



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**CAUSAS DE DIARREA NEONATAL Y MORTALIDAD DE
TERNEROS EN TAMBOS DE URUGUAY,
CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES Y SUBTIPOS
ZONÓTICOS DE *CRYPTOSPORIDIUM* Y ESTIMACIÓN DE
PÉRDIDAS ECONÓMICAS NACIONALES POR MORTALIDAD
DE TERNERAS LECHERAS**

Rubén Darío Caffarena, Vet., MSc.

TESIS DE DOCTORADO EN SALUD ANIMAL

URUGUAY

2021



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**CAUSAS DE DIARREA NEONATAL Y MORTALIDAD DE
TERNEROS EN TAMBOS DE URUGUAY,
CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES Y SUBTIPOS
ZONÓTICOS DE *CRYPTOSPORIDIUM* Y ESTIMACIÓN DE
PÉRDIDAS ECONÓMICAS NACIONALES POR MORTALIDAD
DE TERNERAS LECHERAS**

Rubén Darío Caffarena, Vet., MSc.

Federico Giannitti
Director de Tesis

Franklin Riet-Correa
Co-director

2021

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE DEFENSA DE TESIS

Andrés Gil; DMV, MSc., PhD. (presidente)
Facultad de Veterinaria
Universidad de la República - Uruguay

Alejandro Larriestra; MV, MSc., PhD.
Facultad de Agronomía y Veterinaria
Universidad Nacional de Río Cuarto – Argentina

Pablo Díaz Fernández; MV, PhD.
Facultad de Veterinaria
Universidad de Santiago de Compostela - España



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
1987

ACTA DE TESIS DE DOCTORADO

ORIENTACIÓN: SALUD ANIMAL

LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA: PLATAFORMA TEAMS, 24/09/2021

TRIBUNAL: ANDRÉS GIL, ALEJANDRO LARRIESTA, PABLO DÍAZ

DOCUMENTO	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
6137910 - 9	RUBEN DARIO CAFFARENA	S.S.S.	12

TRIBUNAL

FIRMA

Alejandro Larriesta

Pablo Díaz

Andrés D. Gil

Informe del Tribunal

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a cada una de las personas que me acompañó de una u otra manera durante todo el proceso del doctorado.

Primero y principal a mis amores, Mariana y Fausto, que “hicieron” el doctorado junto conmigo.

A mis padres y hermano.

A mi familia política.

A los amigos.

Al grupo de la UNESP de Araçatuba, Brasil; principalmente a Marcelo Meireles y Bruna Nicoleti.

A Eduardo Ponssa (UNICEN, Argentina), Jorge Artagaveytia (INALE, Uruguay), Fernando Sotelo (MU, Uruguay), Santiago Fariña y Alejandro Mendoza (INIA LE, Uruguay).

A todos lo que colaboraron con la escritura y publicación de los artículos.

A todo el grupo de la Plataforma de Salud Animal de INIA.

A todos los productores, encargados, operarios y veterinarios que colaboraron en este trabajo.

A INIA y la ANII por la financiación de los proyectos y su sistema de becas.

Al programa de posgrado de FVet – Udelar.

Al tribunal de la tesis.

Y un agradecimiento especial (más allá de lo académico-profesional) para mi tutor y co-tutor, Federico Giannitti y Franklin Riet-Correa...gracias por sus palabras postdefensa.

Gracias a todos.

ÍNDICE

RESUMEN	v
SUMMARY	vii
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
HIPÓTESIS	6
OBJETIVOS	6
Objetivo general	6
Objetivos específicos	6
ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACIÓN	7
Capítulo I: Causas del síndrome de diarrea neonatal y mortalidad en terneros lecheros de tambos en Uruguay:	7
Capítulo II: Caracterización de especies y subtipos de <i>Cryptosporidium</i> y distancias entre las crianzas con terneros infectados y los cursos de agua superficiales y puntos de toma de agua superficiales de plantas potabilizadoras:	7
Capítulo III: Estimación de las pérdidas económicas debidas a mortalidad de terneras lecheras durante el período de crianza para el sector primario de Uruguay:	8
INVESTIGACIÓN	9
Capítulo I: Causas de diarrea neonatal y mortalidad en terneros lecheros de tambos en Uruguay	9
Resumen	9
Introducción	9
Materiales y Métodos	12
Diseño del estudio	12
Muestras recolectadas	13
Recopilación de datos (cuestionario).....	13
Detección de patógenos en heces	13
Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la detección de coproantígenos de rotavirus, coronavirus bovino, <i>Cryptosporidium</i> spp. y <i>Escherichia coli</i> F5+.....	13
Cultivo y serotipificación de <i>Salmonella enterica</i>	13
RT-PCR para astrovirus bovino	14
Detección del virus de la diarrea viral bovina en sangre o suero	14
Evaluación de la transferencia de inmunidad pasiva en terneros neonatos	14
Datos y análisis estadísticos	15
Resultados	17
Detección de patógenos	18
Asociación entre patógenos, diarrea y muerte previa al desleche	21
Patógenos y la presencia de fibrina o moco en las heces	23

Transferencia de inmunidad pasiva, diarrea, patógenos y muerte previa al desleche	23
Patógenos y riesgo de muerte previo al desleche en terneros diarreicos.....	24
Discusión	24
Conclusiones	32
Capítulo II: Los terneros lecheros en Uruguay son reservorios de subtipos zoonóticos de <i>Cryptosporidium parvum</i> y presentan un riesgo potencial de contaminación de las aguas superficiales.....	34
Resumen	34
Introducción.....	35
Materiales y métodos	37
Muestras y establecimientos.....	37
Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación para la especiación y subtipificación de <i>Cryptosporidium</i>	38
Análisis estadístico	39
Evaluación de la ubicación y la distancia entre las crianzas con terneros infectados, cursos de agua superficiales naturales y plantas de potabilización de aguas superficiales localizadas aguas abajo	39
Resultados	40
Identificación de especies y subtipos de <i>Cryptosporidium</i>	40
Subtipos de <i>Cryptosporidium parvum</i> y diarrea en terneros	42
Subtipos de <i>Cryptosporidium parvum</i> y análisis geoespacial	44
Ubicación y distancia entre crianzas con terneros infectados por <i>Cryptosporidium parvum</i> , los cursos de agua naturales y las plantas de potabilización de aguas superficiales localizadas aguas abajo.....	47
Información adicional de los establecimientos y áreas de crianza de terneros.	53
Discusión	53
Conclusiones	61
Capítulo III: Estimación de las pérdidas económicas debidas a mortalidad de terneras lecheras	62
Resumen	62
Introducción.....	62
Materiales y Métodos	64
Diseño del modelo y supuestos	64
Datos de entrada	66
Datos de entrada genéricos (precios, instalaciones y equipos).....	66
Datos de entrada específicos por etapas	67
Resultados	93
Periodo de cría y recria.....	93
Periodos de lactancias y vacas secas	94
Impacto relativo de la mortalidad de terneras en la crianza	102
Impacto de la mortalidad de la crianza sobre el sector primario nacional ..	103
Discusión	104
Conclusiones	107

CONCLUSIONES GENERALES	108
REFERENCIAS	109
ANEXOS	133
ANEXO 1:.....	133
ANEXO 2:.....	155
ANEXO 3.....	158
Publicación I.....	158
Publicación II.....	159

RESUMEN

Los objetivos de esta tesis fueron: 1) identificar enfermedades infecciosas/protozoarias de terneras/os lecheras/os asociadas al síndrome de diarrea neonatal, a falla en la transferencia pasiva de inmunidad (FTPI) y a mortalidad en rodeos comerciales, 2) caracterizar especies y subtipos de *Cryptosporidium* detectados en terneras/os neonatas/os de tambos del país para y determinar su eventual potencial zoonótico y su distancia con fuentes de aguas superficiales colectadas por plantas potabilizadoras de agua para consumo humano y 3) estimar las pérdidas económicas nacionales debidas a mortalidad de terneras lecheras durante el período de crianza para el sector primario en Uruguay. Para el primer objetivo se realizó un estudio de casos y controles de terneros diarreicos (n = 264) y no diarreicos (n = 271) de hasta 30 días de edad de 27 establecimientos. Las heces se analizaron mediante un ELISA de captura de antígeno para *Cryptosporidium* spp., rotavirus, coronavirus bovino y *Escherichia coli* F5+, y mediante cultivo selectivo para *Salmonella enterica*. La sangre/suero se analizó por RT-PCR o ELISA para detección del virus de la diarrea viral bovina. El suero de terneros de ≤ 8 días (n = 95) se evaluó mediante refractometría para determinar la concentración de proteínas totales en suero (PTS). Mediante un cuestionario se registró si los terneros muestreados murieron antes del desleche (período de crianza). *Cryptosporidium* spp. y rotavirus fueron los únicos patógenos que se asociaron estadísticamente con diarrea. Los terneros diarreicos, los terneros infectados con cualquiera de los patógenos y los terneros infectados con rotavirus tuvieron concentraciones significativamente más bajas de PTS, sugiriendo una FTPI. Los terneros diarreicos tuvieron mayor probabilidad de morir antes del desleche que los no diarreicos. Los terneros diarreicos infectados con *S. enterica* también tuvieron mayor probabilidad de morir. Para el segundo objetivo se seleccionaron heces de 255 terneros (170 diarreicos y 85 no diarreicos) que habían resultado positivas para *Cryptosporidium* spp. por ELISA de antígeno, y se procesaron mediante PCRs anidadas dirigidas a los genes 18S rRNA y gp60, seguidas de secuenciación para identificar los subtipos de *C. parvum*. En 166 muestras se detectaron 7 subtipos de *C. parvum* de los cuales 5 son zoonóticos. El subtipo IIaA15G2R1 fue el más frecuente (53,6%; 89/166), seguido por IIaA20G1R1 (24,1%; 40/166), IIaA22G1R1 (11,4%; 19/166), IIaA23G1R1 (3,6%; 6/166), IIaA17G2R1 (3%; 5/166), IIaA21G1R1 (2,4%; 4/166) e IIaA16G1R1 (1,8%; 3/166). No hubo diferencias significativas en las proporciones de terneros diarreicos y no diarreicos infectados con ninguno de los subtipos. Se detectaron dos conglomerados espaciales, uno de los cuales se superpuso con Montevideo y la principal planta de potabilización de agua (Aguas Corrientes) que abastece esta ciudad a partir del río Santa Lucía. Los terneros infectados en todos los establecimientos se encontraban dentro de los 20 – 900 m de un curso de agua superficial natural que drenaba los campos, 10 de los cuales fluían hacia seis plantas de potabilización de agua ubicadas entre 9 y 108 km aguas abajo. Cuatro de estos cursos de agua fluían río abajo hacia Aguas Corrientes. Para el tercer objetivo se desarrolló un modelo bioeconómico en Excel para simular la vida productiva de una hembra lechera bajo las condiciones de manejo y alimentación promedio de los establecimientos lecheros uruguayos. El costo total de criar una ternera desde el nacimiento hasta el desleche a los 75 días de vida fue de US\$ 129,74 (US\$ 1,77 ternera/día) y desde el nacimiento hasta el primer parto a los 33 meses de vida de US\$ 589,89 (US\$ 0,58/día), siendo los costos de alimentación y de mano de obra los principales contribuyentes al costo total durante estos períodos. La edad al repago de 52,7 meses de vida. El lucro cesante (costo de oportunidad) de una ternera que

muere durante la etapa de crianza fue, en promedio, de US\$ 2678,6, estimándose una pérdida de US\$ 64.382.829 a nivel del sector primario en los años 2014 – 2020. Las diarreas neonatales infecciosas/protozoarias y la FTPI se asocian a morbimortalidad. Los terneros lecheros son reservorios de enteropatógenos zoonóticos y representan una potencial vía de contaminación de cursos de agua superficial captada por plantas potabilizadoras de agua para consumo humano y la mortalidad de terneras en la crianza causa pérdidas económicas multimillonarias para el sector primario en Uruguay.

Palabras claves: diarrea – mortalidad neonatal – falla en la transferencia pasiva de inmunidad – subtipos de *Cryptosporidium* – aguas superficiales – lucro cesante – costos – crianza de terneros.

SUMMARY

The objectives of this thesis were to: 1) identify infectious diseases of dairy calves associated with neonatal diarrhea syndrome, failure of passive transfer of immunity (FPTI) and mortality in commercial dairy herds, 2) characterize *Cryptosporidium* species and subtypes detected in neonatal calves to determine their eventual zoonotic potential and the risk of contamination of surface water and 3) estimate the national economic losses to the primary sector due to mortality of dairy heifer calves during the rearing period in Uruguay. For the first objective, a case-control study of diarrheic (n = 264) and non-diarrheic (n = 271) calves up to 30 days of age from 27 farms was conducted. The feces were analyzed by an antigen capture ELISA for the detection of *Cryptosporidium* spp., rotavirus, bovine coronavirus and *Escherichia coli* F5+, and selective bacterial cultures for *Salmonella enterica*. The blood/serum was tested by RT-PCR or ELISA for bovine viral diarrhea virus. The serum of calves ≤ 8 days (n = 95) was evaluated by refractometry to determine the concentration of total proteins in serum (TPS). Whether the sampled calves died before weaning (rearing period) was recorded through a questionnaire. *Cryptosporidium* spp. and rotavirus were the only pathogens that were statistically associated with diarrhea. Diarrheic calves, calves infected with any of the pathogens and calves infected with rotavirus had significantly lower concentrations of TPS, suggestive of FPTI. Diarrheic calves were more likely to die before weaning than non-diarrheic ones. Diarrheic calves infected with *Salmonella enterica* were also at increased risk of mortality. For the second objective, feces from 255 (170 diarrheic and 85 non-diarrheic) calves that had tested positive for *Cryptosporidium* spp. by antigen ELISA were processed using nested PCRs targeting the 18S rRNA and gp60 genes, followed by sequencing to identify *C. parvum* subtypes. In 166 calves 7 subtypes of *C. parvum* were detected, 5 of which are zoonotic. The IIAA15G2R1 subtype was the most frequent (53.6%, 89/166), followed by IIAA20G1R1 (24.1%, 40/166), IIAA22G1R1 (11.4%, 19/166), IIAA23G1R1 (3.6%; 6/166), IIAA17G2R1 (3%, 5/166), IIAA21G1R1 (2.4%, 4/166) and IIAA16G1R1 (1.8%, 3/166). There were no significant differences in the proportions of diarrheic and non-diarrheic calves infected with any subtype. Two spatial clusters were detected, one of which overlapped with Montevideo and the main water treatment plant (Aguas Corrientes) that provides drinking water to this city. The infected calves in all farms were within 20 - 900 m of a natural surface watercourse that drained the farmlands, 10 of which flowed to 6 water potabilization plants located between 9 and 108 km downstream. Four of these watercourses flowed downstream into Aguas Corrientes. For the third objective, a bioeconomic model was developed to simulate the productive life of a dairy female under the average feeding and management conditions of Uruguayan dairy farms. The total cost of raising a calf from birth to weaning at 75 days of age was US\$ 129.74 (US\$ 1.77/day) and from birth to first calving at 33 months of age was US\$ 589.89 (US\$ 0.58/day). Feeding and labor costs were the main contributors to the total cost during these periods. The repayment age was 52.7 months. Infectious/protozoal agents and FPTI are associated with morbimortality in the rearing period. Dairy calves are reservoirs of zoonotic enteric pathogens and pose a potential risk of contamination of surface water that is captured by water potabilization plants for human consumption. Dairy heifer calf mortality causes multimillionaire economic losses for the primary sector in Uruguay. The average loss of earnings of a heifer calf that dies during the rearing period was US\$ 2,678.6, estimating a national loss of US\$ 64,382,829 for the primary sector from 2014 to 2020.

Key words: diarrhea – neonatal mortality – failure of passive transfer - *Cryptosporidium* subtypes - surface waters - profit loss - costs – calf rearing.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

La actividad lechera en Uruguay representa un importante eslabón productivo. Su alcance traspasa los aspectos socioeconómicos, implicado miles de puestos de trabajo y sustento para las familias uruguayas (MGAP-DIEA, 2019). Debido a la pandemia en curso ocasionada por el SARS-CoV-2 (COVID-19), los mercados mundiales han sufrido abruptas caídas, debiendo los países tomar medidas para adaptarse, pese a la incertidumbre de la efectividad de las mismas, para mitigar el impacto en su economía. Sin embargo, potencias mundiales productoras de leche como Estados Unidos e India son los dos epicentros de la crisis lechera mundial (IFCN, 2020). Esto se presenta como una oportunidad para otros países productores de alimentos, como Uruguay, donde por ahora la situación socioeconómica se ha mantenido más estable que otros países del mundo y la región (Capurro et al., 2020).

En Uruguay, las existencias nacionales de ganado lechero no han evidenciado un crecimiento significativo en las últimas décadas (MGAP-DIEA, 2019), posiblemente debido a combinaciones de altas tasas de descarte y/o mortalidad, baja eficiencia reproductiva e insuficiente reposición de terneras/vaquillonas, entre otras causas. Una encuesta de representatividad nacional realizada por el Instituto Nacional de la Leche (INALE) estimó que 30-55% de los productores lecheros no contaba con una cantidad de vaquillonas de reposición suficiente para mantener estable la cantidad de cabezas en su rodeo (INALE, 2014), valor similar al reportado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (United States Department of Agriculture, -USDA-) a principio de la década del 2000 (USDA, 2002). La mortalidad anual de terneros lecheros en la crianza fue investigada recientemente a nivel nacional por Schild et al. (2020), quienes realizaron un estudio retrospectivo del ciclo productivo 2013/2014, y estimaron que el 15,2% de los terneros lecheros nacidos en Uruguay murieron en los primeros 75 días de vida (mortalidad perinatal y en la crianza). Teniendo en cuenta información recopilada por el INALE en el año 2014, estos valores ascenderían a un número superior a los 24200 terneros (Jorge Artagaveytia, INALE, comunicación personal 2020). Valores de mortalidad similares fueron estimados en la encuesta nacional realizada por el INALE (2014), con 4,6% de mortalidad perinatal y 9,9% de mortalidad en las guacheras (Jorge Artagaveytia, INALE, comunicación personal 2020).

Múltiples factores pueden determinar la mortalidad de terneros lecheros, entre ellos, los más importantes son las enfermedades infectocontagiosas neonatales y los problemas asociados a la transferencia de la inmunidad pasiva (inadecuado calostrado). El principal problema clínico asociado a mortalidad en terneros lecheros mundialmente es el síndrome de diarrea neonatal (SDN), pudiendo representar más del 50% de las muertes de terneros (USDA, 2010). Schild et al. (2020) en su estudio de representatividad nacional, determinaron que la mayoría de los productores lecheros de Uruguay identificaba signos clínicos digestivos (principalmente diarrea), y en segundo lugar signos respiratorios, previo a la muerte de los terneros. El SDN es multietiológico y multifactorial, pudiendo ser causado por virus, bacterias y/o protozoos. Varias causas infecciosas y parasitarias del SDN en tambos de Uruguay han sido investigadas recientemente por la Plataforma de Investigación en Salud Animal (PSA) del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) La Estanzuela. Agentes tales como *Cryptosporidium* spp., rotavirus, coronavirus bovino, *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, entre otros, han sido identificados en un número importante de terneros diarreicos (Caffarena et al., 2016; Aráoz et al., 2017; Caffarena, 2017; Casaux, 2018; Castells et al., 2018; Casaux et al., 2019; Castells et al., 2019b). Estos trabajos abordan agentes etiológicos individuales o, a lo sumo, el estudio de dos de estos agentes (Caffarena, 2017), por lo que estudios que aporten información epidemiológicamente confiable y sólida, en donde se estudien conjuntamente múltiples agentes involucrados en el SDN y sus interacciones, así como también la falla en la transferencia pasiva de inmunidad (FTPI) y la mortalidad, son necesarios. Este es otro de los objetivos de la presente tesis.

Por otro lado, varios de los agentes involucrados tienen, además, importancia para la salud pública, dado que son zoonóticos. Entre estos agentes se encuentra el protozoo *Cryptosporidium parvum* (Xiao & Feng, 2008). Numerosos brotes de criptosporidiosis humana han ocurrido mundialmente por consumo de agua de red y alimentos contaminados (CDC, 2011; Helmy et al., 2014; Widerström et al., 2014), por exposición a aguas recreacionales (piscinas, lagos, entre otros), o por contacto directo con animales infectados (Smith et al., 2004; CDC, 2011; Hancock-Allen et al., 2017).

Caffarena (2017) realizó un estudio en 30 establecimientos lecheros comerciales de 7 departamentos de Uruguay que incluyó 556 terneros de menos de 30 días de vida. Dicho estudio reveló una amplia distribución y frecuencia de

infección por *Cryptosporidium* spp., abarcando 100% de los establecimientos y 48,2% de los animales evaluados, demostrando una amplia distribución de este patógeno en terneros lecheros. Además, se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la infección por este agente y la manifestación de diarrea neonatal en los terneros, particularmente en las primeras dos semanas de vida. La criptosporidiosis fue considerada entre las enfermedades humanas emergentes en Uruguay en la década de 1990 (Conti Diaz, 2001). *Cryptosporidium* spp. fue identificado por primera vez en el país como causante de diarrea aguda infantil en 1986 (Zanetta et al. 1987), y posteriormente se estimó que era responsable de 8,5 a 11% de los casos de dicha condición (Schelotto et al., 1991; Torres et al., 2001). La alta frecuencia de infección por *Cryptosporidium* spp. en terneros en Uruguay hace hipotetizar acerca del rol de los bovinos como reservorios de especies y subtipos zoonóticos, dado que algunos subtipos de *Cryptosporidium parvum* tienen el potencial de infectar al humano (Xiao & Fayer, 2008). A pesar de esto, en Uruguay se desconocía hasta el momento de realizar esta tesis cuáles eran las especies de *Cryptosporidium* que infectan a los bovinos y si los subtipos circulantes en los bovinos eran zoonóticos.

Los terneros son grandes amplificadores biológicos de este agente, siendo la principal fuente de infección hacia otros bovinos (Barrington et al., 2002), dado que eliminan una gran cantidad de ooquistes infectivos por gramo de materia fecal. Los ooquistes son extremadamente resistentes, siendo fuentes de infección para los humanos a través de aguas superficiales contaminadas (lagos, ríos), agua potable municipal (ya que los ooquistes son en gran medida resistentes a los procesos de potabilización convencionales), agua recreativa (piscinas, parques infantiles de agua), alimentos y ganado infectado (CDC, 2011; Widerström et al., 2014; Brankston et al., 2018). Realizar una caracterización molecular a nivel de especies y subtipos de *Cryptosporidium* de origen bovino y evaluar la distancia de las crianzas en donde se alojan los terneros infectados hacía los cursos de agua superficiales naturales, para analizar indirectamente su potencial de transmisión al humano, es de suma importancia para identificar un posible impacto sobre la salud pública. Este es otro de los objetivos de esta tesis.

A pesar de que las mortalidades reportadas en Uruguay son elevadas, no hay estimaciones precisas de su impacto para la economía nacional. Algunos trabajos de otros países han hecho estimaciones de las pérdidas económicas debidas a mortalidad de terneros a nivel de establecimientos (Kossaibati & Esslemont, 1997;

Razzaque et al., 2009). Sin embargo, no se dispone de bibliografía de Uruguay sobre esta temática, ya sea a nivel del rodeo nacional o de establecimientos. Estimar estas pérdidas a nivel del sector primario usando un modelo determinístico dinámico de simulación bioeconómica es el último de los objetivos de esta tesis.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El principal signo clínico asociado a mortalidad de terneros lecheros en Uruguay es la diarrea (Schild, 2017; Schild et al., 2020). En la cuenca suroeste y centro sur se han identificado algunas de las causas de enfermedad y muerte en terneros lecheros a nivel individual, pero esta información es escasa si se tiene en cuenta las características multietiológicas y multifactoriales del SDN. Este conocimiento es fundamental para la toma de decisiones e instauración de medidas de manejo, control y prevención.

Por otra parte, varias de las enfermedades que ocurren en los terneros son zoonosis, entre ellas la criptosporidiosis, que es causa diagnosticada de diarrea aguda en infantes de Uruguay. Conocer la presencia y frecuencia de especies y subtipos zoonóticos de *Cryptosporidium* y si existe el riesgo de contaminación de las aguas superficiales naturales es otro de los problemas a abordar en la presente tesis.

La cría y recría de bovinos lecheros debe ser eficiente para que los sistemas de producción lechera sean económicamente rentables. Si bien el conocimiento del costo de cría de terneras ha sido evaluado por varios autores en otras partes del mundo en los últimos 20 años (Gabler et al., 2000; Tozer & Heinrichs, 2001; Mohd Nor et al., 2012; Heinrichs et al., 2013; Boulton et al., 2017), los trabajos disponibles no abordan el lucro cesante, es decir cuánto se deja de ganar durante toda la vida productiva del animal, debido a pérdida de terneras por mortalidad en la etapa de crianza. En Uruguay, un 15,2% de los terneros (hembras y machos) paridos anualmente muere antes de los 75 días de vida (Schild et al., 2020), lo que representa un elevado número de animales, y a su vez presupone una elevada pérdida en términos económicos, que hasta la realización de esta tesis no había sido dimensionada. Estimar el impacto económico de estas muertes a nivel nacional es clave para tomar noción de su importancia y eventualmente evaluar el costo-beneficio para la implementación de estrategias de mitigación de estas muertes.

HIPÓTESIS

- Hay enfermedades infectocontagiosas causales de diarrea neonatal y factores relacionados que son responsables por mortalidad de terneras/os antes del desleche en rodeos lecheros comerciales del país.
- Las/os terneras/os lecheras/os son reservorios de subtipos zoonóticos de *Cryptosporidium parvum*, y representan un riesgo potencial de contaminación de aguas superficiales.
- La mortalidad de terneras lecheras resulta en importantes pérdidas económicas para el sector primario en Uruguay.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar múltiples etiologías de diarrea neonatal y fallas en el calostrado en asociación con morbimortalidad de terneros, estimar la frecuencia de especies y subtipos zoonóticos de *Cryptosporidium* y las distancias entre las cranzas y el curso de agua superficial más cercano y estimar las pérdidas económicas debidas a mortalidad de terneras lecheras en Uruguay (**sector primario**).

Objetivos específicos

- Identificar y describir enfermedades infectocontagiosas de terneras/os lecheras/os de Uruguay, asociadas al SDN, a FTPI y a mortalidad en rodeos comerciales (**Capítulo I**).
- Caracterizar especies y subtipos de *Cryptosporidium* detectados en terneras/os neonatas/os de tambos de Uruguay en 2016, para determinar su eventual potencial zoonótico y riesgo de contaminación de aguas superficiales (**Capítulo II**).
- Estimar las pérdidas económicas nacionales debidas a mortalidad de terneras lecheras durante el período de crianza, a nivel de la producción primaria en Uruguay (**Capítulo III**).

ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACIÓN

La presente tesis está dividida en 3 capítulos que abordan cada uno de los objetivos específicos.

Capítulo I: Causas del síndrome de diarrea neonatal y mortalidad en terneros lecheros de tambos en Uruguay:

Para el este objetivo específico se tomaron muestras de terneros diarreicos y no diarreicos de hasta un mes de vida de tambos comerciales que estaban experimentando brotes espontáneos del SDN, mediante un estudio de casos y controles apareados por establecimiento.

Los resultados de esta investigación se encuentran publicados en la revista “Brazilian Journal of Microbiology”, con la siguiente autoría y título:

Caffarena RD, Casaux ML, Schild CO, Fraga M, Castells M, Colina R, Maya L, Corbellini LG, Riet-Correa F, Giannitti F. (2021). Causes of neonatal calf diarrhea and mortality in pasture-based dairy herds in Uruguay: a farm-matched case-control study. *Braz. J. Microbiol.* | doi: 10.1007/s42770-021-00440-3.

Capítulo II: Caracterización de especies y subtipos de *Cryptosporidium* y distancias entre las crianzas con terneros infectados y los cursos de agua superficiales y puntos de toma de agua superficiales de plantas potabilizadoras:

Para el segundo objetivo específico, se usó un banco de muestras de materia fecal de terneros lecheros neonatos diarreicos y no diarreicos, de hasta 30 días de edad, recolectadas en 29 establecimientos en el año 2016, las cuales corresponden al Capítulo I de la presente tesis y al estudio de Caffarena (2017). Se utilizó la georreferenciación de los establecimientos, la elevación y pendiente del terreno, el mapa de cursos de agua naturales del Uruguay y la ubicación de las plantas de aguas potabilizadores para calcular las distancias, teniendo en cuenta la pendiente del terreno para el drenaje, mediante el uso de un software libre de información geográfica.

Los resultados de esta investigación se encuentran publicados en la revista “Frontiers in Veterinary Science”, sección “Parasitology” dentro del tópico de investigación “Neglected and Under-Researched Parasitic Diseases of Veterinary and Zoonotic Interest”:

Caffarena RD, Meireles MV, Carrasco-Letelier L, Picasso-Risso C, Santana BN, Riet-Correa F, Giannitti F. (2020). Dairy calves in Uruguay are reservoirs of zoonotic

subtypes of *Cryptosporidium parvum* and pose a potential risk of surface water contamination. Front. Vet. Sci. | doi: 10.3389/fvets.2020.0056

Capítulo III: Estimación de las pérdidas económicas debidas a mortalidad de terneras lecheras durante el período de crianza para el sector primario de Uruguay:

Para el tercer objetivo se desarrolló un modelo bioeconómico dinámico y determinístico que simula las diferentes etapas de una hembra lechera durante su vida útil. El modelo integra información proveniente de encuestas, datos nacionales y expertos en distintas áreas de la producción lechera, a fin de representar situaciones modales que permiten estimar el impacto productivo y económico de distintas variables, escenarios y situaciones a nivel de la producción primaria.

Esta modelación y estimación de pérdidas económicas se realizó en forma participativa con la colaboración de representantes de Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (Eduardo Ponssa Ing. Agr., MSc., UNCPBA, Argentina) y de técnicos especializados en sistemas de producción lecheros de INIA (Santiago Fariña Ing. Agr., PhD.; Alejandro Mendoza Ing. Agr., MSc., PhD.), INALE (Jorge Artagaveytia Ing. Agr.), el Instituto Nacional para el Mejoramiento Lechero (Fernando Sotelo Ing. Agr., MBA) (MU, Uruguay) y de la Cooperativa Nacional de Productores de Leche (CONAPROLE).

INVESTIGACIÓN

Capítulo I: Causas de diarrea neonatal y mortalidad en terneros lecheros de tambos en Uruguay

Resumen

El SDN y la mortalidad de terneros causan pérdidas significativas a la industria láctea. En Uruguay, la mortalidad de terneros de razas lecheras antes del destete es alta (15,2%); sin embargo, las causas de estas pérdidas son en gran medida desconocidas. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la asociación de varios patógenos con el SDN y/o muerte de terneros lecheros, y si estas infecciones, la diarrea o la muerte de los animales se asociaron con el fallo de la transferencia pasiva de inmunidad (FTPI). Se tomaron muestras de terneros contemporáneos diarreicos (n = 264) y no diarreicos (n = 271) de 1 a 30 días de edad de 27 tambos de 6 departamentos (San José, Río Negro, Colonia, Flores, Florida y Soriano) que estaban experimentando brotes espontáneos del SDN. Las heces se analizaron mediante un ELISA de captura de antígeno para *Cryptosporidium* spp., rotavirus, coronavirus bovino (BCoV) y *Escherichia coli* F5+, RT-PCR para astrovirus bovino (BoAstV) y cultivos bacterianos para *Salmonella enterica*. La sangre/suero se analizó por RT-PCR o ELISA de captura de antígeno para el virus de la diarrea viral bovina (BVDV). El suero de terneros de ≤ 8 días (n = 95) se evaluó mediante refractometría para determinar la concentración de proteínas totales en suero (PTS) como un indicador de FTPI. Mediante un cuestionario se registró si los terneros muestreados murieron antes del desleche (período de crianza). Se detectó al menos uno de los patógenos bajo estudio en el 65,4% de los terneros, este porcentaje fue significativamente mayor en los terneros diarreicos (83,7%) frente a los no diarreicos (47,6%). *Cryptosporidium* spp. y rotavirus fueron los únicos patógenos que se asociaron estadísticamente con diarrea. Los terneros diarreicos, los terneros infectados con cualquiera de los patógenos y los terneros infectados con rotavirus tuvieron concentraciones significativamente más bajas de PTS. Los terneros diarreicos tuvieron mayor probabilidad de morir antes del desleche que los no diarreicos, así como también la tuvieron los terneros diarreicos infectados con *S. enterica*. Controlar el SDN, la salmonelosis, la criptosporidiosis y las infecciones por rotavirus, y mejorar las prácticas de manejo del calostro ayudaría a reducir la morbilidad y mortalidad de los terneros en los tambos de Uruguay.

Introducción

La producción lechera en Uruguay es una actividad importante, tanto sociocultural como económicamente, siendo el país uno de los mayores consumidores per cápita de productos lácteos en América Latina (FAO-FEPALE, 2012), y exportando, aproximadamente, el 70% de la leche producida (MGAP-DIEA, 2019). Los sistemas de producción lechera uruguayos se basan principalmente en pasturas, representando estas el 75% de la dieta (Fariña & Chilibroste, 2019). De 1985 a 2016, la producción de leche creció linealmente a una tasa de 3,2%/año, pero con una reducción en el número de establecimientos y de la superficie asignada a la producción lechera. Este crecimiento se debió al aumento de las tasas de reposición, el aumento de la producción individual y de la relación vaca en ordeño:vaca seca (MGAP-DIEA, 2019), lo que indica un proceso de intensificación de los sistemas. Sin embargo, las existencias nacionales de ganado lechero no crecieron significativamente en la última década (MGAP-DIEA, 2019), lo que en parte se ha atribuido a la alta mortalidad anual de terneros lecheros (15,2%) a nivel nacional desde el nacimiento hasta el desleche (Schild et al., 2020). A pesar de esto, hay poca información disponible en la literatura científica sobre las causas de las enfermedades y la muerte de terneros lecheros en el país.

El SDN es la principal causa de morbilidad y mortalidad de terneros lecheros dentro del primer mes de vida (Urie et al., 2018; Schild et al., 2020). Los terneros afectados sufren de deshidratación, desequilibrios electrolíticos y acidosis metabólica que, si no se tratan precozmente, pueden provocar la muerte (Foster & Smith, 2009). Dentro de los efectos a largo plazo que ocasiona el SDN, se puede nombrar una menor ganancia de peso y desarrollo corporal, una mayor edad al primer parto y una menor producción de leche en la primera lactancia, lo que se traduce en pérdidas económicas significativas para el sector (Donovan et al., 1998; Heinrichs & Heinrichs, 2011). Siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad de terneros lecheros, el SDN impacta como indicador del bienestar de los terneros recién nacidos (Uetake, 2013) y en el uso excesivo de antibióticos con un potencial desarrollo de resistencia antimicrobiana (McEwen & Fedorka-Cray, 2002; Afema et al., 2019).

El SDN es un síndrome complejo y multifactorial, que puede ser causado por varios agentes infecciosos y parasitarios, incluidos virus (rotavirus, coronavirus bovino -BCoV- y el virus de la diarrea viral bovina -BVDV-), bacterias (*Escherichia coli* enterotoxigénica y enteropatógena/enterohemorrágica y *Salmonella enterica*) y

protozoos (*Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp.) (De La Fuente et al., 1998; Cho & Yoon, 2014; Uzal et al., 2016; Gomez & Weese, 2017), algunos de los cuales son zoonóticos. Aunque en condiciones de campo BVDV raramente causa diarrea en los terneros neonatos que reciben a través del calostro anticuerpos neutralizantes, sí existe una asociación con mortalidad perinatal y neonatal debido a infecciones congénitas (Taylor et al., 1997; Van Campen et al., 2000). Se sospecha que otros agentes que infectan terneros neonatales, como el astrovirus bovino (BoAstV), desempeñan un papel causal en el SDN, aunque los intentos de reproducir experimentalmente la diarrea en terneros gnotobióticos no han tenido éxito (Woode & Bridger, 1978), y la información disponible de los estudios de campo es limitada (Gómez & Weese, 2017).

El estudio de la causalidad en brotes espontáneos de enfermedades con etiologías multifactoriales es un desafío y requiere pruebas de laboratorio exhaustivas para varios patógenos. Los agentes que causan el SDN se pueden encontrar tanto en terneros diarreicos como no diarreicos, así como también durante el desarrollo de un brote es común encontrar coinfecciones por dos o más agentes causales (Uhde et al., 2008; Bartels et al., 2010; Cho et al., 2013); lo que dificulta la interpretación de los resultados de las pruebas individuales en este tipo de contextos clínicos.

Adicionalmente, el SDN se asocia con factores nutricionales y/o inmunológicos, como la falla en la transferencia de inmunidad pasiva (Cuttance et al., 2018; Donovan et al., 1998), y factores ambientales y de manejo que favorecen la transmisión de los agentes causales (Bartels et al., 2010) o aumentan la susceptibilidad de los terneros. La transferencia de la inmunidad pasiva es posiblemente el factor no infeccioso más importante que determina la salud y la supervivencia de los terneros neonatos (Godden et al., 2019). Los terneros con FTPI tienen un mayor riesgo de enfermar y morir (Robison et al., 1988; Cuttance et al., 2018), y una gran proporción de muertes de terneros de hasta 3 semanas de vida pueden atribuirse a FTPI (Wells et al., 1996; Urie et al., 2018).

Las investigaciones de brotes del SDN deben ser exhaustivas y considerar no solo los agentes etiológicos infecciosos y parasitarios en terneros afectados y no afectados, sino también los aspectos epidemiológicos y las prácticas de manejo, las cuales pueden variar mucho entre establecimientos (Waage et al., 2001). En este contexto, los estudios de casos y controles apareados por establecimiento representan diseños adecuados para la evaluación de posibles asociaciones entre

infección única y mixta y resultados clínicos, para comprender mejor el papel causal de los diferentes agentes y minimizar los factores de confusión. El SDN ha sido ampliamente estudiado a través de estudios transversales (Uhde et al., 2008; Bartels et al., 2010; Izzo et al., 2011; Abuelo et al., 2019) y, en menor medida, diseños de casos y controles (Busato et al., 1998; Pérez et al., 1998; Cho et al., 2013); aunque estos estudios de casos y controles no fueron pareados por establecimiento (teniendo en cuenta el establecimiento de origen de los terneros), lo que limita en cierta medida las conclusiones que se pueden extraer de ellos.

Debido a que las causas del SDN y de la mortalidad en los tambos uruguayos son en gran medida desconocidas, en este estudio nuestro objetivo fue evaluar la asociación de patógenos conocidos (*Cryptosporidium* spp., rotavirus, BCoV, *E. coli* F5+, *S. enterica*), putativos (BoAstV) y ocasionales (BVDV) de los terneros con diarrea y/o muerte; y si estas infecciones, la diarrea o muerte se asociaron con FTPI a través de un estudio de casos y controles apareados por establecimiento.

Materiales y Métodos

Diseño del estudio

Se realizó un estudio de casos y controles en 27 establecimientos lecheros comerciales pastoriles en seis departamentos uruguayos (San José, Río Negro, Colonia, Flores, Florida y Soriano), entre enero y noviembre de 2016. El muestreo fue por conveniencia en establecimientos que estaban experimentando brotes espontáneos del SDN. En todos los establecimientos, la raza Holstein era la única o predominante, mientras que en dos establecimientos había algunos animales cruce de Holstein-Jersey. Se tomaron muestras de terneros contemporáneos con diarrea (casos) y un número similar de terneros no diarreicos (controles) en cada establecimiento. Sólo se incluyeron terneros de 1 a 30 días de vida; los terneros controles estaban dentro de un rango de edad de 0 a 13 días de sus respectivos casos. En promedio, se muestrearon 19,8 terneros por establecimiento (rango: 13 – 29), con un total de 535 terneros. En general, el 49,3% (n = 264) de los terneros incluidos en el estudio tenían diarrea (casos) al momento del muestreo, y el 50,7% restante (n = 271) no tenía diarrea y no tenía antecedentes de diarrea (controles). La relación casos:controles fue 1:1,03. El tamaño de la muestra se calculó utilizando una calculadora epidemiológica en línea (Sergeant, 2018), considerando un poder del 80% para detectar una asociación entre la diarrea y un agente infeccioso o

parasitario determinado, un porcentaje de controles expuestos del 5% y una razón de chances (OR: odds ratio) de 2,5 con un nivel de confianza del 95%.

Muestras recolectadas

Se recolectaron muestras individuales de heces, sangre entera y suero de cada ternero, las mismas fueron recolectadas por veterinarios siguiendo procedimientos aprobados por el comité de ética animal del INIA para el uso de animales en experimentación (protocolo #20199). Se recogieron muestras de materia fecal directamente del recto usando recipientes y guantes estériles individuales (uno por animal). Se asignó una puntuación fecal (escala en grados) a cada muestra (McGuirk, 2008), y en función de esta los animales se clasificaron como no diarreicos (controles; puntuación fecal ≤ 1) o diarreicos (casos; puntuación fecal ≥ 2). Además, las muestras de materia fecal se evaluaron macroscópicamente para detectar la presencia de fibrina y/o moco. Se extrajeron muestras de sangre mediante venopunción yugular utilizando agujas y jeringas estériles individuales y se recogieron en tubos secos para suero y tubos heparinizados (BD Vacutainer, Franklin, NJ) para sangre entera.

Recopilación de datos (cuestionario)

Al final del período de crianza de los terneros en cada uno de los 27 predios, se realizó un cuestionario a los productores y/o asesores para evaluar si los terneros muestreados en este estudio habían muerto dentro del período de cría (antes del desleche), hasta los 60 días de edad (tiempo de seguimiento) y la edad en días de la muerte, cuando esta información estaba disponible (Anexo 1).

Detección de patógenos en heces

Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) para la detección de coproantígenos de rotavirus, coronavirus bovino, *Cryptosporidium* spp. y *Escherichia coli* F5+

Se usó un kit comercial de ELISA de captura de antígenos basado en anticuerpos monoclonales (Pathasure Enteritis 4, Biovet Inc., St-Hyacinthe, Canadá) para detectar antígenos de *Cryptosporidium* spp., rotavirus, BCoV y *E. coli* F5+ (K99+) en heces frescas de los 535 terneros (Glover et al., 2013), dentro de las 72 horas desde su recolección, siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Cultivo y serotipificación de *Salmonella enterica*

Las 535 muestras fecales se cultivaron aeróbicamente en caldo de tetrionato (Oxoid, código CM0671) durante 24 – 48 horas a 37°C (caldo de enriquecimiento selectivo) después de lo cual se colocaron 100 µl de caldo agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD) (Oxoid, código CM0469). Se seleccionaron colonias sospechosas y se realizaron pruebas bioquímicas de rutina para la identificación de *S. enterica*, como se describió anteriormente (Octavia y Lan, 2014). La serotipificación de *S. enterica* aisladas se realizó siguiendo el esquema de clasificación Kauffman-White-Le Minor (Grimont & Weill, 2007) en el servicio de bacteriología del Instituto de Higiene de la Facultad de Medicina de la Universidad de la República, en Montevideo.

RT-PCR para astrovirus bovino

Un total de 396 muestras fecales se diluyeron 1:10 (v:v) en solución salina tamponada con fosfato, y se centrifugaron a 3000 g a 4°C durante 20 min. Se recogieron los sobrenadantes y se almacenaron en un freezer a -80°C. El ARN viral se extrajo usando el kit QIAamp cadór Pathogen Mini (Qiagen) con un volumen de elución de 50 µL. La transcripción reversa (RT) se realizó con “RevertAid Reverse Transcriptase” (ThermoFisher, Scientific) y cebadores hexaméricos aleatorios (Qiagen) para obtener ADN copia (ADNc) que se almacenó a -20°C. La PCR para BoAstV se realizó usando MangoMix (Bioline) y los cebadores BoAstV-F y BoAstV-R que amplifican un fragmento de 432 nucleótidos del gen de la polimerasa de BoAstV, como se describe en Tse et al., 2011. Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 2%. Los resultados se expresaron como positivos o negativos.

Detección del virus de la diarrea viral bovina en sangre o suero

Las muestras congeladas de suero (n = 418) o de sangre entera (n = 62) se procesaron para la detección de BVDV, ya sea mediante un ELISA de captura de antígeno comercial (BVDV Ag/Serum Plus Test, IDEXX, Suiza) (136 muestras de suero y 62 de sangre entera) o por RT-PCR (282 muestras de suero). La RT-PCR se realizó como se describió previamente por Maya et al. (2016).

Evaluación de la transferencia de inmunidad pasiva en terneros neonatos

Las muestras de suero de todos los terneros que tenían ≤ 8 días de edad al momento del muestreo (n = 95) se analizaron para determinar los sólidos totales en suero utilizando un refractómetro óptico (ATAGO PAL-1, Tokio, Japón), como un

indicador de la concentración de proteínas totales en suero (g/dl). Se consideró un valor de corte de $< 5,6$ g/dl para determinar FTPI, como se describió previamente (Buczinski et al., 2018). Además, los resultados se clasificaron para reflejar terneros con una transferencia deficiente ($< 5,1$ g/dl), regular ($5,1 - 5,7$ g/dl), buena ($5,8 - 6,1$ g/dl) o excelente ($> 6,2$ g / dl) de la inmunidad pasiva como lo sugieren Godden et al. (2019).

Datos y análisis estadísticos

Todos los datos de cada ternero muestreado, incluida la edad al muestreo, el establecimiento de origen, la manifestación o no de diarrea, la presencia o ausencia de fibrina y/o moco en las heces, todos los resultados de las pruebas de laboratorio (detección de patógenos, concentración de PTS) y la información del cuestionario referida a si los terneros murieron o sobrevivieron durante el período previo al desleche (tiempo de seguimiento), se ingresó en una base de datos digital (Microsoft Excel 2013) utilizada como plantilla para análisis estadísticos (Anexo 1).

Se calcularon estadísticas descriptivas de los datos en bruto, incluidas las proporciones, las medias y las desviaciones estándar (DE, para datos con distribución normal), mediana y rango intercuartílico (RIC, para datos sin distribución normal). Las diferencias entre las proporciones de terneros diarreicos según la semana de vida, entre las proporciones de terneros diarreicos y no diarreicos que dieron positivo al menos a uno de los patógenos y a ≥ 2 patógenos, y las proporciones de terneros diarreicos y no diarreicos que murieron antes el desleche fueron evaluados por chi-cuadrado.

Las diferencias en las concentraciones de PTS (g/dl) en terneros diarreicos versus no diarreicos, así como en terneros que dieron positivo o negativo para alguno/s de los patógenos, se evaluaron mediante análisis de varianza utilizando el procedimiento PROC MIXED de programa SAS (University Edition, SAS Institute Inc. Cary, NC, USA), controlando por el establecimiento como un efecto aleatorio. Los resultados se expresaron en medias de mínimos cuadrados (MMC) con los errores estándar de las medias (EEM).

Se realizó un modelo de regresión logística para evaluar el efecto de los patógenos sobre la diarrea. El modelo tuvo en cuenta la estructura del diseño del muestreo en el que los terneros diarreicos (casos) se combinaron con los terneros controles dentro de un establecimiento. Se realizó un modelo (análisis) estadístico multivariado que incluyó todos los patógenos que se analizaron en el 100% de los

terneros muestreados (*Cryptosporidium* spp., rotavirus, BCoV, *E. coli* F5+ y *S. enterica*); la eliminación regresiva comenzó con el modelo completo, incluidos todos los patógenos mencionados, y cada variable se excluyó en función del valor p hasta que el modelo contuvo sólo variables significativas ($p < 0,05$) (Dohoo et al., 2003). La variable “edad” agrupada en semanas (1, 2, 3 y > 3) se incluyó en el modelo para ajustar el OR. Se evaluó la interacción entre los patógenos para evaluar los efectos de las coinfecciones. El modelo se realizó utilizando el procedimiento PROC LOGISTIC de SAS Studio incluyendo el establecimiento como estrato; el ajuste del modelo fue verificado por el criterio de información de Akaike (AIC) y r^2 (Cuttance et al., 2018; Symonds & Moussalli, 2011). Se utilizó el mismo software para realizar el análisis de multicolinealidad (COLLIN), factor de inflación de varianza (VIF) y tolerancia (TOL) con los procedimientos PROC CORR y PROC REG y las declaraciones COLLIN, VIF y TOL, respectivamente (Schreiber-Gregory & Jackson, 2017). Se hizo la misma estructura de modelo para verificar el efecto de BVDV y BoAstV por separado, ya que estos patógenos no se testearon en todos los terneros y, por lo tanto, presentaron una proporción de valores faltantes.

Se realizó un modelo de ecuaciones de estimación generalizadas para evaluar el efecto de la concentración de PTS en la manifestación de diarrea y en la detección de rotavirus, BCoV y *E. coli* F5+ ajustada por la edad de los terneros en días. Esta hipótesis fue evaluada porque la vacunación contra estos patógenos es una práctica común en los establecimientos lecheros uruguayos. Se eligió este modelo porque la evaluación de la concentración de PTS se realizó en una muestra de subgrupos de terneros de ≤ 8 días de edad, lo que determinó que se perdiera el apareamiento de los terneros dentro de los establecimientos. Para este modelo, los valores de concentración de PTS $< 5,6$ g/dl se clasificaron como bajos y compatibles con FTPI, mientras que los valores $\geq 5,6$ g/dl se consideraron altos, como se describió anteriormente (Buczinski et al., 2018). Este modelo se realizó utilizando el procedimiento PROC GENMOD de SAS Studio con medidas repetidas dentro de los establecimientos, utilizando el enunciado REPEATED SUBJECT y distribución binomial.

También se empleó un modelo de ecuaciones de estimación generalizadas para evaluar la asociación entre la presencia de fibrina o moco en las heces (variables de respuesta) y los patógenos (variables explicativas) ajustadas por edad de las terneras en semanas. Para estos análisis, se realizó un modelo completo para cada una de las variables de respuesta, incluyendo *Cryptosporidium* spp., rotavirus,

B CoV , *E. coli* F5+ y *S. enterica*, y se evaluó la multicolinealidad como se describió anteriormente. Cada patógeno (variable explicativa) se excluyó en función del valor p hasta que el modelo contenía solo variables significativas ($p < 0,05$). El ajuste del modelo fue verificado por el criterio de cuasi-verosimilitud (QIC). BoAstV y BVDV no se incluyeron debido a que no habían sido evaluados en todos los terneros, y por lo tanto había datos faltantes.

Finalmente, también evaluamos el riesgo de muerte entre terneros diarreicos infectados con *S. enterica*, rotavirus y *Cryptosporidium* spp. ajustado por edad en días usando la misma estructura de modelo multivariante descrita anteriormente, pero incluyendo una distribución de Poisson en lugar de la distribución binomial. Se eligió la distribución de Poisson porque estima el riesgo (Martínez et al., 2017) que en este caso significa la probabilidad de muerte. B CoV , BoAstV, BVDV y *E. coli* F5+ no se incluyeron porque sólo había uno (B CoV , BVDV y *E. coli* F5+) o muy pocos (BoAstV) terneros diarreicos infectados con estos agentes. Para esto, se utilizaron datos de todos los terneros diarreicos para los que estaban disponibles las respuestas del cuestionario (118 terneros). Estos terneros fueron seguidos hasta el final del período de destete. La selección de variables (proceso regresivo) y el ajuste del modelo se realizaron como se describió anteriormente.

Se consideró un nivel de significancia (alfa) del 5% ($p < 0,05$) para todos los análisis estadísticos.

Resultados

Al momento del muestreo, los terneros tenían una mediana de 11 días de vida (RIC = 9), con un rango de 1 a 30 días [terneros no diarreicos = 12 (RIC = 14), terneros diarreicos = 11 (RIC = 5)]. La proporción de terneros diarreicos fue del 39,9% (61/153) en la primera semana de vida, 71,8% (158/220) en la segunda, 28,9% (33/114) en la tercera y 25,0% (12/48) después de la tercera semana de vida. La proporción de terneros diarreicos fue significativamente mayor en la segunda semana de vida ($p < 0,001$). Se observó fibrina o moco en las heces de 8,1% (21/259) y 47,1% (122/259) de los terneros diarreicos y del 2,6% (7/266) y 32,3% (86/266) de los no diarreicos, respectivamente.

El cuestionario se completó para 241 terneros (118 casos y 123 controles), 19,9% (48/241) de los cuales habían muerto antes del desleche a los 5 – 37 días de edad (mediana de edad al morir: 16, RIC = 13). El 80,1% (193/241) de los terneros restantes sobrevivieron después del desleche (> 60 días de edad). Treinta y un

(64,6%) terneros que murieron antes del desleche eran diarreicos, y el 35,4% (17/48) eran no diarreicos al momento del muestreo. De los 193 terneros que sobrevivieron después del desleche, 45,0% (87/193) eran diarreicos, y el 55,0% (106/193) restante eran no diarreicos al momento del muestreo. La proporción de terneros que murieron antes del desleche fue significativamente mayor en los terneros diarreicos que en los no diarreicos ($p < 0,02$). Los resultados individuales para cada ternero en cada establecimiento se muestran en el Anexo 1.

