. *International Journal for Parasitology*, 32(14), 1773–1785. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(02\)00197-2](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(02)00197-2)
- Yalda Lucero, A. (2014). Etiología y manejo de la gastroenteritis aguda infecciosa en niños y adultos. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 25(3), 463–472. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(14\)70063-X](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(14)70063-X)
- Yimming, B., Pattanatanang, K., Sanyathitiseree, P., Inpankaew, T., Kamyngkird, K., Pinyopanuwat, N., Chimnoi, W., & Phasuk, J. (2016). Molecular identification of *Cryptosporidium* species from pet snakes in Thailand. *The Korean Journal of Parasitology*, 54(4), 423–429. <https://doi.org/10.3347%2Fkjp.2016.54.4.423>
- Yoder, J. S., Beach, M. J. (2010). *Cryptosporidium* surveillance and risk factors in the United States. *Experimental Parasitology*, 124(1), 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.09.020>
- Zahedi, A., Paparini, A., Jian, F., Robertson, I., & Ryan, U. (2016). Public health significance of zoonotic *Cryptosporidium* species in wildlife: Critical insights into better drinking water management. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 5(1), 88–109. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.12.001>
- Zhang, Q., Li, J., Li, Z., Xu, C., Hou, M., & Qi, M. (2020). Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. in alpacas (*Vicugna pacos*) in China. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 12, 181–184. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2020.06.007>