Detección de patógenos

Se detectó al menos uno de los patógenos en el 65,4% (350/535) de los terneros, este porcentaje fue significativamente mayor en los terneros diarreicos (83,7%, 221/264) que en los no diarreicos (47,6%, 129/271) ($p < 0,001$). En el 34,6% (185/535) de los terneros no se detectaron agentes, siendo el 76,8% (142/185) de ellos no diarreicos y el 23,2% restante (43/185) diarreicos. Se identificaron patógenos individuales y coinfecciones en 231/535 (43,2%) y 119/535 (22,2%) terneros, respectivamente. Las frecuencias de detección de cada patógeno individualmente y en coinfecciones se muestran en las Tablas 1–2 y en el Anexo 1. *Cryptosporidium* spp., BoAstV y rotavirus fueron los agentes detectados con mayor frecuencia, tanto a nivel animal como de establecimiento (Tabla 1). *Cryptosporidium* spp. y rotavirus se detectaron con una frecuencia significativamente más alta en terneros diarreicos, en contraste con BoAstV, que como infección única, tuvo una frecuencia significativamente más alta en terneros no diarreicos. La proporción de terneros diarreicos infectados con un patógeno fue del 59,3% (137/231). En los 119 terneros con coinfecciones (de los cuales 84 eran casos y 35 controles), se identificaron dos (89,1%, 106/119) o tres (10,9%, 13/119) patógenos. El 69,8% (74/106) de los animales coinfectados con dos agentes patógenos eran diarreicos, mientras que el restante 30,2% (32/106) eran no diarreicos. De los terneros coinfectados con tres patógenos, el 76,9% (10/13) eran diarreicos. La proporción de terneros diarreicos coinfectados con ≥ 2 patógenos fue del 70,6% (84/119). Todos los patógenos evaluados se detectaron tanto en terneros diarreicos como no diarreicos. Todas las cepas de *Salmonella* aisladas fueron *S. enterica* subespecie *enterica* serotipo Typhimurium, excepto dos aislamientos de un mismo establecimiento que fueron serotipo Anatum.

Tabla 1. Frecuencia general de detección de patógenos en terneros lecheros diarreicos y no diarreicos de 27 predios (n = 535).

Pruebas (tipo de muestra y número total analizado)	Número de muestras analizadas de terneros diarreicos y no diarreicos	Terneros positivos (%)	Terneros positivos entre diarreicos (%)	Terneros positivos entre no diarreicos (%)	Número de predios con ≥ 1 animal positivo / Número total de predios (%)
<i>Cryptosporidium</i> spp. ELISA (heces, 535)	264 y 271	256/535 (47,8%)	183/264 (69,3%)	73/271 (26,9%)	27/27 (100,0%)
BoAstV RT-PCR (heces, 396)	186 y 210	86/396 (21,7%)	39/186 (21,0%)	47/210 (22,4%)	21/27 (77,8%)
Rotavirus ELISA (heces, 535)	264 y 271	94/535 (17,6%)	64/264 (24,2%)	30/271 (11,1%)	24/27 (88,9%)
<i>Salmonella enterica</i> cultivo y aislamiento (heces, 535)	264 y 271	21/535 (3,9%)	14/264 (5,3%)	7/271 (2,6%)	8/27 (29,6%)
<i>Escherichia coli</i> F5+ ELISA (heces, 535)	264 y 271	11/535 (2,1%)	6/264 (2,3%)	5/271 (1,8%)	5/27 (18,5%)
BCoV ELISA (heces, 535)	264 y 271	8/535 (1,5%)	5/264 (1,9%)	3/271 (1,1%)	5/27 (18,5%)
BVDV ELISA de antígeno o RT-PCR (suero/sangre, 480)	231 y 249	6/480 (1,2%)	4/231 (1,7%)	2/249 (0,8%)	4/27 (14,8%)

Tabla 2. Frecuencia de detección de patógenos individuales o coinfecciones en 535 terneros lecheros.

Patógenos	Frecuencia	General %*	Frecuencia acumulada	Terneros no diarreicos	Terneros diarreicos
Negativo para todos los patógenos	185	34,58%	185	142	43
<i>Cryptosporidium</i> spp.	150	28,04%	335	43	107
BoAstV	31	5,79%	366	27	4
Rotavirus	29	5,42%	395	13	16
<i>Salmonella enterica</i>	8	1,49%	403	4	4
<i>Escherichia coli</i> F5+	7	1,31%	410	3	4
BCoV	5	0,93%	415	3	2
BVDV	1	0,19%	416	1	0
Coinfecciones**	119	22,24%	535	35	84

BoAstV: astrovirus bovino, BCoV: coronavirus bovino, BVDV: virus de la diarrea viral bovina.

* Porcentaje del total de terneros muestreados.

** Infecciones entre dos (106) o tres (13) agentes patógenos.

Asociación entre patógenos, diarrea y muerte previa al desleche

En el modelo de regresión logística condicional multivariante final, las infecciones individuales con *Cryptosporidium* spp., rotavirus y su interacción se asociaron con diarrea (Tabla 3). No se observó asociación entre diarrea e infección con BCoV, *E. coli* F5+ o *S. enterica*. Hubo un efecto de interacción entre *Cryptosporidium* spp. y rotavirus, lo que significa que los efectos de uno de estos patógenos sobre la diarrea diferían según el estado de infección del otro y viceversa. Las probabilidades de diarrea fueron mayores en terneros infectados con *Cryptosporidium* spp. que fueron negativos para rotavirus, y en terneros infectados con rotavirus que fueron negativos para *Cryptosporidium* spp., que en terneros que fueron positivos para ambos agentes (Tabla 3). El modelo con términos de interacción tuvo el mejor ajuste en comparación con el modelo completo y con el modelo sin interacción según el AIC y los valores de r^2 , como se muestra en la Tabla 3. Los terneros en la segunda semana de vida tuvieron probabilidades significativamente más altas de ser diarreicos, mientras que las probabilidades disminuyeron en terneros en la tercera semana de vida (Tabla 3). No hubo asociaciones entre la diarrea y la infección con BVDV (OR = 0,55; IC 95% = 0,08 - 3,70; $p = 0,54$) o BoAstV (OR = 0,85; IC 95% = 0,48 - 1,50; $p = 0,58$).

Tabla 3. Resultados del modelo final de regresión logística condicional multivariante de patógenos asociados con diarrea en terneros lecheros ajustados por edad.

Variable	OR	95% IC	p valor
Rotavirus	1,65	1,25 - 2,17	0,0004
<i>Cryptosporidium</i> spp.	1,79	1,36 - 2,35	<0,0001
Interacción entre <i>Cryptosporidium</i> spp. y rotavirus	-	-	0,0274
Rotavirus positivo vs negativo en terneros positivos a <i>Cryptosporidium</i> spp.	1,50	0,70 – 3,24	-
Rotavirus positivo vs negativo en terneros negativos a <i>Cryptosporidium</i> spp.	4,93	2,31 – 10,54	-
<i>Cryptosporidium</i> spp. positivo vs negativo en terneros positivos a rotavirus	1,76	0,68 – 4,54	-
<i>Cryptosporidium</i> spp. positivo vs negativo en terneros negativos a rotavirus	5,77	3,47 – 9,61	-
Edad en semanas	-	-	-
1	Referencia	-	-
2	2,16	1,25 – 3,69	< 0,0001
3	0,60	0,33 – 1,11	< 0,03
> 3	0,60	0,26 – 1,40	0,14

IC: intervalo de confianza. Estadísticas de ajuste del modelo: Criterio de información de Akaike = 507,6; $r^2 = 0,35$.

Los terneros sin diarrea en el momento del muestreo tuvieron menos posibilidades de morir antes del desleche (OR = 0,40; IC 95% = 0,19 – 0,84; $p < 0,02$) que los terneros diarreicos.

Patógenos y la presencia de fibrina o moco en las heces

Las infecciones individuales con *S. enterica* y rotavirus se asociaron significativamente con la presencia de fibrina en las heces en el modelo logístico multivariado de medidas repetidas. Las probabilidades de que los terneros positivos a *S. enterica* presentaran fibrina en las heces fueron 5,8 veces mayores que para los terneros negativos para *S. enterica* (OR: 6,8; IC 95%: 2,4 – 18,9; $p < 0,001$), mientras que las probabilidades de que los terneros positivos a rotavirus presentaran fibrina en las heces fueron 1,2 veces mayores que los terneros negativos a rotavirus (OR: 2,2; IC 95%: 1,1 – 4,4; $p = 0,03$). Ninguno de los patógenos evaluados se asoció con la presencia de moco en las heces.

Transferencia de inmunidad pasiva, diarrea, patógenos y muerte previa al desleche

La concentración de PTS se evaluó en 95 terneros de ≤ 8 días con ($n = 40$) y sin ($n = 55$) diarrea, 45 de ellos (47,4%) tenían FTPI según el límite propuesto por Buczinski et al. (2018) (STP $< 5,6$ g/dl). De acuerdo con la categorización de cuatro niveles sugerida por Godden et al. (2019), 28,4% (27/95), 26,3% (25/95), 13,7% (13/95) y 31,6% (30/95) de las terneras tenían una transferencia de inmunidad pasiva pobre, regular, buena o excelente, respectivamente. La concentración global promedio de PTS fue de 5,64 g/dl (DE = 0,9; min. = 4; máx. = 8,6), la MMC para la concentración de PTS fue de 5,81 g/dl ($n = 55$; EEM = 0,20) en terneros no diarreicos, y de 5,36 g/dl ($n = 40$, EEM = 0,19) en terneros diarreicos, estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p = 0,0445$). De manera similar, la concentración de PTS fue significativamente menor en terneros infectados con cualquiera de los patógenos en estudio ($n = 62$, MMC = 5,40 g/dl, EEM = 0,16) que en aquellos que fueron negativos para todos los patógenos probados ($n = 33$, MMC = 6,08 g/dl, EEM = 0,21) ($p = 0,0016$). Aunque los terneros con concentraciones de PTS $\geq 5,6$ g/dl tenían 54,0% menos probabilidades de presentar diarrea que los terneros con concentraciones de PTS $< 5,6$ g/dl (OR = 0,46, IC 95% = 0,21 – 1,03, $p = 0,059$), esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

Los terneros que dieron positivo sólo para rotavirus tuvieron concentraciones significativamente más bajas de PTS ($n = 13$, MMC = 5,20 g/dl, EEM = 0,24) que los negativos ($n = 82$, MMC = 5,67 g/dl, EEM = 0,16) ($p = 0,0469$). Los terneros con concentraciones de PTS $\geq 5,6$ g/dl tuvieron una probabilidad 64,0% menor de ser positivos a rotavirus que los terneros con concentraciones de PTS $< 5,6$ g/dl (OR = 0,36; IC 95% = 0,12 – 1,07; $p < 0,07$), esta diferencia no fue estadísticamente significativa. No hubo asociaciones entre la concentración de PTS y las infecciones por BCoV o *E. coli* F5+, o con la muerte previa al desleche.

Patógenos y riesgo de muerte previo al desleche en terneros diarreicos

El riesgo de muerte antes del desleche fue 0,9 veces mayor en los terneros diarreicos infectados con *S. enterica* que en los terneros diarreicos negativos para este agente (RR = 1,90; IC 95% = 1,13 – 3,16; $p = 0,015$). Los otros patógenos evaluados no se asociaron con un mayor riesgo de muerte de terneros diarreicos antes del desleche.

Discusión

El SDN es una de las principales causas de muerte en terneros lecheros en EEUU (Urie et al., 2018). En coherencia con esto, en nuestro estudio, los terneros que manifestaron diarrea temprano en sus vidas tuvieron más posibilidades de morir antes del desleche que los no diarreicos contemporáneos, lo que indica que controlar y prevenir el SDN, independientemente de su causa, ayudaría a reducir la mortalidad de terneros en los establecimientos lecheros.

Al ser un síndrome multifactorial asociado con varios agentes infecciosos y parasitarios, así como con factores no infecciosos (Cho & Yoon, 2014), determinar su etiología es un proceso complejo que generalmente requiere múltiples pruebas de laboratorio junto con investigaciones clínicas y epidemiológicas. En este trabajo, se evaluó la frecuencia de infección con varios agentes, y su asociación con el SDN, la presencia de fibrina o moco en las heces, la FTIP y la muerte, a través de un estudio a gran escala de casos y controles apareado por establecimiento, en terneros de similar edad, con y sin diarrea. Los estudios de casos y controles son clave para identificar las posibles asociaciones y el papel de los agentes en la enfermedad, ya que la mayoría de los agentes causales del SDN se pueden encontrar en terneros clínicamente sanos y, por lo tanto, su mera presencia no garantiza la causalidad de la enfermedad. Además, debido a que el SDN es un síndrome multifactorial, la interacción entre diferentes etiologías potenciales debe considerarse en los estudios

destinados a evaluar la causalidad. Estudios de casos y controles a gran escala que investiguen las múltiples posibles etiologías del SDN en terneros lecheros, con un robusto análisis estadístico para evaluar las interacciones entre múltiples agentes para obtener información epidemiológica sólida y confiable son escasos en la literatura científica (Busato et al., 1998; Pérez et al., 1998; Cho et al., 2013), no habiendo antecedentes en Uruguay.

En nuestro estudio, al menos uno de los patógenos evaluados se detectó en el 65,4% de los 535 terneros y en el 83,7% de los 264 terneros diarreicos. El factor atribuible en terneros expuestos fue de 0,82 (datos no mostrados), lo que significa que el 82% de los casos de SDN en el grupo expuesto pueden atribuirse a los agentes estudiados. Esto también sugiere que otros factores infecciosos (por ejemplo, *E. coli* de adhesión y barrido –enteropatógena- y enterohemorrágica) o no infecciosos (por ejemplo, diarreas nutricionales), no evaluados en este estudio, también pueden estar contribuyendo en el SDN en una proporción menor de casos. En nuestro estudio, la proporción de terneros diarreicos fue mayor en la segunda semana de vida, lo que indica que los terneros están expuestos a los enteropatógenos poco tiempo después del nacimiento, como lo observaron otros autores (Naciri et al., 1999; Bartels et al., 2010). A su vez, durante la segunda semana de vida, ocurre una disminución de los anticuerpos neutralizantes calostrales lo que genera una ventana inmunológica favorable para los enteropatógenos (Parreño et al., 2004; Hulbert & Moisés, 2016).

Los agentes detectados con mayor frecuencia fueron *Cryptosporidium* spp., BoAstV y rotavirus, tanto como infecciones individuales como en coinfecciones. Esto es notable dada la alta frecuencia de detección de estos agentes a nivel de establecimientos. La frecuencia de detección de rotavirus, tanto en terneros diarreicos (24,2%) como en los no diarreicos (11,1%) en este estudio, fue marcadamente menor a la reportada por Castells et al. (2020) utilizando casi el mismo set de muestras analizadas por una técnica diferente (RT-qPCR) (72,1% y 59,9%, respectivamente). Estas diferencias podrían explicarse dado que, al utilizar un ELISA de captura de antígeno, probablemente haya una subestimación con respecto al RT-qPCR, debido a un menor límite de detección y menor sensibilidad, principalmente en los casos subclínicos, así como también por la presencia de anticuerpos neutralizantes de origen calostrales o al desarrollo de la inmunidad activa por parte del animal que determinen una mayor de falsos negativos con el ELISA (Izzo et al., 2012).

Debido a la alta frecuencia de detección de estos dos patógenos, las rutas de transmisión dentro y entre establecimientos deben estudiarse más detalladamente a nivel local para comprender mejor su ciclo epidemiológico. *Cryptosporidium* spp. y rotavirus son altamente resistentes a las condiciones ambientales; los animales pueden contraer estos patógenos a partir de sus madres, que pueden excretarlos de manera subclínica, y/o por los mismos terneros ya que actúan como amplificadores biológicos cobrando importancia cuando existe un contacto directo (corrales colectivos) o de manera indirecta a través de la contaminación de utensilios o por operarios (Barrington et al., 2002).

La transmisión por agua parece plausible, teniendo en cuenta que el agua es la principal ruta de transmisión de *Cryptosporidium* spp. y también que se ha sugerido para el rotavirus en terneros lecheros en Uruguay (Castells et al., 2018), sumado a que la mayoría de los establecimientos lecheros en el país administran agua subterránea no tratada o agua superficial a los animales. A su vez, dada la proximidad de las guacheras a cursos de agua superficiales, a la densa red de ríos y arroyos existentes y a la gran cantidad de precipitaciones anuales, es de suponer que los terneros puedan presentar un riesgo de contaminación de las aguas superficiales (ver Capítulo II de esta tesis).

Debido a que algunos subtipos de *Cryptosporidium parvum* son zoonóticos, nos propusimos realizar una mayor identificación de este agente a nivel de especies y subtipos para determinar si el ganado en Uruguay es reservorio de subtipos zoonóticos (Xiao & Fayer, 2008; Gharpure et al., 2019), considerando que *Cryptosporidium* spp. ha sido identificado como una causa de diarrea en niños en el país (Torres et al., 2001) (ver capítulo II de esta tesis).

A pesar de que *Cryptosporidium* spp. y rotavirus se asociaron a diarrea, tanto de manera individual como su coinfección, fue llamativo e inesperado que ante la coinfección el riesgo de diarrea fue menor que el determinado para las infecciones individuales para cada patógeno. Ambos agentes son patógenos intracelulares e invaden a las mismas células (enterocitos superficiales del intestino delgado) y provocan lesiones similares, por lo que se puede especular que ocupen los mismos nichos celulares o subcelulares (ej. receptores, vías de comunicación celular), y/o la infección con uno interfiera de algún modo con la infección por el otro (Elliott & Clark, 2000; Trejo-Cerro et al., 2019). Con respecto a esto, en un estudio realizado en ratones infectados experimentalmente con *C. parvum* y una cepa de *Enterococcus faecalis*, se observó que cuando ambos agentes estaban presentes en la misma

localización, la bacteria interfería con la colonización del protozooario (Del Coco et al., 2016).

En humanos, los astrovirus son causa de diarrea aguda infantil (Walter & Mitchell, 2003); sin embargo, la relevancia clínica de los astrovirus entéricos en el ganado no está del todo clara. Una revisión relativamente reciente sobre enteritis viral en terneros concluyó que actualmente no está claro si BoAstV es un patógeno primario relevante, una posible causa de enfermedad en coinfecciones o un virus clínicamente irrelevante (Gómez & Weese, 2017). Hasta donde sabemos, el nuestro es el primer estudio en el que se evaluó el posible papel de BoAstV como uno de los agentes del SDN y como causa de mortalidad de terneros en un estudio de casos y controles pareado dentro de cada establecimiento considerando múltiples etiologías en el diseño del estudio y en los análisis estadísticos. A pesar de la frecuencia relativamente alta de infección por BoAstV (21,7% de los terneros y 77,8% de los establecimientos), no observamos asociación con diarrea o enfermedad, al igual que lo observado por Sharp et al. (2015) en Escocia. Por el contrario, en nuestro estudio, la frecuencia de infección por BoAstV como agente individual fue significativamente mayor en los terneros no diarreicos que en los diarreicos (27 de los 31 terneros que, de los agentes evaluados, sólo estaban infectados con BoAstV, eran no diarreicos). Esto no solo pone en tela de juicio el papel causal del BoAstV entéricos en el SDN, sino que también sugiere un posible efecto beneficioso sobre la diarrea (Roossinck, 2011) que debería explorarse más a fondo. Recientes estudios moleculares indican que existe una alta diversidad genética para los BoAstV que infectan a terneros lecheros en Uruguay, incluidas tres especies diferentes de *Mamastrovirus*, la más frecuente de las cuales representa una especie no clasificada (Castells et al., 2019a). Más estudios son necesarios para evaluar si el ganado alberga especies de *Mamastrovirus* con potencial zoonótico, o si el BoAstV entérico comparte similitudes con un BoAstV neurotrópico recientemente identificado como causa de encefalitis en el ganado en el país (Giannitti et al., 2019).

Aunque el papel de BCoV y BVDV como causas de diarrea en el ganado está bien documentado (Cho & Yoon, 2014; Uzal et al., 2016), estos virus no se asociaron con el SDN en nuestro estudio. La falta de asociación puede haber estado relacionada con la baja frecuencia de detección, como se indica en otros trabajos realizados en varios países (Uhde et al., 2008; Bartels et al., 2010; Cho et al., 2013). Sin embargo, se debe considerar que ambos agentes pueden causar enfermedad entérica (BCoV y BVDV) o sistémica (BVDV) en bovinos de mayor edad que el

rango aquí muestreado. En nuestro laboratorio de diagnóstico veterinario de la PSA de INIA La Estanzuela, se ha diagnosticado enfermedades y mortalidades causadas por BVDV en animales de 3 a 4 meses de vida (da Silva Silveira et al., 2020) y BCoV (datos no publicados) en bovinos lecheros en Uruguay a través de exámenes patológicos y virología molecular, así como también la detección de BVDV en fetos bovinos abortados. En nuestro estudio, el 1,5% de los terneros y el 18,5% de los establecimientos fueron positivos para BCoV, y el 1,3% de los terneros y el 14,8% de los establecimientos fueron positivos para BVDV, lo que demuestra la circulación de estos virus a una edad temprana en los tambos. Con respecto a BCoV, y de una manera similar a lo ocurrido con rotavirus, Castells et al. (2019b) observaron una frecuencia de detección mayor (7,7%) en muestras de materia fecal de terneros mediante RT-qPCR. Lo mismo que se mencionó previamente para las dos técnicas ocurre en este caso, por lo que la frecuencia de detección de BCoV en nuestro estudio probablemente esté subestimada, y esta baja frecuencia de detección pueda explicar la falta de asociación con diarrea. El ELISA de captura de antígeno utilizado para BVDV en 136 animales de los 480 analizados para este virus, no es el adecuado para detectar al virus en muestras de suero de animales persistentemente infectados, principalmente de aquellos menores de 3 meses en los cuales los títulos de anticuerpos neutralizantes de origen calostrado pueden ser elevados (Dubovi, 2013; Zimmer et al., 2004). Sin embargo, considerando que el 14,8% de los establecimientos tuvieron al menos un animal positivo para BVDV, ya sea por el ELISA de captura o por RT-qPCR, y que el BVDV puede ser responsable de pérdidas económicas graves (Richter et al., 2017), son necesarias más investigaciones para evaluar el impacto de este virus en el sector ganadero local.

Se detectó *S. enterica* en 3,9% de los terneros (14 casos y 7 controles) y en el 29,6% de los establecimientos, estas proporciones probablemente estén subestimadas teniendo en cuenta la relativa baja sensibilidad y la alta especificidad del cultivo selectivo para este agente (Nielsen et al., 2007). Aunque la proporción de animales infectados fue más del doble en terneros diarreicos versus no diarreicos, el agente no se asoció estadísticamente con diarrea. Sin embargo, la infección por *S. enterica* se asoció con la presencia de fibrina en las heces. *Salmonella enterica* causa lesiones intestinales graves, así como infecciones invasivas/septicémicas que conducen a la muerte del animal (Uzal et al., 2016). El daño intestinal inducido por esta bacteria puede ser tan severo que puede provocar la exudación de fibrina hacia la luz intestinal (enteritis/enterocolitis fibrinosa/necrotizante) (Zhang et al., 2003),

incluso sin o antes de la manifestación de diarrea. La presencia de fibrina en las heces es sugestiva, aunque no exclusiva, de salmonelosis entérica, y debe incitar a los veterinarios a establecer un tratamiento médico temprano para evitar la mortalidad de terneros. La asociación entre la infección por rotavirus y la presencia de fibrina en las heces en nuestro estudio fue inesperada. Desde un punto de vista patológico, este virus causa lisis y exfoliación de enterocitos superficiales en el intestino delgado (principalmente yeyuno e íleon), lo que resulta en acortamiento y fusión de las vellosidades intestinales (enteropatía atrófica) (Uzal et al., 2016), lo cual es poco probable que produzca una extravasación significativa de fibrina desde los vasos sanguíneos de la lámina propia hacia la luz intestinal, a menos que haya complicaciones bacterianas secundarias que conduzcan a la ulceración. No encontramos problemas de multicolinealidad o sesgo de confusión entre el rotavirus y la infección por *S. enterica* y la presencia de fibrina en las heces según los parámetros de las pruebas estadísticas que utilizamos, lo que sugiere que esta no es una asociación espuria entre estos dos patógenos. Sin embargo, en nuestro estudio no se evaluaron otros patógenos bacterianos que pueden causar daño intestinal, colónico y/o cecal severo, como *E. coli* enteropatógena de adhesión y barrido, o *E. coli* enterohemorrágica. Recientemente se publicó un trabajo en el cual se evaluó la presencia de genes de virulencia de *E. coli* obtenidas de muestras de terneros lecheros con y sin diarrea de Uruguay, muchas de las cuales provinieron de los animales muestreados en el presente estudio. Los autores observaron una baja frecuencia de detección de los genes asociados al grupo *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC)/ *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), como también a *E. coli* enteropatógena (EPEC) (Umpiérrez et al., 2020).

Curiosamente, un estudio sobre hallazgos postmortem y el diagnóstico de laboratorio de las causas de muerte en terneros lecheros en EEUU determinó que los terneros con lesiones intestinales necrotizantes y ulcerativas tenían más probabilidades de ser diagnosticados con infección por rotavirus (McConnel et al., 2019).

En nuestro estudio, todos los terneros diarreicos positivos para *S. enterica* que murieron antes del desleche lo hicieron dentro de los 3 días posteriores al muestreo, a edades que oscilaban entre 9 y 18 días. Por el contrario, todos los terneros no diarreicos positivos para *S. enterica* sobrevivieron después del desleche al menos hasta el día 122 de edad (101 días después del muestreo, datos no mostrados). Los terneros diarreicos infectados por *S. enterica* en nuestro estudio

tuvieron un riesgo significativamente mayor de morir durante el período previo al destete que los terneros diarreicos no infectados con este agente. Por lo tanto, la salmonelosis debe considerarse una causa importante de mortalidad de terneros en el período de cría en establecimientos lecheros en Uruguay.

Además de su impacto en la salud animal, el papel de los bovinos como fuente de salmonelosis humana debe estudiarse con mayor profundidad en Uruguay, ya que *S. enterica* ha sido reconocido como un patógeno humano en nuestro país (Torres et al., 2001; Cordeiro et al., 2018), donde la población de bovinos per cápita es la más alta del mundo (Cook, 2020). El serotipo de *S. enterica* predominante en nuestro estudio fue *S. Typhimurium* (19 terneros en 7 establecimientos), seguido de *S. Anatum* (2 terneros de la misma granja) (Casaux, 2018). Debido a que la resistencia a los antibióticos en patógenos animales y humanos es una importante preocupación a nivel mundial y que se han identificado cepas de *S. Typhimurium* resistentes a múltiples fármacos en pacientes humanos en Uruguay (Cordeiro et al., 2018), evaluamos la susceptibilidad a los antibióticos de todas las cepas *Salmonella* obtenidas en este estudio (Casaux et al., 2019). La concentración inhibitoria mínima a 14 antibióticos en 9 clases de antibióticos se evaluó por microdilución. Las 21 cepas fueron resistentes al menos a una clase de antibióticos, y 11/21 cepas fueron resistentes a ≥ 3 clases de antibióticos (predominantemente tetraciclinas, aminoglucósidos y betalactámicos), siendo consideradas cepas multirresistentes (Casaux et al., 2019). Las bases fenotípicas y moleculares para la resistencia a los antibióticos en aislados bovinos y su eventual impacto en medicina humana deben explorarse más a fondo.

Encontramos *E. coli* F5+ en una frecuencia relativamente baja a nivel individual (2,1% de los terneros) y de establecimientos (18,5%) y este agente no se asoció con el SDN. La baja frecuencia de *E. coli* F5+ en terneros neonatos se había documentado previamente en la región y el país (Oliveira Filho et al., 2007; Umpiérrez et al., 2016), así como en otras partes del mundo (De La Fuente et al., 1998; Bartels et al., 2010; Cho et al., 2013). Debe considerarse que *E. coli* enterotoxigénica afecta predominantemente a terneros < 1 semana de edad ya que sus células diana son los enterocitos inmaduros (Blanchard, 2012), y nuestro marco de muestreo incluyó terneros de hasta 4 semanas de edad, lo que probablemente representa un sesgo. En nuestro estudio, de los 11 terneros positivos para *E. coli* F5+, 9 tenían ≤ 5 días de vida y los otros 2 tenían 12 y 15 días. No se encontró asociación con diarrea, incluso cuando sólo se consideraron terneros dentro de la

primera semana de vida para el análisis estadístico (datos no mostrados). Aun cuando la expresión del antígeno fimbrial F5 y la producción de la toxina termoestable (STa) están altamente correlacionados en las cepas de *E. coli* enterotoxigénica, algunos estudios han observado cepas de *E. coli* F5+ sin potencial toxigénico (ej. cepas positivas a F5 pero negativas a STa), lo cual podría explicar la falta de asociación con diarrea en los terneros positivos (Ok et al., 2009; Nguyen et al., 2011; Picco et al., 2015; Pasayo et al., 2019). Además, es esperable la presentación de falsos negativos debido a la baja sensibilidad del test de ELISA para este antígeno (De La Fuente et al., 1998).

Determinar la concentración de PTS en suero es una forma indirecta de evaluar el estado inmune de los terneros, particularmente la transferencia de inmunidad pasiva (anticuerpos calostrales) en la primera semana de vida (Buczinski et al., 2018; Godden et al., 2019). Las bajas concentraciones de PTS se han asociado con una mayor morbilidad y mortalidad (Urie et al., 2018; Abuelo et al., 2019). En nuestro estudio, casi la mitad de los terneros (47,4%) muestreados para la determinación de PTS tenían valores $< 5,6$ g/dl consistentes con FTPI. Se observó una mayor concentración de STP en terneros no diarreicos, así como en terneros que fueron negativos para rotavirus. Los terneros con concentraciones más altas de PTS tuvieron menores probabilidades de manifestar diarrea y de ser positivos para este patógeno. Esto sugiere que las concentraciones más altas de PTS, indicativas de una transferencia exitosa de la inmunidad pasiva, tendrían un efecto protector contra la diarrea y la infección por rotavirus. Las vacunas disponibles para prevenir el SDN generalmente contienen rotavirus y otros diversos antígenos virales y bacterianos (a veces incluyendo BCoV y *E. coli* F5+, dependiendo del laboratorio de fabricación) y apuntan a aumentar la inmunidad específica del calostro en las madres, por lo que se requieren prácticas adecuadas de manejo del calostro para garantizar la transferencia exitosa de inmunidad para proteger a los terneros. Es necesario evaluar si los antígenos de rotavirus incluidos en las vacunas disponibles en Uruguay, todos los cuales consisten en virus inactivados, protegen contra las cepas virales predominantes, y se deben realizar caracterizaciones antigénicas más profundas de las cepas de rotavirus locales. Actualmente, no hay vacunas disponibles comercialmente para *Cryptosporidium* spp.; sin embargo, se ha postulado que los terneros con un estado inmunitario adecuado adquirido a través del calostro tienen menos probabilidades de eliminar este agente en las heces (Fayer et al., 1989) y de tener criptosporidiosis clínica (Lefkaditis et al., 2020). Interesantemente, en nuestro

estudio, la concentración media de PTS fue mayor en terneros negativos a *Cryptosporidium* spp. (5,71 g/dl; n = 66) que en terneros positivos (5,47 g/dl; n = 29) (datos no mostrados – Anexo 1). Aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa, estas concentraciones medias de PTS fueron superiores e inferiores, respectivamente, del valor de corte propuesto para determinar FTPI (Buczinski et al., 2018). Esto resalta la importancia de aplicar prácticas de manejo rentables y fácilmente disponibles, como la vacunación de las madres para obtener calostro de calidad y su administración temprana a los terneros para prevenir el SDN. Aunque la vacunación para prevenir el SDN se recomienda en todos los establecimientos lecheros, su efecto beneficioso sería más esperable en aquellos en donde las prácticas de manejo del calostro son adecuadas, ya que se asegura el calostrado de los animales. Desafortunadamente, las prácticas inadecuadas de manejo del calostro están muy extendidas en los establecimientos lecheros en Uruguay (Schild et al., 2020), lo que puede explicar en parte el alto porcentaje de terneros con bajas concentraciones de PTS encontrado en nuestro estudio. Con respecto a la falta de asociación estadística entre PST y la muerte antes del desleche, cabe señalar que de 31 terneros con valores de PST < 5,6 g/dl, 14 tenían datos faltantes sobre su seguimiento y 22 terneros con valores de PST ≥ 5,6 g/dl también (Anexo 1). Esto representa el 37,9% (36/95) de los terneros con datos faltantes, lo que probablemente influyó en el resultado del análisis estadístico.

La evaluación de la causa en brotes espontáneos del SDN permite aplicar medidas específicas de control y prevención para reducir las pérdidas por enfermedad y mortalidad, como la vacunación y el manejo del calostro. La concentración de PST en terneros recién nacidos tiene un efecto protector contra la diarrea y la infección por rotavirus; demostrando la importancia de aplicar prácticas adecuadas de manejo del calostro para mejorar la salud y el bienestar de los terneros neonatos y reducir la mortalidad asociada a la diarrea. El control y la prevención de estas enfermedades infecciosas y parasitarias y la mejora de las prácticas de manejo del calostro ayudarían a reducir la morbilidad y la mortalidad y promoverían el bienestar de los terneros en los establecimientos lecheros en Uruguay.

Conclusiones

En este estudio, concluimos que *Cryptosporidium* spp. y rotavirus causan diarrea neonatal y son frecuentes tanto a nivel de terneros como de los establecimientos y que el SDN está asociado a mortalidad de terneros lecheros,

independientemente de su causa. La infección por *Salmonella enterica* produce heces fibrinosas y aumenta el riesgo de mortalidad antes del desleche en los terneros diarreicos. BoAstV, a pesar de ser frecuente, no es una causa de diarrea para los terneros lecheros en Uruguay. Aunque las frecuencias de BCoV, BVDV y *E. coli* F5 + son relativamente bajas, estos patógenos probablemente están subestimados, por lo que no se debe descartar su rol en la enfermedad neonatal. Por último, los terneros en Uruguay son reservorios de patógenos potencialmente zoonóticos los cuales se han identificado en pacientes humanos en este país, en particular de *Salmonella* Typhimurium y *Cryptosporidium* spp.

Capítulo II: Los terneros lecheros en Uruguay son reservorios de subtipos zoonóticos de *Cryptosporidium parvum* y presentan un riesgo potencial de contaminación de las aguas superficiales

Resumen

Cryptosporidium parvum es un patógeno de importancia dado que causa diarrea en terneros neonatos y tiene potencial zoonótico. Numerosos brotes de criptosporidiosis humana causados por subtipos genéticos de *C. parvum* son informados anualmente en todo el mundo, y el ganado o el agua son fuentes de infección identificadas con frecuencia. Aunque hay registros de criptosporidiosis clínica en pacientes humanos en Uruguay, particularmente niños, la información epidemiológica es escasa y no se ha explorado el papel del ganado como reservorio de subtipos zoonóticos de *C. parvum*. En este estudio, nuestros objetivos fueron: (a) identificar subtipos de *C. parvum* que infectan terneros lecheros en Uruguay (incluidos los subtipos potencialmente zoonóticos), (b) evaluar su asociación con el SDN en los terneros, (c) evaluar su agrupación espacial, y (d) evaluar la distancia de los terneros infectados a los cursos de agua superficiales que drenan los campos y determinar si estos cursos de agua fluyen hacia plantas públicas de potabilización de agua. Se seleccionaron heces de 255 terneros que habían resultado positivas para *Cryptosporidium* spp. por ELISA de antígeno. Las muestras provenían de un muestreo de 29 establecimientos lecheros en 7 departamentos uruguayos donde se concentra la producción lechera del país, y representaban 170 terneros diarreicos y 85 no diarreicos. Las muestras seleccionadas se procesaron mediante PCRs anidada dirigidas a los genes 18S rRNA y gp60, seguidas de secuenciación para identificar los subtipos de *C. parvum*. De los siete subtipos de *C. parvum* detectados en 166 terneros, cinco (identificados en 143 terneros en 28 de 29 establecimientos) habían sido identificados en humanos en lugares distintos de Uruguay y tienen potencial zoonótico. El subtipo IIaA15G2R1 fue el más frecuente (53,6%; 89/166), seguido por IIaA20G1R1 (24,1%; 40/166), IIaA22G1R1 (11,4%; 19/166), IIaA23G1R1 (3,6%; 6/166), IIaA17G2R1 (3%; 5/166), IIaA21G1R1 (2,4%; 4/166) e IIaA16G1R1 (1,8%; 3/166). No hubo diferencias significativas en las proporciones de terneros diarreicos y no diarreicos infectados con ninguno de los subtipos identificados de *C. parvum*. Se detectaron dos conglomerados espaciales, uno de los cuales se superpuso con Montevideo y su principal planta de potabilización de agua (Aguas Corrientes), que capta agua superficial para abastecer a aproximadamente

1.700.000 personas. Los terneros infectados en todos los establecimientos se encontraban dentro de los 20 – 900 m de un curso de agua superficial natural que drenaba los campos, 10 de los cuales fluían hacia seis plantas de potabilización de agua ubicadas entre 9 y 108 km aguas abajo. Cuatro de estos cursos de agua fluían río abajo hacia Aguas Corrientes. Los terneros son reservorios de subtipos zoonóticos de *C. parvum* en Uruguay y representan un riesgo para la salud pública ya sea a través de contacto directo o de contaminación de aguas superficiales.

Introducción

La criptosporidiosis es una enfermedad de distribución global causada por protozoos del género *Cryptosporidium*. Afecta a una amplia variedad de huéspedes, incluidos humanos y rumiantes. Las especies predominantes que infectan al ganado son *C. parvum*, *C. andersoni*, *C. bovis* y *C. ryanae* (Fayer, 2010). *C. parvum* es uno de los agentes causales del SDN, siendo una causa importante de diarrea en terneros neonatos, quienes excretan en la materia fecal grandes cantidades de ooquistes altamente resistentes que contaminan el medio ambiente (Uga et al., 2000). Además, es un patógeno zoonótico y una de las principales causas de enfermedades diarreicas transmitidas por el agua y los alimentos en humanos (Xiao & Fayer, 2008). Las fuentes de infección por *Cryptosporidium* en humanos incluyen aguas superficiales contaminadas (lagos, ríos), agua potable municipal (ya que los ooquistes son en gran medida resistentes a la cloración), agua recreativa (piscinas, parques infantiles de agua), alimentos y ganado infectado (CDC, 2011; Widerström et al., 2014; Brankston et al., 2018). De los numerosos brotes de criptosporidiosis humana notificados anualmente en todo el mundo (Efstratiou et al., 2017), muchos se han relacionado con el ganado como fuente de infección por *C. parvum* (CDC, 2011; Ng et al., 2012; Alsmark et al., 2018).

Después de la transmisión fecal-oral, *C. parvum* infecta los enterocitos del huésped y experimenta una fase de reproducción sexual, durante la cual tiene lugar la recombinación génica, con la consiguiente generación de diferentes familias genéticas y subtipos que, dependiendo de las condiciones epidemiológicas, pueden diferir entre y dentro de las regiones geográficas (Del Coco et al., 2014; Cacciò et al., 2015). No es posible identificar *Cryptosporidium* a nivel de especie o los subtipos de *C. parvum* con técnicas convencionales utilizadas tradicionalmente para detectar criptosporidios, tales como tinciones de Ziehl-Neelsen modificado, auramina-fenol, o pruebas inmunodiagnósticas, como la inmunofluorescencia

directa o el ELISA. Sin embargo, el análisis genético del gen del ARN ribosomal 18S permite la identificación de especies de *Cryptosporidium* y el análisis del locus de la glicoproteína 60 (gp60) permite no sólo la confirmación de especies de *C. parvum*, sino también una identificación adicional a nivel de familia y de subtipo (Khan et al., 2018). Este enfoque molecular se ha utilizado en estudios epidemiológicos para evaluar la segregación geográfica y la transmisión entre especies (Ng et al., 2012; Alsmark et al., 2018), lo que ha llevado a una mejor comprensión de la criptosporidiosis en animales y humanos. Por ejemplo, la evidencia indica que la mayoría de las infecciones en terneros jóvenes son causadas por *C. parvum*, principalmente de la familia IIa, que se sabe que contiene el subtipo zoonótico más frecuentemente detectado en todo el mundo, IIaA15G2R1 (Xiao, 2010; Rieux et al., 2013; Mammeri et al., 2019), considerado como un subtipo hipertransmisible (Mammeri et al., 2019). Por lo tanto, las técnicas moleculares han ayudado a comprender los patrones epidemiológicos y las cadenas de transmisión de la criptosporidiosis y, en última instancia, pueden ayudar a delinear estrategias de prevención y control de la enfermedad (Gharpure et al., 2019).

La exposición a aguas recreativas (35,1%) y el contacto directo con el ganado (14,6%) fueron las principales fuentes identificadas en 444 brotes de criptosporidiosis humana en EEUU en 2009 – 2017 (Gharpure et al., 2019). La criptosporidiosis humana se ha documentado en Uruguay (Torres et al., 2001; Zanetta et al., 1987), aunque no se han explorado las fuentes de infección. Con aproximadamente 12,2 millones de cabezas de ganado en 2017 – 2018, y una población humana total de 3,53 millones, Uruguay es el país con el mayor número de ganado per cápita a nivel mundial (Cook, 2020). El área asignada a las explotaciones ganaderas representa aproximadamente el 75% del territorio del país (MGAP-DIEA, 2019). La mayoría del ganado se cría al aire libre en sistemas ganaderos pastoriles, lo que causa contaminación ambiental con heces, exposición de deposiciones fecales a la lluvia y acceso del ganado a los cursos de agua superficiales naturales. La topografía de Uruguay está representada por tierras bajas y llanas potencialmente inundables. Su clima templado húmedo sin una estación seca (Climate Change & Infectious Diseases Group, 2019), precipitaciones anuales de 700 – 1200 mm, junto con la densa red de cursos de agua naturales superficiales (MVOTMA-DINAMA, 2020) con un promedio de 1,4 km lineales por km² de área, proporcionan condiciones favorables para la transmisión de los agentes de enfermedades transmitidas por el agua.

Considerando el rol de reservorio de los bovinos y que *Cryptosporidium* spp. es una causa frecuente de diarrea en terneros lecheros en Uruguay (Caffarena, 2017 y capítulo I de esta tesis), nos preguntamos si las especies y subtipos de *Cryptosporidium* que infectan al ganado podrían representar un riesgo para la salud pública a través del contacto directo o la contaminación de las aguas superficiales. Dado el escenario actual, en este estudio, nuestros objetivos fueron: (a) identificar especies y subtipos de *Cryptosporidium* que infectan terneros lecheros en Uruguay, incluidos los subtipos de *C. parvum* potencialmente zoonóticos, (b) evaluar la asociación de diferentes subtipos de *C. parvum* con diarrea en terneros, (c) evaluar su agrupación espacial, y (d) evaluar la distancia entre las crianzas en donde se alojan los terneros infectados y los cursos de agua superficiales naturales que drenan los campos y determinar si estos cursos de agua fluyen aguas abajo hacia las plantas públicas de potabilización de agua, lo que podría indicar un riesgo potencial para la salud pública.

Materiales y métodos

Muestras y establecimientos

Un total de 255 muestras de heces de terneros lecheros almacenados a -20°C en el laboratorio de la PSA fueron seleccionadas para este estudio. Este banco de muestras se construyó a partir de las muestras colectadas durante el estudio de Caffarena (2017) y en gran parte fueron las utilizadas para el Capítulo I. Todas las muestras habían sido positivas para *Cryptosporidium* spp. utilizando un kit de ELISA de captura de antígeno comercial (Pathasure Enteritis-4, Biovet, St. Hyacinthe, Quebec, Canadá) (Caffarena, 2017), lo que fue un criterio de inclusión. Las muestras correspondían a 170 terneros diarreicos y 85 no diarreicos de hasta 30 días de edad, de 29 establecimientos lecheros comerciales (establecimientos 1 – 29) ubicados en 7 departamentos de Uruguay (Colonia, San José, Flores, Soriano, Florida, Canelones y Río Negro). De todos los 552 terneros analizados por el ELISA de captura de antígeno para *Cryptosporidium* spp., 265 (48%) habían resultado positivos, 255 de las muestras estaban disponibles para este estudio.

Se recopiló información adicional de los establecimientos, incluido el tamaño del rodeo (número de vacas lecheras y número de terneros criados en 2016), el área (superficie en m²) de las áreas de cría de los terneros, el tipo de alojamiento de terneros (corrales individuales versus colectivos o grupales, crianza en interiores versus exteriores), el tipo de piso en las áreas de cría de terneros, si las heces se

eliminaron del piso de las áreas de cría de terneros y las fuentes de agua potable usadas para los terneros (Anexo 2).

Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación para la especiación y subtipificación de *Cryptosporidium*

Se extrajo el ADN de 150 mg de cada una de las 255 muestras fecales utilizando un kit comercial (Quick DNA Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit; Zymo Research, Irvine, CA, EEUU), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se realizó un protocolo de PCR anidado dirigido al gen ARNr 18S para la detección y especiación de *Cryptosporidium* spp. usando los cebadores de PCR 5'-TTCTAGAGCTAATACATGCG-3' y 5'-CCCATTTCTTCGAAACAGGA-3' (~1319 pb) y los cebadores de PCR anidados 5'-GGAAGGGTTGTATTTATTAGATAAAG-3' y 5'-AAGGAGTAAGGAACAACCTCCA-3 (~834 pb), como se describió anteriormente (Xiao et al., 2000, 1999). Además, la especiación y el subtipificación de *C. parvum* se realizaron utilizando un protocolo de PCR anidada de dos pasos dirigido a un fragmento del gen gp60 utilizando los cebadores de PCR 5'-ATAGTCTCCGCTGTATTC-3' y 5'-GGAAGGAACGATGTATCT-3' (~900 pb), y los cebadores de PCR anidadas 5'-TCCGCTGTATTCTCAGCC-3' y 5'-GCAGAGGAACCAGCATC-3' (~860 pb) (Alves et al., 2003), en 166 (74,8%) de las muestras que resultaron positivas por la PCR del ARNr 18S mencionada arriba. Las reacciones de amplificación para los genes ARNr 18S y gp60, en la PCR y en PCR anidada, se realizaron en un volumen de 25 µL que contenía Platinum® PCR SuperMix (Life Technologies, Carlsbad, CA, EEUU), 200 nM de cada cebador y 2 µL de ADN objetivo. Las reacciones se realizaron en un sistema de detección de PCR en tiempo real CFX96™ (Bio-Rad, Hercules, CA, EEUU). Las muestras se desnaturalizaron a 94°C durante 2 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 30 segundos, alineamiento durante 30 segundos a 55°C (gen ARNr 18S) o 50°C (gen gp60) y extensión durante 1 minuto a 72°C, con una extensión final a 72°C durante 7 minutos. ADN de *C. parvum* y agua ultrapura se usaron como controles positivos y negativos, respectivamente. Los fragmentos amplificados se analizaron mediante electroforesis en gel teñido con GelRed® (Biotium, Fremont, CA, EEUU).

Los amplicones obtenidos para los genes ARNr 18S y gp60 se purificaron usando un kit de extracción de gel QIAquick (Qiagen, Santa Clara, CA, EEUU) y se

secuenciaron usando el kit ABI Prism® Dye Terminator Cycling Sequence en un secuenciador automático ABI 3730XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU). Las secuencias de ADN se ensamblaron y alinearon con los programas CodonCode Aligner versión 7.1.2 (CodonCode Corporation, Centerville, MA, EEUU) y BioEdit Sequence Alignment Editor (Hall, 1999), y se compararon con secuencias homólogas disponibles en GenBank usando el programa Clustal W (Thompson et al., 1997). Los subtipos de *C. parvum* se identificaron en función del número de repeticiones de los trinucleótidos TCA (A), TCG (G) y ACATCA (R) (Sulaiman et al., 2005).

Análisis estadístico

Las comparaciones entre las proporciones de terneros diarreicos y no diarreicos infectados con cada subtipo diferente de *C. parvum* se realizaron mediante una prueba z de proporción para una muestra (cuando $n \geq 30$) o una prueba binomial (cuando $n < 30$) para un nivel de significancia de $p < 0,05$ con STATA® versión 14.0 (StataCorp, College Station, TX, EEUU).

Para el análisis espacial se utilizó la técnica de detección de conglomerados espaciales, a través de un modelado multinomial para evaluar el riesgo relativo de los conglomerados de cada subtipo de *C. parvum* detectado (Jung et al., 2010; Kulldorff, 1997). Esta técnica se basa en comparar si en determinada región la cantidad de casos observados es mayor al esperado; para esto, el software crea diferentes ventanas circulares de diferentes tamaños que se colocan al azar sobre el área de estudio y calcula la razón de probabilidad de los casos observados y esperados (para cada subtipo de *C. parvum*) agrupados dentro y fuera de la ventana (Valbuena-García & Rodríguez-Villamizar, 2018) mediante 999 simulaciones de Monte Carlo. La detección de conglomerados se realizó con el software SaTScan™ versión 9.4.4 (Martin Kulldorff, Boston, MA, EEUU).

Evaluación de la ubicación y la distancia entre las crianzas con terneros infectados, cursos de agua superficiales naturales y plantas de potabilización de aguas superficiales localizadas aguas abajo

Las áreas de crianza de los 29 establecimientos lecheros donde se ubicaron los terneros infectados fueron georreferenciadas y mapeadas. La elevación y la pendiente de los campos, obtenidas del modelo digital del terreno de Uruguay (MGAP, 2020), se consideraron para evaluar la red de drenaje de agua para cada una de ellas. La distancia entre cada área de crianza y el curso de agua natural superficial

más cercano (arroyos o ríos) se midió en metros con el software QGIS (QGIS Development Team, 2019), considerando la ruta de drenaje de agua natural más corta de acuerdo a la pendiente del terreno. Además, se evaluó si estos cursos de agua superficiales naturales fluirían aguas abajo en la dirección de cualquier planta pública de potabilización de agua que colectara agua superficial para saneamiento y consumo humano. Las ubicaciones geográficas de estas plantas de agua se obtuvieron del sitio web del "Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente" de Uruguay (MVOTMA-DINAMA, 2020), y la distancia entre estos puntos siguiendo la ruta de los cursos de agua hasta las plantas de potabilización se midió en kilómetros utilizando el software QGIS.

Resultados

Identificación de especies y subtipos de *Cryptosporidium*

De las 255 muestras incluidas en el estudio, 222 (87,1%) fueron positivas por la PCR anidada dirigida al gen ARNr 18S, confirmando *Cryptosporidium* spp. a nivel de género. Para llevar a cabo la identificación de especies de *Cryptosporidium*, se secuenciaron 60 (27%) de las 222 muestras de positivas por PCR del ARNr 18S, seleccionadas al azar y representando los 29 establecimientos. *C. parvum* fue la única especie identificada en los 60 terneros analizados. Con base en este resultado, considerando que *C. parvum* es la principal especie encontrada en terneros de hasta 30 días de edad (Xiao, 2010), y debido a limitaciones financieras, decidimos realizar la determinación de especie y subtipos de *C. parvum* utilizando una PCR anidada del gen gp60 seguido de secuenciación. Este enfoque se siguió en 166 (74,8%) de las muestras positivas por PCR del gen ARNr 18S, incluidas las 60 muestras mencionadas anteriormente identificadas como *C. parvum* por secuenciación de amplicón del ARNr 18S, y que representan los 29 establecimientos. Se identificó uno de 7 subtipos diferentes de *C. parvum* en los 166 terneros (Tabla 4). Las secuencias de nucleótidos generadas en este estudio (genes ARNr 18S rRNA y gp60) se depositaron en GenBank con los números de acceso MT010356 a MT010363.

Tabla 4. Número de terneros de < 30 días de edad infectados con diferentes subtipos de *Cryptosporidium parvum* en 7 departamentos de Uruguay

Departamento	Subtipos de <i>C. parvum</i>							Total
	*IaA15G2R1	*IaA20G1R1	IaA22G1R1	*IaA23G1R1	*IaA17G2R1	IaA21G1R1	*IaA16G1R1	
Colonia	19	0	10	6	0	0	0	35
San José	48	9	1	0	5	4	3	70
Flores	4	1	0	0	0	0	0	5
Soriano	8	0	0	0	0	0	0	8
Florida	8	0	1	0	0	0	0	9
Canelones	1	0	0	0	0	0	0	1
Río Negro	1	30	7	0	0	0	0	38
Total	89	40	19	6	5	4	3	166

*Subtipos que se han encontrado en humanos en otros lugares: IaA15G2R1 (Alves et al., 2006), IaA16G1R1 (Iqbal et al., 2012; Valenzuela et al., 2014), IaA17G2R1 (Hira et al., 2011; Iqbal et al., 2012; Ng et al., 2008), IaA20G1R1 (Segura et al., 2015) y IaA23G1R1 (Khalil et al., 2017).

El subtipo más frecuente en los 166 terneros fue IIaA15G2R1 (53,6%, 89/166), seguido del IIaA20G1R1 (24,1%, 40/166), IIaA22G1R1 (11,4%, 19/166), IIaA23G1R1 (3,6%, 6/166), IIaA17G2R1 (3%, 5/166), IIaA21G1R1 (2,4%, 4/166) y IIaA16G1R1 (1,8%, 3/166). El subtipo IIaA15G2R1 también fue el más frecuente a nivel de establecimientos (69%, 20/29), y se identificó en 100% de los 7 departamentos. El subtipo IIaA20G1R1 se identificó en 8/29 (27,6%) establecimientos y 3/7 (42,9%) departamentos (Río Negro, San José y Flores). El subtipo IIaA22G1R1 se identificó en 6/29 establecimientos (20,7%) en 3/7 departamentos (Colonia, Río Negro y Florida). Los otros 4 subtipos (IIaA23G1R1, IIaA17G2R1, IIaA21G1R1 y IIaA16G1R1) sólo se identificaron en establecimientos individuales, uno en Colonia y 3 en San José. El último departamento fue el único donde se encontraron los 7 subtipos diferentes de *C. parvum*. En 7 de los 29 establecimientos (24,1%) se encontró más de un subtipo de *C. parvum*. La combinación de subtipos incluía IIaA15G2R1 - IIaA22G1R1 y IIaA15G2R1 - IIaA20G1R1 en 3 establecimientos cada uno, y IIaA15G2R1 - IIaA21G1R1 en un solo establecimiento. Se identificó al menos un subtipo zoonótico en 28 de los 29 establecimientos (96,6%).

Subtipos de *Cryptosporidium parvum* y diarrea en terneros

De las 166 muestras sometidas a subtipificación, 119 eran de terneros diarreicos y 47 de terneros no diarreicos. No hubo diferencias significativas en las proporciones de terneros diarreicos y no diarreicos infectados con ninguno de los subtipos de *C. parvum* (Tabla 5).

1 **Tabla 5.** Proporción de subtipos de *Cryptosporidium parvum* en terneros no diarreicos y diarreicos, y resultados de la prueba de una muestra de
 2 proporción o prueba binomial

Subtipo de <i>C. parvum</i>	Consistencia de las heces				N	Total Proporción, IC 95%	P-valor
	No diarreicos		Diarreicos				
	n	Proporción, IC 95%	n	Proporción, IC 95%			
IaA15G2R1	21	45%, 3,1 – 58,7	68	57%, 48,1 – 65,6	89	54%, 46,0 – 61,0	0,253
IaA20G1R1	15	32%, 20,4 – 46,1	25	21%, 14,6 – 29,2	40	24%, 18,2 – 31,1	0,203
IaA22G1R1	2	4%, 1,2 – 14,2	17	14%, 9,1 – 21,7	19	11%, 7,5 – 17,2	0,139
IaA23G1R1	2	4%, 0,5 – 14,5	4	3%, 0,9 – 8,3	6	4%, 1,3 – 8,0	0,239
IaA17G2R1	3	6%, 1,3 – 17,5	2	2%, 0,2 – 5,9	5	3%, 0,9 – 7,0	0,166
IaA21G1R1	3	6%, 1,3 – 17,5	1	0.8%, 0,02 – 5,0	4	2%, 0,6 – 6,0	0,103
IaA16G1R1	1	2%, 0,05 – 11,3	2	0.2%, 0,2 – 6,0	3	2%, 0,3 – 5,2	0,574
Total	47		119		166		

3 IC: Intervalo de confianza.

Subtipos de *Cryptosporidium parvum* y análisis geoespacial

Las ubicaciones geográficas de los 29 establecimientos se muestran en las Figuras 1 y 2, y los resultados del análisis espacial se resumen en la Tabla 6. Se identificaron dos conglomerados espaciales ($p < 0,0001$). El conglomerado primario comprendía 7 establecimientos, ubicados principalmente en el departamento de Río Negro, el sur de Paysandú y el norte de Soriano (Figs. 1 y 2). El conglomerado incluyó un total de 38 terneros infectados, siendo los subtipos principales IIA20G1R1 y IIA22G1R1 (Tabla 6). El conglomerado secundario comprendía 12 establecimientos ubicados en los departamentos de San José, Florida y Canelones, que se superponen con el área metropolitana más grande y capital del país, Montevideo (Fig. 2). El número total de terneros infectados en este conglomerado fue de 67, y los principales subtipos identificados fueron IIA15G2R1, IIA17G2R1 y IIA21G1R1.



Figura 1. Mapa de Uruguay (todo el país) que muestra la distribución geográfica de los 29 establecimientos con terneros positivos a *Cryptosporidium parvum*. Los números indican la identificación de los establecimientos (1 – 29). Las líneas rojas indican conglomerados espaciales para los diferentes subtipos de *C. parvum*, como se muestra en la Tabla 6.

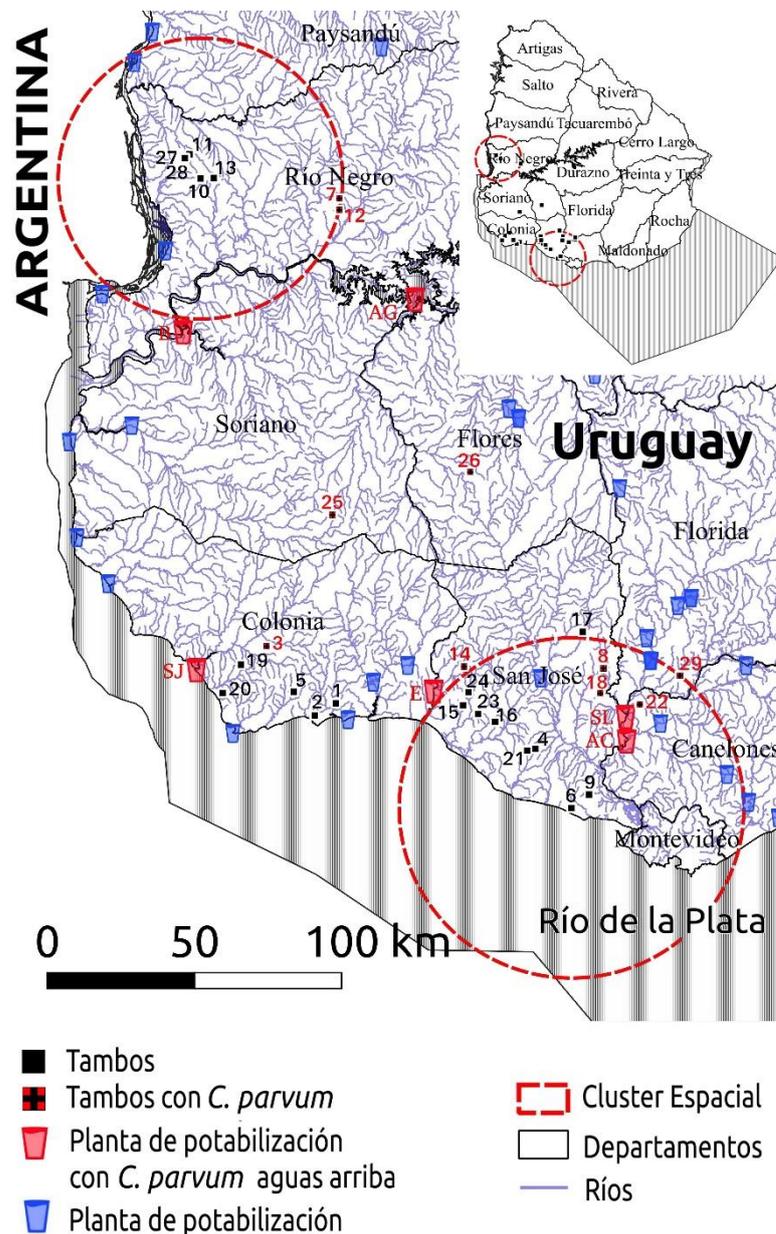


Figura 2. Mapa del área de estudio (suroeste de Uruguay) que muestra la distribución geográfica de los 29 establecimientos con terneros infectados por *Cryptosporidium parvum* (números), los cursos de agua superficiales naturales (líneas azules) y las plantas de potabilización de agua que colectan agua para consumo humano (iconos de vasos). Diez establecimientos que drenan en un curso de agua que fluye aguas abajo hacia una planta de potabilización de agua, se indican con números rojos, mientras que las 6 plantas de potabilización de agua que reciben agua de estos 10 cursos de agua se resaltan con iconos de vasos rojos y se identifican como AC (Aguas Corrientes), AG (Arroyo Grande), B (Bequeló), E (Ecilda), SJ (San Juan) y SL (Santa Lucía). Las líneas rojas indican conglomerados espaciales para diferentes subtipos de *C. parvum*, como se muestra en la Tabla 6.

1 **Tabla 6.** Resultados del análisis espacial para la detección de conglomerados de subtipos de *Cryptosporidium parvum* en terneros lecheros

Rango de grupo	Número de establecimientos en cada grupo	Geolocalización del centroide		Radio (km)	Número total de casos	Subtipo	Casos observados/esperados por cada subtipo	RR	LLR	P-valor
		Sur	Oeste							
1	7	32,757967	57,931379	48,21	38	IaA15G2R1	0,049	0,038	48,821332	< 0,0001
						IaA16G1R1	0	0		
						IaA17G2R1	0	0		
						IaA20G1R1	3,28	10,11		
						IaA21G1R1	0	0		
						IaA22G1R1	1,61	1,96		
						IaA23G1R1	0	0		
2	12	34,718798	56,602989	58,42	67	IaA15G2R1	1,56	2,51	46,881090	< 0,0001
						IaA16G1R1	0	0		
						IaA17G2R1	2,48	infinito		
						IaA20G1R1	0	0		
						IaA21G1R1	2,48	infinito		
						IaA22G1R1	0,26	0,17		
						IaA23G1R1	0	0		

2 RR: riesgo relativo; LLR (prueba de razón de verosimilitud): log likelihood ratio.

Ubicación y distancia entre crianzas con terneros infectados por *Cryptosporidium parvum*, los cursos de agua naturales y las plantas de potabilización de aguas superficiales localizadas aguas abajo

En la Figura 2 se muestran los cursos de agua superficiales naturales del área de estudio y la ubicación de los establecimientos. La distancia entre las áreas de cría de los terneros y el curso de agua más cercano (considerando la ruta más corta de drenaje de agua basada en la altitud y la pendiente del terreno), así como los subtipos detectados en cada establecimiento, se muestran en la Tabla 7. La distancia promedio entre las áreas de cría ($n = 29$) y los cursos de agua superficiales naturales fue de 352 m, con un rango de 20 – 900 m. Diez de estos 29 (34,5%) cursos de agua fluyeron aguas abajo hacia 6 plantas de potabilización de aguas superficiales ubicadas en los departamentos de Canelones, Flores, Soriano, San José y Colonia (Fig. 2 y Tabla 7). La distancia promedio entre estas 10 áreas de cría de terneros y el curso de agua natural más cercano fue de 311 m (rango = 20 – 700 m), y la distancia promedio entre estos puntos y las plantas de potabilización de agua localizadas aguas abajo más cercanas fue de 52,95 km (rango = 9 – 108 km). Cuatro de estos cursos de agua, que drenaban establecimientos dentro del conglomerado espacial secundario, fluían río abajo hacia el río Santa Lucía en Canelones, y más abajo hacia dos plantas de potabilización de agua (Santa Lucía y Aguas Corrientes) que se superponían con el conglomerado espacial secundario (Fig. 2 y la Tabla 7). La distancia promedio entre estas 4 áreas de cría de terneros y el curso de agua más cercano fue de 307,5 m, con un rango de 50 – 550 m; las distancias a estas dos plantas de potabilización de agua se muestran en la Tabla 7. Al menos un subtipo zoonótico de *C. parvum* se identificó en 28 de los 29 establecimientos (96,6%), incluidas 9/10 (90%) establecimientos ubicados aguas arriba de una planta de potabilización de agua (Tabla 7).

Tabla 7. Distancia de los establecimientos lecheros con terneros infectados con diferentes subtipos de *Cryptosporidium parvum* y los cursos de agua naturales superficiales y plantas de potabilización localizados aguas abajo.

ID Establecimiento	Distancia de las áreas de cría de terneros al curso de agua natural más cercano (m)	¿El curso de agua fluye aguas abajo hacia una planta de potabilización de aguas superficiales?	Identificación y departamento de planta de potabilización de aguas superficiales	Distancia del curso de agua a la planta de potabilización de agua aguas abajo (km)	Subtipos de <i>C. parvum</i> y terneros	Conglomerado espacial
1	300	No	-	-	*IlaA15G2R1 (7 terneros)	No
2	200	No	-	-	IlaA22G1R1 (2 terneros), *IlaA15G2R1 (1 ternero)	No
3	20	Sí	San Juan, Colonia	30	*IlaA23G1R1 (6 terneros)	No
4	40	No	-	-	*IlaA15G2R1 (3 terneros)	Secundario

5	900	No	-	-	IaA22G1R1 (7 terneros), *IaA15G2R1 (1 ternero)	No
6	265	No	-	-	*IaA15G2R1 (8 terneros)	Secundario
7	250	Sí	Bequeló, Soriano	108	IaA22G1R1 (7 terneros)	Primario
8	50	Sí	Santa Lucía (SL) y Aguas Corrientes (AC), Canelones	25,5 (SL), 36,5 (AC)	*IaA17G2R1 (5 terneros)	Secundario
9	700	No	-	-	*IaA15G2R1 (4 terneros)	Secundario
10	600	No	-	-	*IaA20G1R1 (7 terneros)	Primario
11	500	No	-	-	*IaA20G1R1 (3 terneros)	Primario
12	150	Sí	Bequeló, Soriano	101	*IaA20G1R1 (5 terneros)	Primario

13	620	No	-	-	*IaA20G1R1 (4 terneros), *IaA15G2R1 (1 ternero)	Primario
14	300	Sí	Ecilda, San José	20	*IaA16G1R1 (3 terneros)	No
15	90	No	-	-	*IaA15G2R1 (4 terneros)	Secundario
16	365	No	-	-	*IaA15G2R1 (10 terneros)	Secundario
17	340	No	-	-	*IaA20G1R1 (9 terneros), *IaA15G2R1 (1 ternero)	No
18	450	Sí	SL y AC, Canelones	15 (SL), 26 (AC)	*IaA15G2R1 (5 terneros)	Secundario
19	200	No	-	-	*IaA15G2R1 (5 terneros)	No
20	400	No	-	-	*IaA15G2R1 (3 terneros)	No

						terneros)	
21	860	No	-	-		IaA21G1R1 (4 terneros), *IaA15G2R1 (3 terneros)	Secundario
22	550	Sí	SL y AC, Canelones	9 (SL), 20 (AC)		*IaA15G2R1 (1 ternero)	Secundario
23	50	No	-	-		*IaA15G2R1 (6 terneros)	Secundario
24	430	No	-	-		*IaA15G2R1 (5 terneros)	Secundario
25	460	Sí	Arroyo Grande, Flores	97		*IaA15G2R1 (8 terneros)	No
26	700	Sí	Arroyo Grande, Flores	94		*IaA15G2R1 (4 terneros), *IaA20G1R1 (1 ternero)	No
27	120	No	-	-		*IaA20G1R1 (3 terneros)	Primario

28	120	No	-	-	*IaA20G1R1 (8 terneros)	Primario
29	180	Sí	SL y AC, Canelones	30 (SL), 41 (AC)	*IaA15G2R1 (8 terneros), IaA22G1R1 (1 ternero)	Secundario

* Subtipos que se han encontrado en humanos en otros lugares: IaA15G2R1 (Alves et al., 2006), IaA16G1R1 (Iqbal et al., 2012; Valenzuela et al., 2014), IaA17G2R1 (Hira et al., 2011; Iqbal et al., 2012; Ng et al., 2008), IaA20G1R1 (Segura et al., 2015) y IaA23G1R1 (Khalil et al., 2017).

Información adicional de los establecimientos y áreas de crianza de terneros.

En el año del muestreo (2016), los establecimientos incluidos en el estudio tenían tamaños de rodeos que oscilaban entre 70 y 1260 vacas lecheras y criaban entre 52 y 1342 terneros en áreas de cría de terneros que tenían una superficie de entre 179 y 7500 m². En 24 de los 29 establecimientos (82,8%) los terneros se criaron al aire libre en piso de tierra, ya sea en corrales colectivos (n = 13 establecimientos) o en sistemas de individuales (n = 11 establecimientos), mientras que en 4/29 establecimientos (13,8%) los terneros fueron criados en interiores, en sistemas de alojamiento individuales (n = 2 establecimientos) o colectivos (n = 2 establecimientos) con piso de cemento (n = 3 establecimientos) o de madera (n = 1 establecimiento). En los 24 establecimientos que criaban terneros al aire libre sobre piso de tierra, las heces de los terneros se dejaban en el piso y no se retiraban de forma rutinaria de las áreas de cría de terneros. En los 4 establecimientos que criaban terneros en el interior, el piso de cemento o madera se limpiaba rutinariamente, pero estas instalaciones no tenían un sistema de drenaje sanitario para los desechos líquidos resultantes, que desbordaban a los campos adyacentes. En los 29 establecimientos (100%) la fuente de agua potable para los terneros era agua subterránea sin tratar. La información individual para cada establecimiento y área de cría de terneros se resume en el Anexo 2.

Discusión

En Uruguay, la información sobre *Cryptosporidium* spp. es escasa, pese a que han pasado 34 años (1986), desde que se detectó por primera vez el parásito (Zanetta et al., 1987). *Cryptosporidium* spp. fue identificado como causa de diarrea en niños en 6,15% y 8,9% de la población estudiada en dos estudios independientes (Zanetta et al., 1987; Torres et al., 2001), y fue considerada una enfermedad emergente en el país (Conti Diaz, 2001). Más recientemente, *Cryptosporidium* spp. fue reconocido como un agente causal de SDN en terneros lecheros (Caffarena, 2017), y *C. parvum* fue identificado en cursos de agua poco profundos en áreas industrializadas del país (Rey et al., 2016), siendo esta última la única confirmación de especies de *C. parvum* en Uruguay. Sin embargo, hasta donde sabemos, no hay descripciones de casos de criptosporidiosis de origen zoonótico en el país. Teniendo en cuenta esta información de fondo, nos preguntamos si los terneros serían reservorios de subtipos zoonóticos de *C. parvum* y si representan un riesgo potencial

para la salud pública, ya sea por contacto directo o por contaminación de cursos de aguas superficiales.

Cryptosporidium spp. es una causa importante del SDN en terneros en Uruguay. En un estudio de casos y controles realizado por nuestro grupo, *Cryptosporidium* spp. se identificó mediante ELISA de captura de antígeno en heces de terneros 189/271 (69,7%) diarreicos y 79/285 (27,7%) no diarreicos del 100% de 30 establecimientos lecheros en siete departamentos, los cuales se concentra la producción lechera. Los terneros infectados tenían 6 veces más probabilidades de tener diarrea que los no infectados (Caffarena, 2017). Como se especificó en el Capítulo I de esta tesis, cuando se evaluaron otras causas conocidas, putativas y ocasionales del SDN (incluyendo rotavirus, BCoV, BoAstV, BVDV, *E. coli* F5+ y *S. enterica*), *Cryptosporidium* spp. continuó asociado a la presentación de diarrea. Esto indica que la criptosporidiosis está muy extendida en los terneros, aunque hasta el momento de la realización de esta tesis no se había explorado en Uruguay el rol de los bovinos como reservorio de cepas zoonóticas de *Cryptosporidium*, ya que en los estudios previos no se había realizado la identificación molecular de las especies y subtipos de *Cryptosporidium* que infectan a estos terneros. En este estudio adicional, utilizando en su mayoría el mismo conjunto de muestras, mostramos la amplia distribución de la especie *C. parvum* a nivel de terneros como de los establecimientos, incluso con un tamaño de muestra limitado. El predominio de *C. parvum* es algo esperado y consistente con la edad de los terneros estudiados, ya que esta es la especie más frecuente en animales neonatos (Xiao, 2010). En todas los establecimientos y departamentos incluidos en el estudio, se identificó al menos un subtipo de *C. parvum*, como en otros estudios realizados en Europa (Kváč et al., 2006; Thompson et al., 2006; Broglia et al., 2008; Brook et al., 2009), Australia (O'Brien et al., 2008), Argentina (Tomazic et al., 2013; Del Coco et al., 2014; Lombardelli et al., 2019), Nueva Zelanda (Al Mawly et al., 2015), Brasil (Meireles et al., 2011), Chile (Díaz-Lee et al., 2011) y Colombia (Avendaño et al., 2018). Sin embargo, los resultados difieren de los observados en Suecia (Silverlås et al., 2010), China (Feng et al., 2007; Wang et al., 2011), Canadá (Budu-Amoako et al., 2012) y Etiopía (Wegayehu et al., 2016), donde *C. bovis* fue la especie más frecuentemente reportada en los bovinos de este rango de edad.

El análisis de la secuencia del gen gp60 nos permitió identificar 7 subtipos diferentes de *C. parvum*, todos dentro de la familia IIa, que es ampliamente reconocida por su potencial zoonótico (Xiao et al., 2007). Los subtipos de la familia

Ia difieren entre sí en el número de trinucleótidos que codifican el aminoácido serina, así como en el número de copias del oligonucleótido ACATCA al final de la secuencia (R). Como se observó en otros estudios de Sudamérica, incluidos Argentina (Del Coco et al., 2014; Lombardelli et al.; 2019), Brasil (Meireles et al., 2011), Colombia (Avendaño et al., 2018) y Chile (Peña Frías, 2016), todos los subtipos detectados en nuestro estudio también tenían solo una copia de la secuencia ACATCA (R1), con números de copia variables del trinucleótido TCA (A15, A16, A17, A20, A21, A22 y A23). A diferencia de los estudios de Argentina (Del Coco et al., 2014; Lombardelli et al.; 2019), identificamos dos subtipos con dos copias del trinucleótido TCG (G) , incluido el subtipo IIA15G2R1 que también se ha identificado en Brasil, Chile y Colombia (Meireles et al., 2007; Peña Frías, 2016; Avendaño et al., 2018), como así como el subtipo IIA17G2R1 (Ng et al., 2008; Hira et al., 2011; Iqbal et al., 2012) que hasta ahora —de los países sudamericanos— solo se había identificado en Chile (Peña Frías, 2016) y Brasil (Toledo et al., 2017). En este sentido, nuestro estudio amplía el conocimiento actual sobre los subtipos de *C. parvum* que infectan al ganado en Sudamérica.

De los 7 subtipos identificados en nuestro estudio, 5 habían sido reportados en humanos en otros lugares (Alves et al., 2006; Ng et al., 2008; Hira et al., 2011; Iqbal et al., 2012; Valenzuela et al., 2014; Segura et al., 2015; Khalil et al., 2017) y se consideran zoonóticos. Al menos uno de estos 5 subtipos zoonóticos se detectó en 28 (96,6%) de los 29 establecimientos en todos los departamentos de nuestro estudio, lo que indica una distribución generalizada. Al igual que otros estudios (Broglia et al., 2008; Brook et al., 2009; Duranti et al., 2009; Feng et al., 2013; Rieux et al., 2013 Mammeri et al., 2019), el subtipo más frecuente en nuestro estudio fue el IIA15G2R1. En Sudamérica, este subtipo se ha informado en ganado bovino en Brasil (Meireles et al., 2011), Chile (Peña Frías, 2016) y Colombia (Avendaño et al., 2018), pero no en Argentina (Tomazic et al., 2013; Del Coco et al., 2014; Lombardelli et al., 2019). El segundo y tercer subtipos más frecuentemente identificados en nuestro estudio (IIA20G1R1 y IIA22G1R1) son los más frecuentes de Argentina (Del Coco et al., 2014; Lombardelli et al., 2019). El subtipo IIA17G2R1 encontrado en nuestro estudio se observó en bovinos en Australia (Ng et al., 2011, 2008), Italia (Duranti et al., 2009), Alemania (Broglia et al., 2008), Brasil (Toledo et al., 2017) y Chile (Peña Frías, 2016), así como en humanos en EEUU (Hira et al., 2011), Malasia (Iqbal et al., 2012) y Australia (Ng et al., 2008).

Interesantemente, este subtipo estuvo involucrado en un brote de diarrea en un campamento de verano en EEUU, donde hubo contacto entre humanos y terneros infectados, con la identificación concurrente de este subtipo en muestras de ambas especies (CDC, 2011). En Brasil, este subtipo se encontró en las heces de terneros, así como en el agua de bebida de los mismos establecimientos lecheros (Toledo et al., 2017), lo que sugiere la contaminación y transmisión a través del agua. Hasta donde sabemos, no hay información publicada sobre la identificación de especies o subtipos de *Cryptosporidium* que infecten a personas o cualquier especie animal en Uruguay; por lo tanto, nuestro estudio proporciona información novedosa que podría usarse para enmarcar futuros estudios sobre diagnósticos, epidemiología molecular y evaluaciones de riesgos.

Aunque previa y actualmente, se ha documentado que la infección con *Cryptosporidium* spp. en terneros lecheros en Uruguay se asocia estadísticamente con el SDN (Caffarena, 2017 – Capítulo II de esta tesis), ninguno de los subtipos encontrados en este estudio se asoció estadísticamente con esta manifestación clínica, lo que indica que la diarrea se asocia con infección por *C. parvum* independientemente del subtipo. La falta de asociación entre algunos de estos subtipos de *C. parvum* en terneros recién nacidos en condiciones de crianza similares también ha sido documentada por otros autores (Del Coco et al., 2014; Avendaño et al., 2018; Lombardelli et al., 2019). Estudios adicionales son necesarios para determinar la posible implicancia de diferentes subtipos en términos de su patogenicidad y dilucidar la epidemiología de la criptosporidiosis bovina.

A pesar de la amplia distribución geográfica y la diversidad de subtipos encontrados en nuestro estudio, se detectaron dos conglomerados espaciales. En el conglomerado primario, hubo un mayor riesgo de que las granjas tengan los subtipos IIaA20G1R1 y IIaA22G1R1. En el conglomerado secundario hubo un mayor riesgo de subtipos IIaA15G2R1, IIaA17G2R1 y IIaA21G1R1. Las diferencias geográficas en las especies y subtipos de *Cryptosporidium* se han descrito durante mucho tiempo (Alves et al., 2006; Tiranti et al., 2012; Cacciò et al., 2015). En nuestro estudio, uno de los conglomerados estaba ubicado al norte y el otro al sur del Río Negro. Este río podría tener implicancias como una barrera geográfica natural, lo que ayudaría a explicar estas diferencias, también teniendo en cuenta que el movimiento de ganado a través de este río está controlado por una barrera sanitaria por el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Además, este conglomerado al norte del Río Negro, adyacente a Argentina, contenía los mismos subtipos que son más frecuentes en ese

país. El conglomerado ubicado en el sur de Uruguay presentó el subtipo más frecuente en casos de zoonosis a nivel mundial (IIaA15G2R1), así como uno involucrado en un brote de criptosporidiosis en un campamento de verano en el cual este subtipo (IIaA17G2R1) se identificó tanto en muestras de humanos como de los animales (terneros, cabritos y lechones) (CDC, 2011) y, en otro trabajo, también se encontró en muestras de agua (Toledo et al., 2017). Como sugieren otros autores, el origen de los animales, las fuentes de infección y las prácticas de manejo probablemente determinan que en algunas áreas hay mayores frecuencias de ciertos subtipos (Del Coco et al., 2014; Cacciò et al., 2015). Curiosamente, uno de los conglomerados espaciales identificados en nuestro estudio se superpuso con el área metropolitana más poblada de Uruguay, que incluye la ciudad capital, Montevideo. La identificación de la distribución geográfica y de los conglomerados espaciales de los subtipos de *C. parvum* facilitan la identificación de áreas de riesgo tanto para animales como para humanos.

Debe considerarse que los movimientos de ganado, ya sea dentro de Uruguay o internacionalmente, podrían eventualmente determinar el cambio geográfico de diferentes subtipos de *C. parvum* a lo largo del tiempo. En Uruguay, aproximadamente el 16% de los productores lecheros envían sus terneros a campos de recría, establecimientos que agrupan a decenas de miles de terneros de varios establecimientos diferentes (Costa et al. 2010). Una vez que las vaquillonas alcanzan la pubertad, son servidas, preñadas, y enviadas de regreso a sus establecimientos de origen antes del parto. A su vez, los terneros lecheros machos recién nacidos generalmente se venden y transportan a establecimientos donde se crían para la producción de carne. Esto indica que los subtipos de *C. parvum* detectados en los conglomerados espaciales en este estudio podrían extenderse potencialmente a otras regiones geográficas del país.

Del mismo modo, el comercio internacional de ganado representa una forma potencial de diseminación transfronteriza de *C. parvum* y otros patógenos. Desde 2008 a 2016, Uruguay exportó más de 1,5 millones de cabezas de ganado vivo a Turquía (53%), Egipto (15%), China (14%), Brasil (5%), Líbano (3%) y otros destinos (9%) (CPA Ferrere, 2017). Muchos de los subtipos zoonóticos de *C. parvum* identificados en nuestro estudio tienen una ocurrencia limitada o no se han identificado en especies de ganado en países que importan ganado de Uruguay. Por ejemplo, los estudios realizados en Turquía muestran que el subtipo más común hallado en nuestro estudio es relativamente infrecuente y que el resto de los subtipos

no se han detectado en ese país (Arslan & Ekinci, 2012; Taylan-Ozkan et al., 2016; Sayin Ipek, 2017; Kabir et al., 2020; Yildirim et al., 2020). En Egipto ocurre una situación similar, habiéndose sólo identificado el subtipo IIaA15G2R1 en un número limitado de muestras y no al resto de los subtipos identificados en Uruguay (Amer et al., 2010; Amer et al., 2013; Helmy et al., 2013; Mahfouz et al., 2014). En China, hay una gran diversidad de *Cryptosporidium* spp. y subtipos, y los subtipos dominantes de *C. parvum* detectados en este país rara vez se detectan en otros países. El único subtipo detectado en China que también se detectó en Uruguay, corresponde al IIaA15G2R1, que estaba restringido geográficamente a la provincia de Qinghai (Gong et al., 2017). Por lo tanto, el comercio internacional brinda una posibilidad de propagación transcontinental de los subtipos aquí encontrados.

Debido a que *Cryptosporidium* es uno de los parásitos transmitidos por el agua más importantes del mundo (Efstratiou et al., 2017), y dado el riesgo de contaminación de ambientes acuáticos por animales infectados (Carey et al., 2004; Budu-Amoako et al., 2012), evaluamos la distancia entre las áreas de crianza de terneros y los cursos de agua superficiales naturales más cercanos. Esto se realizó considerando la ruta de drenaje natural más corta de los campos, así como también si estos cursos de agua fluirían aguas abajo hacia las plantas públicas de potabilización de agua que colectan agua superficial para el consumo humano. Este enfoque reveló algunas observaciones interesantes. Por ejemplo, encontramos que los cursos de agua, a los cuales drenaban 4 establecimientos en el conglomerado espacial secundario, drenaban río abajo hacia el río Santa Lucía y, más abajo, hacia la planta de potabilización de agua de Aguas Corrientes, la cual también se encontraba dentro del conglomerado espacial secundario. Aguas Corrientes es la principal planta de potabilización de agua del país, suministrando agua potable a aproximadamente 1,7 millones de personas en el área metropolitana más grande de los departamentos de Montevideo y Canelones (OSE, 2020). Las crianzas de estos 4 establecimientos, que albergaban a 19 terneros infectados con los subtipos zoonóticos IIaA17G2R1 y IIaA15G2R1, estaban a 50, 180, 450 y 550 m de distancia de sus respectivos cursos de agua superficiales más cercanos. La crianza de terneros más cercana a un curso de agua natural (20 m) estaba en el establecimiento 3, que contenía 6 terneros infectados con el subtipo zoonótico IIaA23G1R1. Este curso de agua fluye hacia la planta de potabilización de agua de San Juan en el departamento de Colonia. Además, debe señalarse que todos los cursos de agua en donde drenan los campos en este estudio eventualmente desembocan río abajo, al Río Uruguay y/o

Río de La Plata, que bordean la costa de playas recreativas de agua dulce en los departamentos de Río Negro, Soriano, Colonia, San José, Montevideo y Canelones.

Estudios que evaluaron la presencia y la concentración de ooquistes de *Cryptosporidium* en cursos de agua superficiales, ubicados aguas arriba y aguas abajo de establecimientos con bovinos encontraron mayores proporciones y concentraciones de ooquistes en muestras aguas abajo, lo que sugiere que el ganado representa una fuente de contaminación de aguas superficiales con este parásito (Ong et al., 1996; Budu-Amoako et al., 2012). En uno de estos estudios, los cursos de agua naturales se ubicaron dentro de los 500 m de las instalaciones de alojamiento del ganado (Budu-Amoako et al., 2012). Basados en esta información, es razonable especular que el agua que drena de las áreas donde se crían los terneros en nuestro estudio (particularmente aquellas que albergan terneros al aire libre sobre piso de tierra, donde no hubo eliminación o algún tipo de tratamiento de las heces) podría eventualmente actuar como un vehículo para los ooquistes de *C. parvum* hacia los respectivos cursos de agua naturales, por ejemplo, después de fuertes lluvias con un aumento de la escorrentía superficial, o en caso de inundaciones. Tomados en conjunto, nuestros resultados indican que la contaminación del agua por ooquistes de subtipos zoonóticos de *C. parvum* eliminados por el ganado en Uruguay, es una situación probable y podría representar un riesgo potencial para la salud pública si las personas están expuestas a cursos de agua naturales, o si el agua se usa para beber, recreación, o el riego de cultivos no se trata adecuadamente.

Las inundaciones son eventos frecuentes en Uruguay; en 2015 y 2016, el fenómeno de El Niño causó condiciones climáticas extremadamente inestables en la región, haciendo que los ríos aumenten su altura y desborden. En 2016, el mismo año del muestreo en nuestro estudio, la precipitación acumulada en el país fue de 1268 mm, 207 mm (19,5%) más alta que la precipitación acumulada anual promedio en la década anterior (2006-2015), que fue de 1061 mm (INIA-GRAS, 2020). En abril de 2016, las fuertes lluvias y un tornado causaron inundaciones y miles de víctimas de inundaciones en todo el país (IFRC, 2016). Tales condiciones climáticas extremas facilitan la contaminación ambiental con patógenos transmitidos por el agua.

Además, el agua superficial en Uruguay es utilizada por los agricultores para regar cultivos, lo que también podría representar una posible fuente de transmisión de *C. parvum* a los humanos a través de suelos y vegetales contaminados (Hong et al., 2014; Aliberti, 2017). Otra forma potencial de exposición de los humanos al

agua dulce superficial no tratada es la recreación. Actividades como la natación, la navegación a vela, el kayaking, el canotaje, la pesca, el esquí acuático, el windsurf y el kiteboarding se practican comúnmente en Uruguay tanto por habitantes como por turistas, que en 2016 Uruguay representaron más de 3,3 millones de turistas (Uruguay Natural, 2017). Además, el agroturismo se está expandiendo en el país, y algunos establecimientos ofrecen experiencias prácticas con el ganado, como ordeñar vacas o arrear ganado (Ministerio de Turismo del Uruguay, 2020). Cabe señalar que se han documentado brotes humanos de criptosporidiosis con transmisión probada de *C. parvum* de bovinos a humanos en eventos de pastoreo recreativo de primavera en Suecia (Alsmark et al., 2018).

La contaminación del agua probablemente perpetúa el ciclo de transmisión de la criptosporidiosis en el ganado bovino en Uruguay. En todos los establecimientos incluidos en este estudio, los terneros recibían agua subterránea sin tratar (Anexo 2). En un estudio anterior, encontramos ARN de rotavirus del grupo A (RVA), así como partículas de RVA viables e infecciosas en fuentes de agua potable administradas a terneros lecheros neonatos en establecimientos lecheros uruguayos (Castells et al., 2018). Esto indica que el agua probablemente actúa como vehículo en la transmisión de agentes causantes de diarrea neonatal de terneros que son menos resistentes en el medio ambiente que los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. Desafortunadamente, no hemos podido validar pruebas de laboratorio para identificar eficientemente *Cryptosporidium* spp. en muestras de agua, aunque este representaría un paso necesario para evaluar la contaminación de las aguas.

En Uruguay, el 90% del agua tratada por plantas de potabilización se obtiene de fuentes superficiales y se somete a un tratamiento convencional, un proceso fisicoquímico que consta de 6 fases: A- pretratamiento, B- coagulación con sulfato de aluminio, C- floculación, D- sedimentación (o flotación), E- filtración y F- desinfección (cloración) (OSE, 2020b). Los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. pueden eliminarse físicamente de los suministros de agua mediante procesos convencionales de separación de partículas que incluyen coagulación-floculación química, sedimentación y filtración en medios granulares (Betancourt & Rose, 2004). Aunque el tratamiento convencional de agua puede ser efectivo para reducir cargas de ooquistes de *Cryptosporidium* spp., la efectividad depende de la concentración inicial de ooquistes en la fuente de agua. Es posible que se requieran procesos físicos y químicos especiales adicionales, como la microfiltración o ultrafiltración de membrana impulsada por presión, o procedimientos especiales de

desinfección, como el tratamiento con ozono o irradiación con luz ultravioleta, para inactivar los ooquistes de *Cryptosporidium* spp., ya que el parásito es altamente resistente a la cloración, incluso a dosis muy altas con tiempo de contacto prolongado (Betancourt & Rose, 2004). Hasta donde sabemos, dichos procedimientos no están disponibles en las plantas de tratamiento de agua uruguayas y el agua potable en el país no se analiza específicamente para detectar *Cryptosporidium* spp. antes, durante o después del proceso de potabilización. En otros países, los principales brotes humanos de criptosporidiosis transmitidos por el agua se han relacionado con evidencias de tratamiento subóptimo de agua (Widerström et al., 2014).

Conclusiones

Los terneros son reservorios de subtipos zoonóticos de *C. parvum*, siendo los más frecuentes IIaA15G2R1 y IIaA20G1R1. Los conglomerados espaciales de subtipos zoonóticos de *C. parvum* que se superponen con áreas metropolitanas y los cursos de agua superficiales que fluyen hacia las plantas de potabilización de agua para consumo humano, plantea una preocupación por la posible transmisión zoonótica a través del agua.

Capítulo III: Estimación de las pérdidas económicas debidas a mortalidad de terneras lecheras

Resumen

La cría y recría de las hembras de reemplazo es esencial en los establecimientos lecheros para mantener la tasa de reposición anual y así mantener o crecer en existencias, dependiendo de los objetivos productivos propuestos. Sin embargo, como se mencionó previamente, en los últimos años el stock nacional no ha crecido de manera significativa, en parte debido a la elevada mortalidad neonatal en los rodeos uruguayos y al desconocimiento del lucro cesante que la misma ocasiona. Mediante un modelo bioeconómico desarrollado en una hoja de cálculo se simuló la vida productiva de una hembra lechera durante toda su vida útil bajo las situaciones de manejo y alimentación promedio de los establecimientos lecheros uruguayos. Se realizó una recopilación de la información disponible a nivel nacional, desde el nacimiento hasta el fin de la vida útil del animal, a través de bibliografía publicada y consultoría a expertos nacionales en sistemas de producción lechera. El costo total de criar una ternera desde el nacimiento hasta su desleche a los 75 días de vida fue de US\$ 129,74 (US\$ 1,77 ternera/día) y desde el nacimiento hasta el primer parto a los 33 meses de vida de US\$ 589,89 (US\$ 0,58/día), siendo los costos de alimentación y de mano de obra los principales contribuyentes al costo total durante estos períodos. La edad al repago de una hembra lechera en las condiciones productivas de Uruguay fue de 52,7 meses de vida (en el 4° mes de su segunda lactancia). El lucro cesante de una ternera que muere durante la etapa de crianza fue, en promedio, de US\$ 2678,6. Los resultados del modelo sugieren que la cría y recría de hembras de reemplazo en Uruguay es relativamente de bajo costo; sin embargo, esto se traduce en crías y recrías ineficientes dada la elevada edad al 1° parto registrada. En base al lucro cesante estimado y la mortalidad de terneras hembras reportada en Uruguay, hubo una pérdida de US\$ 64.382.829 solamente a nivel del sector primario entre los años 2014 – 2020. Las prácticas de manejo que determinen una menor mortalidad de terneras en la crianza y una mejor eficiencia de la crianza y recría tendrán un impacto económico positivo para los productores lecheros uruguayos y el país.

Introducción

Las existencias nacionales de ganado lechero no han evidenciado un crecimiento significativo en los últimos años (período comprendido entre 2006-2007

y 2017-2018= 0,3%/año) (MAGP-DIEA, 2019). Específicamente en la categoría de terneras lecheras, entre 2016 y 2020, ocurrió una disminución de -1,6%/año (Ministerio de Ganadería, 2020). Parte de esta situación es debida a la elevada mortalidad de terneros entre el parto y el desleche que experimentan los establecimientos lecheros uruguayos (Schild et al., 2020).

La cría y recría de terneras es una etapa esencial, tanto individualmente para el animal desarrolle todo su potencial genético, como a nivel empresarial, ya que de una buena estrategia de reemplazos depende la producción futura de los establecimientos. Sin embargo, teniendo en cuenta los datos generados a nivel nacional, se infiere que estas etapas no son prioritarias para los productores, ya que, además de la elevada mortalidad, las ganancias de peso registradas son bajas (Costa et al., 2010), las recrías son largas y la edad al primer parto elevada (Fernando Sotelo 2019, MU, comunicación personal). Estas situaciones se alejan de los objetivos productivos y de desempeño animal propuestos por la bibliografía y, por ende, determinan una menor eficiencia global y rentabilidad del sistema lechero.

Esta categoría, la cual constituye una de las etapas improductivas en la vida del animal, ha sido motivo de varios estudios, ya que sus costos representan el segundo mayor costo contribuyente al costo total de un establecimiento lechero (Tozer & Heinrichs, 2001). Además si no se lleva un registro detallado de los costos de la cría y recría, estos se pierden en el costo global del establecimiento (Gabler et al., 2000; Tozer & Heinrichs, 2001; Mohd Nor et al., 2012; Heinrichs et al., 2013; Boulton et al., 2017). La mayoría de los trabajos incurre en el costo de criar los animales sin tener en cuenta el lucro cesante ante la muerte de las terneras, es decir, cuánto se deja de ganar a futuro por la pérdida de ese animal.

A nivel regional, en Argentina y Brasil, hay algunos trabajos e informes técnicos publicados (Berra & Osacar, 2012; Santos & Lopes, 2014; Dos Santos & Beloni, 2016; Martin & Demateis, 2017), pero generalmente acotados a la modelización de un establecimiento y, como se mencionó previamente, sin tener en cuenta el lucro cesante de los animales que mueren.

Teniendo en cuenta los datos generados en la encuesta realizada por el INALE en el 2014 (Jorge Artagaveytia, INALE, comunicación personal, 2020), la mortalidad reportada por Schild et al. (2020) representó una gran cantidad de terneros (en el orden de decenas de miles). Por lo tanto, conocer el impacto económico que tiene esa pérdida de animales a nivel de la producción primaria

representa un debe para la lechería uruguaya y, posiblemente, actúe de disparador para la toma de medidas, tanto a nivel nacional como predial.

El objetivo de esta sección es estimar las pérdidas nacionales para el sector primario usando un modelo determinístico dinámico de simulación económica en base a datos nacionales.

Materiales y Métodos

Diseño del modelo y supuestos

En una planilla de Microsoft Excel se diseñó un modelo que representa los eventos sanitarios, productivos y reproductivos de una hembra lechera a lo largo de su vida útil (sobre la base de datos de entrada del modelo) determinando resultados productivos y económicos (datos de salida), partiendo del supuesto de que el impacto económico de la pérdida de terneras en sistemas lecheros radica en la merma productiva esperada a futuro (lucro cesante).

Con el objetivo de modelizar la situación promedio de los establecimientos uruguayos se hizo un análisis basado en los costos detallados de la crianza de terneras a través de un proceso integral de recopilación, captura y análisis de datos (Gabler et al., 2000; Razzaque & Mohammed, 2010; Boulton et al., 2017) en base a la información recabada por Schild (2017; 2020) respecto de las características de los sistemas de crianza prevalecientes en Uruguay. Estas fuentes se complementaron con la información aportada por INALE (2014), fuentes bibliográficas e internet, así como también con la colaboración de un grupo de expertos en sistemas de producción lechera y economía. Se tuvieron en cuenta datos como el tipo de sistema de crianza utilizado, el tipo de dieta líquida (ej. sustituto lácteo o leche) y sólida ofrecidas, la cantidad de días que los terneros permanecen en la guachera, los eventos de salud ocurridos, el costo de la mano de obra, la depreciación del equipo y la infraestructura y el manejo sanitario y reproductivo.

La modelación de la hembra fue realizada en base a etapas (Crianza, Recría 1, Recría 2, Recría 3, Lactancia 1, Vaca seca 1, Lactancia “n”, Vaca Seca “n”), cuya transición está definida por los siguientes eventos: nacimiento (inicio de la etapa de Crianza), desleche (inicio de la etapa de Recría 1), pubertad (inicio de la etapa de Recría 2), preñez (inicio de la etapa de Recría 3), Parto 1 a “n” (inicio de la etapa de Lactancia 1 a “n”), y secada (inicio de la etapa de Vaca Seca 1 a “n”). Dentro de cada etapa se determinaron dietas diferentes, distinta proporción de mano de obra y recursos forrajeros, diferente manejo sanitario y distinta mortalidad, ganancia de

peso y producción láctea (etapas de lactancia). La mortalidad entre el nacimiento y el desleche se obtuvo del trabajo de Schild et al. (2020), siendo de 15,2% anual. Al igual que lo propuesto por otros autores (Boulton et al., 2017), el costo por un animal muerto (el cual varía según la etapa en que muera) fue asumido por los que continúan vivos. Se asumió una duración de la gestación de 280 días (Norman et al., 2009) y que no ocurre aborto (Mohd Nor et al., 2012). La edad a la concepción se calculó restando el periodo gestacional a la edad promedio al primer parto, obtenida de los registros del MU (Fernando Sotelo 2019, MU, comunicación personal). El costo de oportunidad se calculó sobre la probabilidad de tener un 50% de terneras hembras. Como el objetivo es modelar la vida productiva de una sola hembra lechera, el modelo asume que las crías nacidas, ya sean machos o hembras, son vendidas tempranamente luego del parto, por lo que se computa un valor promedio de la venta de ambos. Con respecto al peso del animal, se asume que hay ganancia de peso desde el nacimiento hasta la etapa de Vaca Seca 1 que es donde llegaría a su peso adulto, y a partir de ahí se considera un peso vivo estabilizado.

Los ingresos por la producción de leche se estimaron en base al rendimiento por lactancia (Boulton et al., 2017) multiplicado por el precio de la leche en mercado que se le paga al productor (US\$/L). La unidad básica de tiempo utilizada fue el mes (30 días).

No se consideraron en el análisis a las variables tributarias ni el costo de oportunidad para el capital monetario ni la tierra; por lo tanto, solo se midió el impacto directo.

El impacto económico de la pérdida de terneras se determinó calculando el valor presente o actualizado de la producción futura que se deja de obtener, menos los costos directos que se evitan (alimentación, sanidad, mano de obra, reproducción, etc). Se presentan los resultados obtenidos para las hembras exclusivamente, que son las futuras productoras de leche, sin considerar el impacto de la mortalidad de terneros machos.

El valor actual (VA) corresponde a la siguiente expresión:

$$VA = \sum_{vida\ útil}^{n=1} \frac{Sf_n}{(1+i)^n}$$

Siendo “n” la vida útil del animal expresada en meses, “Sf_n” cada uno de los saldos (ingresos – egresos) del mes “n”, e “i” la tasa de interés periódica asignada como tasa de descuento. En este trabajo se consideró que la tasa anual de descuento

corresponde a un costo de oportunidad estimado en 5%, lo cual significa 0,4167% mensual (tasa periódica). Es decir que $i = 0,004167$.

Datos de entrada

Datos de entrada genéricos (precios, instalaciones y equipos)

El modelo permite almacenar diferentes series de precios (históricos, actuales, proyectados) y seleccionar cuál de ellos aplicar. Para la realización de esta tesis se asignaron los precios actuales o históricos que se indican a continuación:

- Mano de obra: 14955 US\$/año (INALE, 2014). Suponiendo una jornada laboral promedio de 8 horas diarias y 280 días laborables por año se obtienen 2240 horas laborables/año, por lo que el salario queda establecido en 6,68 US\$/hora por persona en la etapa de crianza.
- Dieta líquida en la etapa de crianza: 2,21 US\$/kg de sustituto lácteo (Productores de Leche S.A. - PROLESA). Asumiendo que se obtienen 10 litros de formulado por kg de producto, el costo por litro de formulado queda en 0,221 US\$/litro. Con respecto a la leche no comercial, se asumió un valor correspondiente con el costo de producción lo que representó un 53-65% del valor en dólares del L de leche de tanque comercial pagado al productor. Este costo se recalculó teniendo en cuenta que el 32,7% de los establecimientos ofrece sustituto lácteo a los terneros, el 26,9% leche de tanque y el resto leche no comercial (Schild et al., 2020),
- Costo de calentamiento de la dieta líquida en la etapa de crianza: se estableció en 0,015 US\$/litro de formulado (adaptado a partir de los datos de Berra & Osacar, 2012). Corresponde al consumo de energía necesario para calentar 1 L de leche no comercial/sustituto lácteo de 25 a 40°C. Este costo se recalculó teniendo en cuenta que el 43,1% de los tambos de Uruguay efectúan este calentamiento (Schild, 2017).
- Concentrados: en todas las etapas se considera que el concentrado posee 85% de materia seca (MS). El precio del concentrado tal cual y su costo por kg de MS en cada etapa es el siguiente (PROLESA):
 - Crianza: 360 US\$/Ton – 0,4235 US\$/kg MS.
 - Recría 1: 340 US\$/Ton – 0,4 US\$/kg MS.
 - Recría 2 y 3, Lactancias y Vaca Seca: 280 US\$/Ton – 0,3294 US\$/kg MS.

- Heno: en todas las etapas se considera un costo del fardo redondo de 12,2 US\$, con 360 kg MS/fardo (es decir, 0,0339 US\$/kg MS) (PROLESA; INALE; consultores expertos). Este costo solo tiene en cuenta el costo de la confección (maquinaria), el costo del forraje se incluye dentro del costo de la pastura.
- Praderas permanentes: las pasturas que se asignen a las etapas de recría, lactancia o vaca seca, tienen un costo de implantación de 350 US\$/ha, una vida útil estimada en 2 años y una producción anual disponible al consumo de 4291 kg MS/ha. Costo/kg MS = $350/2/4291 = 0,041$ US\$/kg MS (PROLESA; INALE; consultores expertos).
- Valor leche cruda: 0,30 US\$/litro (INALE).
- Valor de venta de la ternera (hembra): 100 US\$/cabeza (consultores expertos, casa de remates).
- Valor de venta del ternero (macho): 22 US\$/cabeza (consultores expertos).
- Valor de venta de la vaca de descarte: 600 US\$/cabeza (consultores expertos, casa de remates).
- Precios de insumos, de servicios de sanidad y costos reproductivos: se detallan en cada etapa.

Con respecto a las inversiones, se parte del supuesto que son realizadas al inicio de la etapa en la cual son requeridos; por ejemplo, los costos del equipo de ordeño se imputan al inicio de la primera lactancia. Al finalizar la vida útil del animal se imputa como ingreso el valor residual que en ese momento tendrían los bienes durables o de uso existentes. En cada etapa se especifican los parámetros considerados para el flujo de fondos.

El cálculo del valor residual activo (VRA) de los bienes de uso surge de la siguiente ecuación:

$$VRA = (VN - VRP) \cdot \frac{\text{duración futura}}{\text{vida útil}} + VRP$$

Donde VN es el valor a nuevo del bien y VRP el Valor Residual Pasivo.

Datos de entrada específicos por etapas

Etapa de crianza

En esta etapa se asumió una duración de 75 días (Schild et al., 2020), en la cual la ternera pasa de 37 kg (peso al nacer) a 70 kg (aumento diario de peso vivo -

ADPV- = 0,452 kg), basado en el peso al nacimiento de una ternera Holstein y un ADPV correspondiente a un sistema de alimentación convencional. Se considera una mortalidad de 15,2% (Schild et al., 2020).

Para la asignación del costo del personal se consideró que pueden desarrollarse 5 cohortes de terneras por año (365/75 días) y que, en cada cohorte, en promedio, habría aproximadamente 91 terneras atendidas por una persona (INALE, 2014). Entonces el costo de la mano de obra por cabeza es:

$$\frac{\text{Salario anual}}{\left(\frac{\text{Cohorte}}{\text{año}} \times \frac{\text{Animales}}{\text{Cohorte}}\right)} = \frac{\text{US\$ } 14955}{5 \times 90,8} = 32,94 \text{ US\$/cabeza}$$

Esto equivale a 4,93 horas/cabeza/año o a que una persona atiende 454 terneras al año.

El costo del calentamiento (consumo de energía eléctrica o combustible) se estableció en 0,015 US\$/L de sustituto lácteo/leche (comercial o no comercial) suministrado, pero, dado que sólo un 43,1% de los establecimientos calientan el sustituto lácteo/leche (Schild 2017) y, teniendo en cuenta que se pretende reflejar una situación promedio de los tambos del país, se asignó el 43,1% del costo. Como el consumo total de sustituto por cabeza es de 281,3 L de formulado, entonces el costo de calentamiento es de $0,015 \times 0,431 \times 281,3 \text{ L} = 1,82 \text{ US\$/cabeza}$.

Con respecto a la dieta líquida, se administra durante los primeros 66 días de vida de los cuales se ofrecen 4,5 L/día (Schild 2017) en los primeros 59 días y 2,25 L/día en los últimos 7 días, siendo el promedio ponderado: 4,261 L diarios o como se mencionó previamente, 281,25 L en toda la etapa de crianza. Al precio de 0,221 US\$/L de formulado resulta un costo de 62,16 US\$/cabeza.

El alimento iniciador se suministra a razón de 0,7 kg MS/día durante toda la etapa de crianza. Del precio del concentrado, de 0,4235 US\$/kg MS (PROLESA), surge un costo de $0,7 \times 75 \text{ días} \times 0,4235 = 21,64 \text{ US\$/cabeza}$.

El heno se suministra en cantidad de 0,1 kg de MS por día durante toda la etapa, que, para un fardo redondo de 360 kg de MS significa 0,02 fardos por cabeza para toda la etapa ($0,1 \times 73 \text{ días} / 360 \text{ kg}$). Al precio de 12,2 US\$/fardo redondo, el costo es de 0,25 US\$/cabeza.

Con respecto a la sanidad incurrida en esta etapa, se imputan costos de la desinfección del ombligo de 0,2 US\$/tratamiento (1 L de tintura de yodo al 7% = US\$ 39,48; dosis/animal = 5 ml; US\$/dosis = 0,2) y honorarios veterinarios de 5,14 US\$/cabeza (se asumieron 12 medias jornadas/año; US\$ media jornada = 194,59;

total de terneros = 454; US\$ 2335,09 total honorarios/454 animales = US\$ 5,14 honorario/cabeza), englobados como sanidad preventiva.

Solo se computó al SDN como enfermedad, basado en lo observado por Schild et al. (2020) y datos de la PSA. Se asumió una morbilidad del 27,6% (PSA), por lo que la ecuación correspondiente al costo del tratamiento del SDN es la siguiente:

$$\text{Sanidad curativa} = \text{costo tratamiento de diarrea} \left(\frac{\text{US\$}}{\text{tratamiento}} \right) \times \text{Morbilidad diarrea} \left(\frac{\text{enfermos}}{\text{población en riesgo}} \right)$$

Se asumió que cada tratamiento de diarrea tenía un costo de US\$ 18,78, desglosado de la siguiente manera:

- Antiinflamatorio no esteroideo durante 3 días (cantidad de dosis: 3; US\$ 0,51/dosis) (PROLESA; consultores externos).
- Antibiótico durante 5 días (cantidad de dosis: 5; US\$ 0,23/dosis) (PROLESA; consultores externos).
- Sales rehidratantes orales durante 4 días (Cantidad de dosis: 4; US\$ 2,73/dosis) (PROLESA; consultores externos).
- Protector de la mucosa gastrointestinal durante 3 días (cantidad de dosis: 3; US\$ 1,71/dosis) (PROLESA; consultores externos).

Las inversiones tomadas en cuenta durante esta etapa fueron las estacas y termotanques como se detalla en la Tabla 8:

Tabla 8. Inversiones en bienes de uso en crianza.

Descripción	VN	VRP	Cantidad	Inversión total	VU	Cabezas/unidad/año	Cabezas prorrateo	Inversión/Cabeza	VRP/Cabeza
Estacas	5	0	1	5	4	5	20	0,25	0
Termotanque	400	0	1	400	4	600	2400	0,17	0
Total				405				0,42	0

VN: valor a nuevo; VRP: valor residual pasivo; VU: vida útil (años).

Una vez finalizados los 75 días de la crianza (momento del desleche) se continúa con la siguiente etapa.

Recría 1

Esta etapa comienza con un animal de 76 días de vida y finaliza cuando el mismo cumple los 180 días (duración total de la etapa: 107 días). Durante esta etapa las terneras pasan de 70 kg a 120 kg (ADPV = 0,467 kg). Se asigna una mortalidad de 0,5%.

Para la determinación del costo del personal se estimó que una persona atiende 868 animales por año, pero como esta etapa dura menos de 1 año, se calcula la parte proporcional que le correspondería de la siguiente manera:

$$\frac{\text{Horas laborables/Año}}{\text{cabezas/persona}} \times \frac{\text{Duración etapa}}{365} = \frac{2240 \text{ h}}{868} \times \frac{107 \text{ d}}{365} = \frac{0,757 \text{ h}}{\text{cabeza}} / \text{etapa}$$

Multiplicando 0,757 horas por el salario por hora (6,68 US\$/hora) se obtiene 5,05 US\$/cabeza, que sería el costo de la mano de obra.

Para el cálculo de la alimentación se partió del supuesto de un consumo total de MS diario del 2,7% del peso vivo (esto representa 2,57 kg MS diarios considerando el peso medio del animal durante esta etapa).

- **Concentrado:** corresponde al 50% de la dieta diaria (es decir 1,28 kg de MS/día). Considerando un precio de 0,4 US\$/kg MS de concentrado se obtiene un costo por animal de 54,89 US\$ para los 107 días que dura la etapa.
- **Pradera permanente:** aporta el 24% del consumo total de MS, lo que significa 0,62 kg de MS por día de pastura. Con un costo del kg de MS de pastura de 0,041 US\$ surge un costo de pastura de 2,69 US\$/cabeza en esta etapa.
- **Heno:** se suministra el 24% de la dieta diaria en MS, lo que significa 0,183 fardos redondos para toda la etapa. Al precio de 12,2 US\$/fardo (0,034 US\$/kg MS), el costo del heno es de 2,23 US\$/cabeza.
- **Campo natural:** se incorpora una participación de campo natural del 2% de la dieta diaria, lo que equivale a 0,05 kg MS/día. Dado que en este análisis no se incorporan costos de oportunidad, el campo natural se considera sin costo.

Con respecto a los costos sanitarios, se consideró dentro de la sanidad preventiva la vacunación contra enfermedades clostridiales (2 dosis; US\$ 0,505/dosis),

carbunclo (1 dosis; US\$ 0,420/dosis) y aftosa (1 dosis, sin costo), 3 desparasitaciones (3 dosis; US\$ 0,107/dosis) y honorarios veterinarios (US\$ 0,68/cabeza).

La principal inversión considerada en esta etapa fueron las aguadas como se detalla en la Tabla 9:

Tabla 9. Inversiones de uso en recría 1.

Descripción	VN	VRP	Cantidad	Inversión total	VU	Cabezas/unidad/año	Cabezas prorrateo	Inversión/Cabeza	VRP/Cabeza
Aguadas	14000	0	1	14000	20	130	2600	5,38	0
Total				14000				5,38	0

VN: valor a nuevo; VRP: valor residual pasivo; VU: vida útil (años).

Recría 2

Durante esta etapa la vaquillona pasa de 120 kg a 350 kg (ADPV = 0,383 Kg), ingresando con una edad de 181 días y finalizando con 780 días (duración total de la etapa: 600 días). Se asigna una mortalidad de 1%. Durante esta etapa ocurre la primera preñez (Fernando Sotelo 2019, MU, comunicación personal).

Al igual que en la Recría 1, para la determinación del costo del personal se estimó que una persona atiende 868 animales por año. Dado que esta etapa dura más de 1 año, se ajusta el cálculo en función de dicha duración:

$$\frac{\text{Horas laborables/año}}{\frac{\text{Cabezas}}{\text{persona}}} \times \frac{\text{Duración etapa}}{365} = \frac{2240 \text{ hs}}{868} \times \frac{600 \text{ d.}}{365} = 4,24 \frac{\text{horas}}{\text{cab}}/\text{etapa}$$

Multiplicando 4,24 horas por el salario por hora (US\$ 6,68) se obtiene un costo de la mano de obra de 28,32 US\$/cabeza.

Al igual que en la etapa anterior, se supuso un consumo total de MS diaria del 2,7% del peso vivo por día (lo que representa 6,35 kg MS diarios considerando el peso medio del animal durante esta etapa).

- Concentrado: representa el 5% de la dieta diaria (es decir 0,32 kg de MS/día). Al precio de 0,329 US\$/kg MS de concentrado para esta etapa se obtiene un costo por animal de US\$ 62,7 para los 600 días que dura la etapa.
- Pradera permanente: aporta el 42% de la dieta en MS, lo que significa 2,66 kg de MS por día de pastura. Con un costo del kg de MS de pastura de US\$ 0,041, esto representa un costo de pastura de 65,21 US\$/cabeza.
- Heno: representa el 18% del consumo diario de MS, lo que equivale a 1,904 fardos redondos por animal para toda la etapa. Al precio de 12,2 US\$/fardo (0,034 US\$/kg MS), el costo del heno es de 23,22 US\$/cabeza.
- Campo natural: aporta el 35% de la dieta diaria, lo que equivale a 2,22 kg MS/día. Como se mencionó anteriormente, se considera sin costo.

Con respecto a los costos sanitarios se consideró dentro de la sanidad preventiva la vacunación contra enfermedades clostridiales (4 dosis; US\$ 0,505/dosis), carbunco (1 dosis; US\$ 0,420/dosis) y aftosa (4 dosis, sin costo), 6 desparasitadas (0,107 US\$ cada una), 2 dosis de vacuna reproductiva (1,5 US\$ cada una), 1 refrendación anual (6,93 US\$/cabeza), que incluye sangrado para brucelosis,

aplicación y lectura de tuberculina y certificado de la Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay (SMVU), y honorarios veterinarios (1,37 US\$/ cabeza).

Dado que en esta etapa ocurre la primera preñez (a una edad de 724 días, ya que la edad al primer parto es 1007 días), se incluyen costos reproductivos (inseminación y diagnóstico de gestación):

El costo de la inseminación se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Costo IA: } (\text{Precio semen} + \text{Costo IA / dosis}) \times N^{\circ} \text{ dosis / cabeza} \\ + \text{Costo IA/Preñez} \times \text{Tasa de preñez}$$

Considerando el precio de la dosis de semen (10 US\$/dosis) (PROLESA, 2020) sin otro costo de inseminación adicional y 1,50 dosis/cabeza más el costo del inseminador por vaca preñada (5,83 US\$) obteniéndose una preñez del 45%.

La cantidad de dosis de semen requeridas para lograr una preñez es $1,5/0,45 = 3,33$ y el costo del diagnóstico de gestación mediante palpación transrectal se fijó en US\$ 1,94/cabeza (SMVU, 2020).

No se consideraron inversiones adicionales en esta etapa.

Recría 3

En esta etapa la vaquillona pasa de 350 kg a 405 kg (ADPV = 0,243 kg). Se asigna una mortandad de 0,2%. Durante esta etapa la vaquillona estaría preñada e ingresaría con 781 días de vida y finalizaría con el parto a los 1006 días (duración total de la etapa: 226 días).

Al igual que en las etapas anteriores de recría se asume que una persona atiende 868 cabezas por año. Ajustando en función de la duración de la Recría 3 se obtiene el siguiente costo de personal:

$$\frac{\text{Horas laborables/año}}{\frac{\text{Cabezas}}{\text{persona}}} \times \frac{\text{Duración etapa}}{365} = \frac{2240 \text{ hs}}{868} \times \frac{226 \text{ d.}}{365} = 1,60 \frac{\text{horas}}{\text{cab}} / \text{etapa}$$

Multiplicando las horas dedicadas por el valor de la hora trabajada (1,6 x US\$ 6,68/h) se obtiene un valor de costo de mano de obra de US\$ 10,67/cabeza.

Con respecto a la alimentación, al igual que las otras dos etapas de recría, se estima un consumo diario de MS equivalente al 2,7% del peso vivo medio, lo que equivale a unos 10,19 kg MS/día particionado de la siguiente manera:

- Concentrado: representa el 14% de la dieta diaria total (es decir 1,43 kg de MS/día). Con un precio de US\$ 0,329/kg MS de concentrado para esta etapa,

se obtiene un costo por animal de US\$ 106,23 para los 226 días que dura la etapa.

- Pradera permanente: representa el 16,5% de la dieta en MS, lo que equivale a 1,68 kg de MS por día de pastura. Con un costo del kg de MS de pastura de US\$ 0,041/kg MS, esto representa un costo de pastura de US\$ 15,50/cabeza.
- Heno: representa el 38,5% del consumo diario de MS, lo que significa 2,46 fardos redondos (de 360 kg MS) para toda la etapa. Al precio de US\$ 12,2/fardo (0,034 US\$/kg MS), el costo del heno es de 30,05 US\$/cabeza.
- Campo natural: aporta el 31% de la dieta diaria, lo que equivale a 3,16 kg MS/día. Se considera sin costo, como se mencionó anteriormente.

En esta etapa, desde un punto de vista sanitario, se aplican 2 dosis de vacuna contra la fiebre aftosa (sin costo), el costo correspondiente a una refrendación anual (US\$ 6,93/cabeza) y los honorarios veterinarios (US\$ 0,68/cabeza).

Al igual que en la recría 2, no se consideraron inversiones adicionales en esta etapa.

Lactancia 1

El evento desencadenante del inicio de esta etapa es el parto. El animal ingresa con una edad de 1007 días y finaliza con 1401 días (duración total de la etapa: 395 días). Durante esta etapa la vaca pasa de 405 kg a 550 kg de peso vivo (ADPV = 0,367 kg). Se asigna una mortalidad de 5% (INALE, 2014). En esta etapa ocurre la segunda preñez alrededor de los 1182 días de vida, siendo el intervalo parto-concepción resultante de 175 días.

El costo de la mano de obra se asume como un costo fijo (no como variable); su determinación surge de considerar que una persona atiende/ordeña 64,5 vacas (esto representa 1,55 personas cada 100 vacas). Ajustando por la duración de la etapa de Lactancia 1 se obtiene:

$$\frac{\text{Horas laborables/año}}{\text{Cabezas}} \times \frac{\text{Duración etapa}}{\text{persona}} = \frac{2240 \text{ hs}}{64,5} \times \frac{395 \text{ d.}}{365} = 37,58 \frac{\text{horas}}{\text{cab}} / \text{etapa}$$

Luego el valor obtenido es multiplicado por el valor de la hora trabajada.

La etapa de Lactancia 1 es subdividida en 4 fases de 90, 90, 90 y 125 días, respectivamente, en cada una de las cuales se aplica un esquema de alimentación diferente (Tabla 10). La producción por vaca en ordeño (VO), en este caso, se asume

como homogénea en las 4 fases, fijada en 17,43 L/día, siendo la producción total durante la etapa de 6885 L.

La alimentación total durante la Lactancia 1 (integrando las 4 fases) se resume en la Tabla 11:

Tabla 10. Producción y alimentación según cuatro fases en la etapa de Lactancia 1.

	Producción		Alimentación				
	Duración (días)	L/VO/día	Pastura (kgMS/cabeza/día)	Heno (kgMS/cabeza/día)	Concentrado (kgMS/cabeza/día)	KgMS/día	% PV
1° Fase Lactancia 1	90	17,43	9,77	1,67	4,01	15,45	3,24%
2° Fase Lactancia 1	90	17,43	6,68	2,5	4,01	13,19	2,76%
3° Fase Lactancia 1	90	17,43	4,51	3,51	4,26	12,28	2,57%
4° Fase Lactancia 1	125	17,43	5,59	4,34	4,51	14,44	3,02%
Duración Lactancia 1	395						

PV: peso vivo.

Tabla 11. Desglose de la alimentación en Lactancia 1.

Dieta	Kg MS/día	% PV	% Dieta (MS)	US\$/kg MS	Kg MS/etapa	US\$/etapa	% costo
Pastura	6,54	1,37%	47%	0,04	2585,2	105,43	15,1%
Heno	3,12	0,65%	23%	0,03	1233,7	41,81	6,0%
Concentrado	4,23	0,88%	30%	0,33	1669	549,77	78,9%
Total	13,89	3%	100%	0,133*	5487,9	697,01	100%

*promedio

El consumo medio es de 13,89 kg MS/día que equivale al 2,91% del peso vivo. En promedio se asigna por día 6,54 kg MS de pastura, 3,12 kg MS de heno y 4,23 kg MS de concentrado (Guillermo Battegazzore – CONAPROLE – Seguimiento Proyecto Apoyo Producción Competitiva, comunicación personal).

Con respecto a la sanidad preventiva se considera una vacunación contra carbunco (1 dosis, US\$ 0,42), aftosa (1 dosis, sin costo), enfermedades reproductivas (1 dosis, US\$ 1,5) y el costo referente a la refrendación anual (US\$ 6,93/cabeza).

En esta etapa ocurre la 2° preñez que finalizará con el segundo parto a los 1465 días de vida. Para la determinación del costo de la IA se utilizaron los mismos parámetros que para la etapa de Recría 2.

$$\text{Costo IA: } US\$ \text{ dosis semen} \times 1.5 \text{ dosis/vaca} + 5.83 \text{ US\$/vaca preñada} \times 0.45 \text{ TC}$$

Se asume que la inversión en equipos e instalaciones se realiza al inicio de la Lactancia 1, en la Tabla 12 se detallan los mismos.

Tabla 12. Inversiones de bienes de uso en Lactancia 1.

Descripción	VN (US\$)	VRP	Cantidad	Inversión total	VU	Cabezas/unidad/año	Inversión/Cabeza	VRP/Cabeza
Equipo de ordeño	17000	3400	1	17000	15	130	130,77	26,15
Instalaciones de ordeño	43000	0	1	43000	15	130	330,77	
Equipo de frío	20000	0	1	20000	15	130	153,85	
Comederos	20000	0	1	20000	20	130	153,85	
Aguadas	14000	0	1	14000	20	130	107,69	
Total				114000			876,92	26,15

VN: valor a nuevo; VRP: valor residual pasivo; VU: vida útil (años).

Vaca seca 1

Durante esta etapa la vaca pasa de 550 kg a 560 kg de peso vivo (ADPV = 0,159 kg). Se asigna una mortalidad de 0%. El animal comienza con una edad en días de 1402 y finaliza con 1464 (duración total de la etapa: 63 días). Dado que la primera lactancia tuvo una duración de 395 días, junto con los 63 días de esta etapa, queda definido un intervalo entre partos (IEP) de 458 días (15 meses), que es el promedio de Uruguay según datos del MU.

El costo de la mano de obra se efectúa teniendo en cuenta que, al igual que en la etapa de lactancia, una persona atiende 64,5 animales (esto representa 1,55 personas cada 100 vacas). Ajustando por la duración de la etapa de vaca seca se obtiene:

$$\frac{\text{Horas laborables/año}}{\text{Cabezas persona}} \times \frac{\text{Duración etapa}}{365} = \frac{2240 \text{ hs}}{64,5} \times \frac{63 \text{ d.}}{365} = 5,99 \frac{\text{horas}}{\text{cab}} / \text{etapa}$$

Al igual que en las otras etapas, el valor de la hora por cabeza se multiplica por el valor de la hora de trabajo.

En esta etapa, la alimentación, se subdivide en dos fases de 43 y 20 días, respectivamente. En ambas se considera un consumo diario de MS del 2,7% del peso vivo. En la primera fase un 10% de dicho consumo corresponde a pastura (1,5 kg MS/día), un 10% a heno (1,5 kg MS/día) y un 80% a campo natural (11,99 kg MS/día). En la segunda fase un 10% de la dieta lo aporta la pastura, un 35% el heno, un 38% el campo natural, y a esto se le agregan 3 kg/día de concentrado tal cual (que en MS equivale a 2,55 kg) (Tabla 13).

En la Tabla 14 se resumen los indicadores de la alimentación total durante ambas fases de la etapa de vaca seca.

Tabla 13. Alimentación según ambas fases de Vaca Seca 1.

	Alimentación						KgMS/día	% PV
	Duración (días)	Pastura (kgMS/cabeza/día)	Heno (kgMS/cabeza/día)	Concentrado (kgMS/cabeza/día)	Campo natural (kgMS/cabeza/día)			
1° Fase Vaca seca 1	43	1,5	1,5	0	11,99	14,99	2,70%	
2° Fase Vaca seca 1	20	1,5	5,24	2,55	5,69	14,98	2,70%	
Duración Vaca seca 1	63							

Tabla 14. Características de la alimentación en la etapa de Vaca Seca 1.

Dieta	KgMS/día (Promedio)	% PV	% dieta (MS)	US\$/KgMS	KgMS/etapa	KgMS/día (suministro real)	US\$/etapa	% Costo
Pastura	1,5	0,27%	10,0%	0,041	94,4	1,5	3,85	14,6%
Heno	2,69	0,48%	17,9%	0,034	169,3	2,69	5,74	21,7%
Concentrado	0,81	0,15%	5,4%	0,329	51	2,55	16,8	63,7%
Campo natural	9,99	1,80%	66,7%	0,0%	629,4	9,99	0	0,0%
Total/etapa	14,99	2,7%	100,0%	0,027	944,1	16,73	26,39	100,0%

El consumo de concentrado es de 51 kg de MS. Dado que este sólo se suministra en la segunda etapa (últimos 20 días) se puede expresar el consumo diario en 0,81 kg por día promedio (abarcando los 63 días de la etapa), según se muestra en la segunda columna de la Tabla 14, o en 2,55 kg MS/día efectivo de suministro (es decir considerando sólo los 20 días durante los cuales se suministra el concentrado), lo cual se indica en la séptima columna de la mencionada tabla.

En esta etapa el animal se vacuna contra fiebre aftosa (1 dosis sin costo) y tiene el costo de la refrendación (US\$ 6,93/cabeza).

No se consideran inversiones adicionales en esta etapa.

Lactancia 2

Durante esta etapa la vaca se mantiene en su peso de 560 kg (ADPV = 0 kg). Comienza con un animal de 1465 días y finaliza con uno de 1853 días (duración total de la etapa: 389 días). Se asigna una mortalidad de 5%. Durante esta etapa ocurre la tercera preñez, a una edad de 1609 días, por lo que el IPC es de 144 días y el IEP de 14,9 días, en concordancia con los datos del MU para estos indicadores.

En esta, como en las sucesivas lactancias (hasta la lactancia 4, que es el fin de la vida útil según los datos del MU), los costos de mano de obra, de alimentación, sanitarios y de reproducción se calculan de la misma manera solo que van variando los días en lactancia (389 días en esta etapa) y la producción de leche (7772,2 L total; 19,98 L/día). En las Tablas 15-16 se detallan las características productivas y de alimentación.

Tabla 15. Producción y alimentación según la fase en la etapa de Lactancia 2.

	Producción		Alimentación				
	Duración (días)	L/VO/día	Pastura (kgMS/cabeza/día)	Heno (kgMS/cabeza/día)	Concentrado (kgMS/cabeza/día)	KgMS/día	% PV
1° Fase Lactancia 2	90	19,98	8	3	4,8	15,8	2,82%
2° Fase Lactancia 2	90	19,98	5,4	4,2	5,1	14,7	2,63%
3° Fase Lactancia 2	90	19,98	6,7	5,2	5,4	17,3	3,09%
4° Fase Lactancia 2	119	19,98	11,7	2	4,8	18,5	3,30%
Duración Lactancia 2	389						

Tabla 16. Características de la alimentación en Lactancia 2.

Dieta	KgMS/día	% PV	% Dieta (MS)	US\$/kg MS	Kg MS/etapa	US\$/etapa	% costo
Pastura	8,23	1,47%	49%	0,041	3201,47	131,3	16,0%
Heno	3,48	0,62%	21%	0,034	1353,72	46,0	5,6%
Concentrado	5,01	0,89%	30%	0,329	1948,89	641,2	78,3%
Total	16,72	3,0%	100%	0,024	6504,08	818,5	100%

No se consideran costos de inversiones, ya que estos fueron considerados al inicio de la etapa de Lactancia 1 y se encuentran aún dentro de su vida útil.

Vaca Seca 2

Tal como fue expuesto previamente con las lactancias, la etapa de Vaca Seca 2 es similar a la de Vaca Seca 1, sólo que varía su duración. El animal ingresa con 1854 días de vida y finaliza la etapa con 1854 días (38 días de duración). En este caso el IEP queda definido en 427 días.

Los costos de mano de obra, alimentación, sanitarios e inversiones se calculan de la misma manera. En las Tablas 17-18 se detallan las características de alimentación.

Tabla 17. Alimentación según fases de Vaca Seca 2.

	Alimentación						
	Duración (días)	Pastura (kgMS/cabeza/día)	Heno (kgMS/cabeza/día)	Concentrado (kgMS/cabeza/día)	Campo natural	KgMS/día a	% PV
1° Fase Vaca seca 1	18	1,5	1,5	0	11,99	14,99	2,70%
2° Fase Vaca seca 1	20	1,5	5,29	2,55	5,69	14,98	2,70%
Duración Vaca seca 1	38						

Tabla 18. Características de la alimentación en Vaca Seca 2.

Dieta	KgMS/día (Promedio)	% PV	% dieta (MS)	US\$/KgMS	KgMS/etapa	KgMS/día (suministro real)	US\$/etapa	% Costo
Pastura	1,51	0,27%	10,0%	0,041	57,5	57,38	2,35	10,0%
Heno	3,5	0,63%	23,2%	0,034	133,1	133	4,52	19,1%
Concentrado	1,34	0,24%	8,9%	0,329	51	50,92	16,75	70,9%
Campo natural	8,75	1,56%	57,9%	0,0	332,6	332,5	0,00	0,0%
Total/etapa	15,1	2,7%	100,0%	0,027	574,2	573,8	23,63	100,0%

Lactancia 3

Se mantienen los parámetros de la etapa de lactancia anterior, es decir que no se registra variación en el peso vivo, y se asigna una mortalidad de 5%. Durante esta etapa ocurre la cuarta preñez a una edad de 2036 días, por lo que el IPC es de 144 días y el IEP de 14.2 meses, en concordancia con los datos del MU para estos indicadores.

El costo de mano de obra se determina de la misma manera que para las Lactancias 1 y 2, sólo que varía la cantidad de días en lactancia (387 días).

Al igual que en las Lactancias 1 y 2, se subdivide en 4 fases, manteniendo constante la producción individual en las 4 fases, que es de 20,86 L/día. La producción de leche en toda la lactancia es de 8072,82 L.

Se computan los mismos gastos sanitarios (vacunación contra carbunco, aftosa, reproductivas y refrendación) y de reproducción que en las Lactancias 1 y 2.

No se incluye ninguna inversión adicional para esta etapa. En las Tablas 19-20 se detallan las características productivas y de alimentación.

Tabla 19. Producción y alimentación según la fase en la etapa de Lactancia 3.

	Producción		Alimentación				
	Duración (días)	L/VO/día	Pastura (kgMS/cabeza/día)	Heno (kgMS/cabeza/día)	Concentrado (kgMS/cabeza/día)	KgMS/día	% PV
1° Fase Lactancia 3	90	20,86	5,4	4,2	5,1	14,7	2,63%
2° Fase Lactancia 3	90	20,86	6,7	5,2	5,4	17,3	3,09%
3° Fase Lactancia 3	90	20,86	11,7	2	4,8	18,5	3,30%
4° Fase Lactancia 3	117	20,86	8	3	4,8	15,8	2,82%
Duración Lactancia 3	387						

Tabla 20. Características de la alimentación en Lactancia 3.

Dieta	KgMS/día	% PV	% Dieta (MS)	US\$/kg MS	Kg MS/etapa	US\$/etapa	% costo
Pastura	7,95	1,42%	48%	0,041	3076,65	126,1	15,6%
Heno	3,56	0,64%	22%	0,034	1377,72	46,8	5,8%
Concentrado	5,01	0,89%	30%	0,329	1938,87	637,9	78,7%
Total	16,52	3,0%	100%	0,024	6393,24	810,9	100%

Vaca Seca 3

Es igual a las etapas de Vaca Seca 1 y 2, sólo que varía la duración. El animal ingresa con 2272 días de vida y finaliza la etapa con 2318 días (40 días)..

El costo de mano de obra, alimentación, sanitario e inversiones se determina de la misma manera que en las etapas de vaca seca 1 y 2 (solo varía la duración de la etapa). En las Tablas 21-22 se detallan las características de alimentación de la etapa de Vaca Seca 3.

Tabla 21. Alimentación según fases de Vaca Seca 3.

	Alimentación						
	Duración (días)	Pastura (kgMS/cabeza/día)	Heno (kgMS/cabeza/día)	Concentrado (kgMS/cabeza/día)	Campo natural	KgMS/día a	% PV
1° Fase Vaca seca 1	20	1,5	1,5	0	11,99	14,99	2,70%
2° Fase Vaca seca 1	20	1,5	5,29	2,55	5,69	14,98	2,70%
Duración Vaca seca 1	40						

Tabla 22. Características de la alimentación en Vaca Seca 3.

Dieta	KgMS/día (Promedio)	% PV	% dieta (MS)	US\$/KgMS	KgMS/etapa	KgMS/día (suministro real)	US\$/etapa	% Costo
Pastura	1,51	0,07%	10,0%	0,041	60,4	1,51	2,48	10,3%
Heno	3,4	0,15%	22,5%	0,034	136	3,4	4,62	19,3%
Concentrado	1,28	0,06%	8,4%	0,329	51,2	1,28	16,84	70,3%
Campo natural	8,92	0,38%	59,0%	0,0	356,8	8,92	0,00	0,0%
Total/etapa	15,11	0,7%	99,9%	0,027	604,4	15,11	23,95	100,0%

Lactancia 4 (fin de la vida útil del animal)

No se registra variación en el peso vivo respecto de la etapa previa de lactancia (lactancia 3). Dado que en esta etapa finaliza la vida útil del vientre, no se considera la mortalidad. No se considera un IPC ya que, considerando la vida útil promedio de las vacas de Uruguay, las mismas no entran a servicio luego de su tercer parto.

El costo de mano de obra se determina de la misma manera que en las etapas de Lactancias 1, 2 y 3, variando sólo la duración (226 días en lactancia).

Al ser una lactancia de menor duración se subdivide en 3 fases de 90, 90 y 46 días, respectivamente. La cuarta fase considerada en las previas lactancias, con duración de 90 días, se ve interrumpida por la salida del animal del sistema. Al igual que en la lactancia anterior, la producción se mantiene constante en 20,8 L/día. La producción de leche en toda la lactancia es de 4700,8 L.

Se consideran los mismos gastos sanitarios que en las otras lactancias (vacunación contra carbuncho, aftosa, reproductivas y refrendación). Con respecto a los costos de reproducción, aunque sea la última lactancia, igual se presupuesta el costo de la inseminación. En las Tablas 23-24 se detallan las características productivas y de alimentación de la etapa de Lactancia 4.

Tabla 23. Producción y alimentación según la fase en la etapa de Lactancia 4.

	Producción		Alimentación				
	Duración (días)	L/VO/día	Pastura (kgMS/cabeza/día)	Heno (kgMS/cabeza/día)	Concentrado (kgMS/cabeza/día)	KgMS/día	% PV
1° Fase Lactancia 4	90	20,86	6,68	5,18	5,38	17,24	3,08%
2° Fase Lactancia 4	90	20,86	11,7	1,99	4,78	18,47	3,30%
3° Fase Lactancia 4	46	20,86	11,7	1,99	4,78	18,47	3,30%
4° Fase Lactancia 4	-	-	-	-	-	-	0,00%
Duración Lactancia 4	226						

Tabla 24. Características de la alimentación en Lactancia 4.

Dieta	KgMS/día	% PV	% Dieta (MS)	US\$/kg MS	Kg MS/etapa	US\$/etapa	% costo
Pastura	9,7	1,73%	54%	0,041	2192,2	89,9	18,4%
Heno	3,26	0,58%	18%	0,034	736,76	25,0	5,1%
Concentrado	5,02	0,90%	28%	0,329	1134,52	373,3	76,5%
Total	17,98	3,2%	100%	0,022	4063,48	488,2	100%

No se incluye ninguna inversión adicional para esta etapa. En esta etapa ocurre el ingreso debido al valor residual de las inversiones realizadas durante las etapas posteriores.

Resultados

Periodo de cría y recria

El costo total de una hembra durante las etapas de Crianza, Recría 1, Recría 2 y Recría 3 fue de US\$ 129,74 (US\$ 1,72/día), US\$ 72,68 (US\$ 0,67/día), US\$ 213,4 (US\$ 0,35/día) y US\$ 170,07 (US\$ 0,75/día), respectivamente; siendo el saldo acumulado desde la crianza hasta el primer parto de US\$ 589,89 (US\$ 0,58/día). En todas las etapas, los dos costos principales fueron la alimentación (dependiendo la etapa, dentro de un rango de 64,8% a 89,3% del costo total) y la mano de obra (dependiendo la etapa, dentro de un rango de 6,3% a 25,4%), como se muestra en las Figuras 3-6.

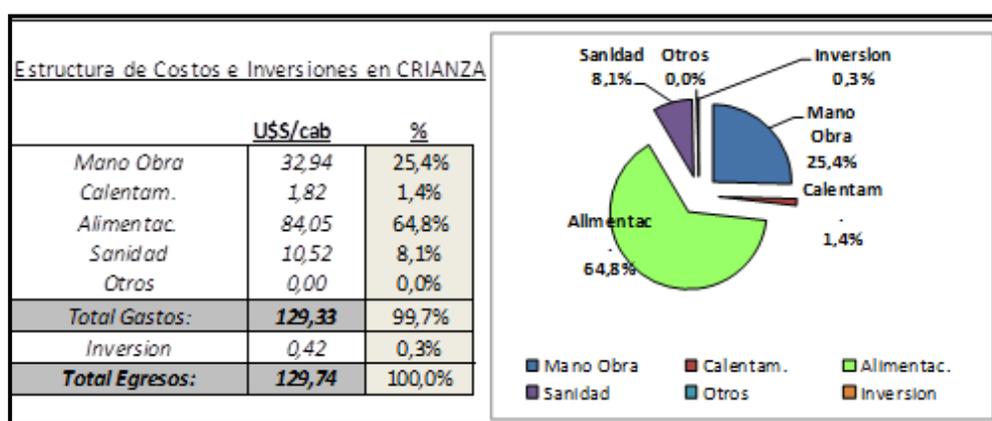


Figura 3. Estructura de costos e inversiones durante la etapa de Crianza.

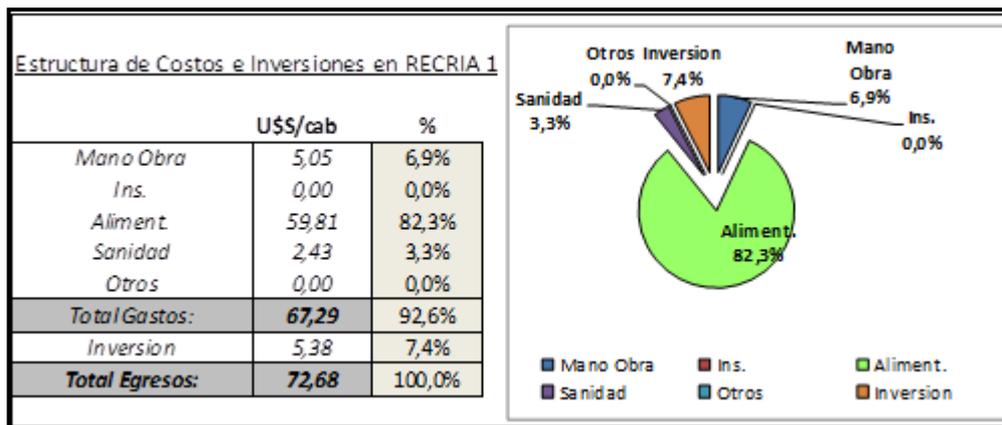


Figura 4. Estructura de costos e inversiones durante la etapa de Recría 1.

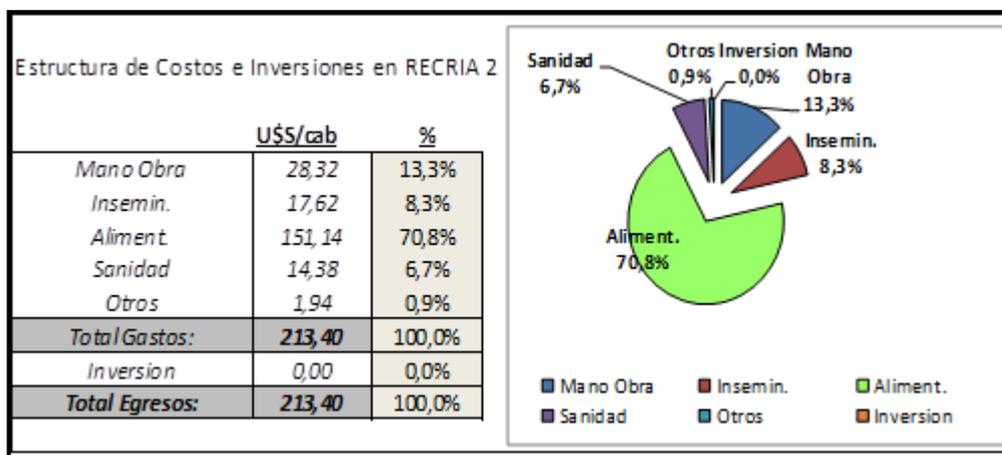


Figura 5. Estructura de costos e inversiones durante la etapa de Recría 2.

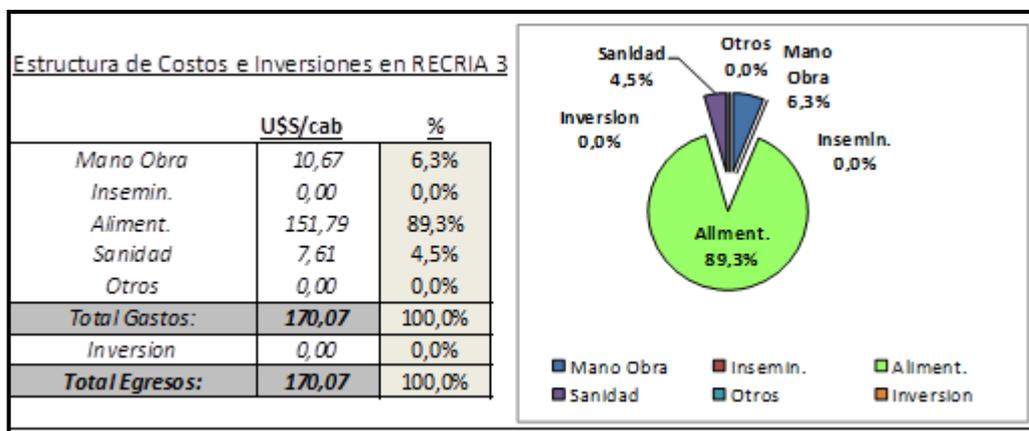


Figura 6. Estructura de costos e inversiones durante la etapa de Recría 3.

Periodos de lactancias y vacas secas

El saldo total de la etapa de Lactancia 1 estuvo representado por US\$ 2126,46 de ingresos (Leche = 6884,9 L x 0,30 US\$/L = US\$ 2065,46/cabeza, más la venta del ternero nacido US\$ 61) menos US\$ 1851,32 de egresos (Figura 7), lo que representa un saldo total para la etapa de Lactancia 1 de US\$ 275,14/cabeza y un saldo acumulado de US\$ -310,76/cabeza.

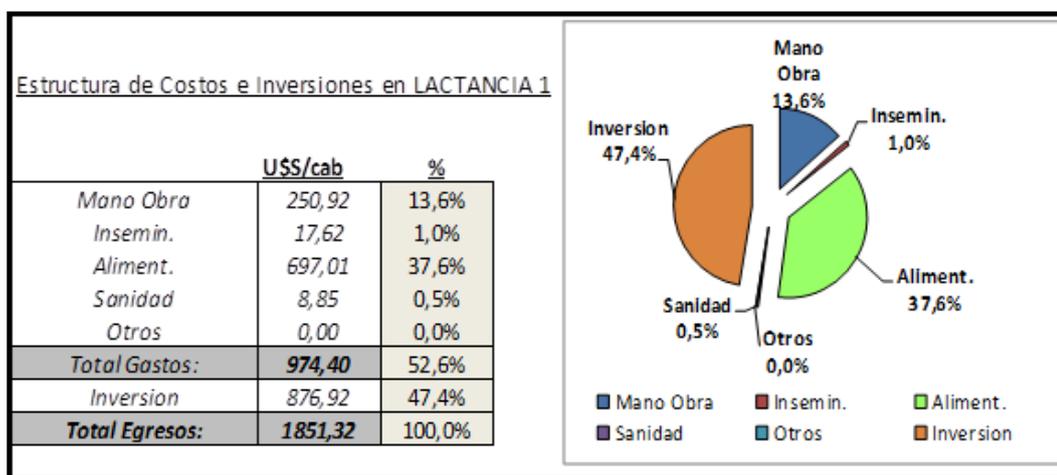


Figura 7. Estructura de costos e inversiones durante la etapa de Lactancia 1.

En esta etapa la mayor proporción del costo estuvo representada por la inversión inicial que hay que realizar, la cual estuvo representada por las instalaciones y el equipamiento necesarios para el ordeño.

Durante la etapa de Vaca Seca 1 sólo hay egresos debido a los costos, lo que equivale a US\$ 74,34/cabeza, esto sumado al saldo acumulado representa US\$ -384,09/cabeza.

A partir del segundo parto (etapa de Lactancia 2), la estructura de los costos cambia. El total de ingresos por la venta de leche (US\$ 2331,67) y del ternero nacido (US\$ 61 en promedio de la venta de terneros machos -US\$ 22/ternero- y hembras -US\$ 100/ternera- en proporción 50% y 50%) asciende a US\$ 2392,67/cabeza y los egresos por los costos son de US\$ 1091,78 (principalmente compuesto por la alimentación), siendo el saldo de la Lactancia 2 de US\$ 1300,89/cabeza y el saldo acumulado total de US\$ 918,8/cabeza. La etapa de Vaca Seca 2, al igual que la de Vaca Seca 1, no genera ingresos siendo el costo de US\$ 54,72/cabeza y el saldo acumulado total de US\$ 862,1/cabeza en esta etapa.

Al finalizar la etapa de Lactancia 3, el saldo acumulado es de US\$ 1399,75 y el saldo acumulado total de US\$ 2261,8; el cual disminuye a US\$ 2205,59 cuando se le agrega el costo de la etapa de Vaca Seca 3 (US\$ 56,22). Los principales costos de la etapa de Lactancia 3 están representados por la alimentación (74,9%) y la mano de obra (22,7%) y en la etapa de Vaca Seca 3 por la mano de obra (45,2%) y la alimentación (42,5%).

Durante la etapa de Lactancia 4, los ingresos estuvieron representados por la venta de la leche (US\$ 1410,2), la venta de las/los terneras/os (US\$ 61), el valor de la venta de la vaca por descarte (US\$ 600) y el valor residual de las inversiones (US\$ 659,96) (Figura 8), siendo el total de US\$ 2731,16/cabeza.

El valor residual de las inversiones es la sumatoria de todos los valores residuales de cada etapa.

CRIANZA										Se imputa un valor por cabeza en cada etapa			Antig.:	6,97	años
Descripción	Valor a Nuevo	Valor Residual Pasivo	Cantidad	Inversión total	Vida útil (años)	Cabezas/ Unidad /año	Cabezas prorrateo	Inversión /cabeza	VRPasivo /cab.	V.Res. Activo al final	V.Res. Activo/cab. al final	Años durac.fut. al final			
Estacas	5,0	0,0	1,0	5,0	4	5	20	0,25	0,00	1	0,06	0,93			
Termotanque	400,0	0,0	1,0	400,0	4	600	2400	0,17	0,00	93	0,04	0,93			
TOTAL				405,0				0,42	0,00	94	0,10				

RECRÍA 1										Se imputa un valor por cabeza en cada etapa			Antig.:	6,77	años
Descripción	Valor a Nuevo	Valor Residual Pasivo	Cantidad	Inversión total	Vida útil (años)	Cabezas/ Unidad /año	Cabezas prorrateo	Inversión /cabeza	VRPasivo /cab.	V.Res. Activo al final	V.Res. Activo/cab. al final	Años durac.fut. al final			
Aguadas	14000,0	0,0	1,0	14000,0	20	130	2600	5,38	0,00	9261	3,56	12,93			
TOTAL				14000,0				5,38	0,00	9261	3,56				

LACTANCIA 1										en adelante			Se imputa un valor por cabeza al inicio			Antig.:	4,21	años
Descripción	Valor a Nuevo	Valor Residual Pasivo/ Unidad	Cantidad	Inversión total	Vida útil (años)	Cabezas/ Unidad /año	Inversión /cabeza	VRPasivo /cab.	V.Res. Activo al final	V.Res. Activo/cab. al final	Años durac.fut. al final							
Equipo ordeño	17000,0	3400,0	1,0	17000,0	15	130	130,77	26,15	13180	101,38	7,93							
Instalaciones ordeño	43000,0	0,0	1,0	43000,0	15	130	330,77		30921	237,85	7,93							
Aguadas	14000,0	0,0	1,0	14000,0	20	130	107,69		11050	85,00	12,93							
Comederos	20000,0	0,0	1,0	20000,0	20	130	153,85		15786	121,43	12,93							
Equipo frío	20000,0	0,0	1,0	20000,0	15	130	153,85		14382	110,63	7,93							
TOTAL				114000,0				876,92	26,15	85319	656,30							

Figura 8. Inversiones, valores a nuevo y residuales a la finalización de la vida útil del vientre. Valor residual (VR) de inversiones a la finalización del presupuesto = VR crianza + VR recría 1 + VR lactancia 1.

El saldo total de la etapa de Lactancia 4 fue de US\$ 2073,09/cabeza y el acumulado de todas las etapas de US\$ 4278,7/cabeza.

En la Figura 9 se resumen los resultados económicos obtenidos para el modelo descrito. Esta información sintetiza la evolución mensual y el correspondiente flujo de fondos.

Vida útil: 2545 días									
Etapa	Edad desde hasta	Duración días	ADPV kg/cab	Gastos u\$/cab	Inversion - VR u\$/cab	Ing.leche +tern.+VR u\$/cab	Prod. Lt/cab/día	Saldo Acum. u\$/cab	Valor capit.del flujo pasado u\$/cab
CRIANZA	1	73	0,452	129,33	0,42			-129,7	-130,4
	73								
RECRÍA 1	74	107	0,467	67,29	5,38			-202,4	-204,1
	180								
RECRÍA 2	181	600	0,383	213,40	0,00			-415,8	-438,4
	780								
RECRÍA 3	781	226	0,243	170,07	0,00			-585,9	-621,7
	1006								
LACTANCIA 1	1007	395	0,367	974,40	876,92	2126,46	17,43	-310,8	-414,1
	1401								
VACA SECA 1	1402	63	0,159	73,34	0,00			-384,1	-484,8
	1464								
LACTANCIA 2	1465	389	0,000	1091,78	0,00	2392,67	19,98	916,8	689,4
	1853								
VACA SECA 2	1854	38	0,000	54,72	0,00			862,1	646,5
	1891								
LACTANCIA 3	1892	387	0,000	1083,10	0,00	2482,85	20,86	2261,8	1935,1
	2278								
VACA SECA 3	2279	40	0,000	56,22	0,00			2205,6	1894,8
	2318								
LACTANCIA 4	2319	226	0,000	658,07	0,00	2731,20	20,80	4278,7	3718,4
	2544								

Figura 9. Resumen de resultados por etapa para el modelo hembra.

Las tres etapas de recría totalizan una duración de 933 días (107 + 600 + 226). Esto determina que el animal alcance su primer parto (inicio de la Lactancia 1) a una edad de 1007 días, siguiendo la información reportada para el promedio de vacas lecheras de Uruguay (Fernando Sotelo 2019, MU, comunicación personal). La hembra gana peso hasta la etapa de Vaca Seca 1 inclusive, a partir de entonces se considera un peso vivo estabilizado en 560 kg.

Los gastos, como ya se detalló en cada etapa, comprenden la alimentación, sanidad, mano de obra y reproducción. La inversión comprende al monto que se debe invertir en instalaciones y equipos, si corresponde. Para esto se tiene en cuenta la vida útil estimada de cada bien. A modo de ejemplo, si en la primera lactancia se realizó una inversión en el equipo de ordeñe y, a este se le asignó una vida útil de 15 años, no se volverán a realizar inversiones en este rubro durante los siguientes 15 años. Al final de la vida útil del vientre se computa la venta del animal, así como los VR de equipos e instalaciones. De acuerdo con los parámetros del promedio de las

vacas lecheras de Uruguay ingresados (Fernando Sotelo 2019, MU, comunicación personal), el fin de la vida útil del vientre (2545 días de vida) ocurre durante su cuarta lactancia, por este motivo la misma se interrumpe a los 226 días de haberse iniciado.

La columna de ingresos incluye además el valor del ternero (promedio entre precio del macho y de la hembra, 22 y 100 US\$, respectivamente, lo que promedia 61 US\$ por cría), es decir que se asume que dicha cría se vende al poco tiempo de nacer. El motivo de este proceder obedece al objetivo planteado de realizar un seguimiento productivo y económico de un solo animal individual y no modelizar un rodeo en crecimiento.

Se considera que las inversiones se efectúan al inicio de la etapa en la que son necesarias. Se asume que las inversiones requeridas para la Recría 1 también son luego utilizadas por la Recría 2 y 3, por lo que no sería necesario tener que efectuar nuevas inversiones.

El saldo acumulado total contempla tanto ingresos como costos, inversiones y montos recuperados al fin de la vida útil. La última columna de la Figura 9 presenta el valor capitalizado del flujo pasado, es decir que capitaliza cada saldo mensual a cada período. Esto significa incluir el costo de oportunidad del capital teniendo en cuenta el momento en el cual fue requerida cada erogación. Para la valorización del costo de oportunidad se consideró una tasa real anual del 5% (equivalente a un 0,42% mensual).

El valor considerado de una vaca al fin de su vida útil se ha estimado en US\$ 600, pero a este valor se le descuenta la mortandad acumulada, quedando entonces en US\$ 451,1 para la cuarta lactancia. Es decir que, en este caso, se asume que el valor de recupero del animal es el valor medio por animal ingresado (no por animal “salido”) en un rodeo que ha sufrido mortandad a lo largo de las distintas etapas.

En la Figura 9, la columna del saldo acumulado permite determinar el momento en el cual se cubren los costos incurridos (período de repago o recupero de la inversión). Teniendo en cuenta la inversión en equipos e instalaciones, la venta del ternero nacido al inicio de cada lactancia y los montos recuperados de inversiones del mismo vientre, esto ocurre en el cuarto mes de la segunda lactancia (a los 52,7 meses de vida).

En los Gráficos 1 y 2 se observa el flujo mensual de ingresos y egresos y el saldo acumulado del mismo (sin considerar el costo de oportunidad de los egresos) incluyendo las inversiones, la venta de terneros y los montos recuperados.



Gráfico 1. Flujo mensual de ingresos y egresos, considerando inversiones y recuperos, durante la vida útil de la hembra.



Gráfico 2. Saldo acumulado (ingresos y egresos) considerando costos incurridos e inversiones, venta de terneros y valores residuales. La flecha marca el punto de inflexión en el cual ocurre el repago del animal.

El valor actual del flujo futuro indica cuánto vale cada animal durante cada mes de su vida útil, y es lo que permite estimar cuánto se dejaría de ganar si la hembra muriera en cada una de las etapas de su vida. En el Gráfico 3 se observa la evolución del valor actual del flujo futuro durante la vida útil del animal.

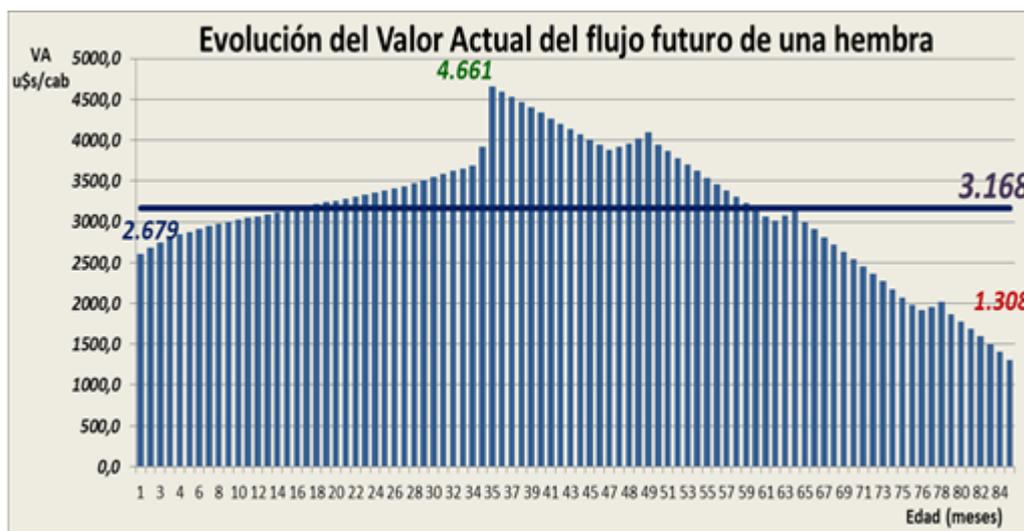


Gráfico 3. Valor Actual o Descontado del flujo futuro, considerando inversiones, recuperos y venta de terneros machos y hembras.

Al segundo mes de crianza el valor actual es de US\$ 2679. El valor máximo ocurre al inicio de la segunda lactancia, ya que no se tienen en cuenta costos de cría y recria (ya han transcurrido) y el ingreso por producción de leche es inmediato siendo de US\$ 4661. El valor mínimo ocurre hacia el final de la vida útil, a los 84 meses de vida (US\$ 1308). El promedio de los valores actuales del flujo futuro (de toda la vida útil) es de US\$ 3168, que es lo que saldría una vaca.

El valor actual del flujo futuro muestra una tendencia ascendente al principio debido a dos motivos: 1) se van dejando de lado los egresos de la crianza y las recrias, y 2) se hacen más próximos en el tiempo los ingresos por la producción lechera. Luego, a medida que transcurre cada lactancia, el valor actual decae debido a que cada vez quedan menos “litros futuros” a producir (Gráfico 4). Al inicio de cada nueva lactancia el valor actual aumenta en cierto grado debido al adelantamiento de la producción esperada (efecto tiempo, además de los US\$ 61 correspondientes al valor del ternero/a nacido/a), para después seguir cayendo.

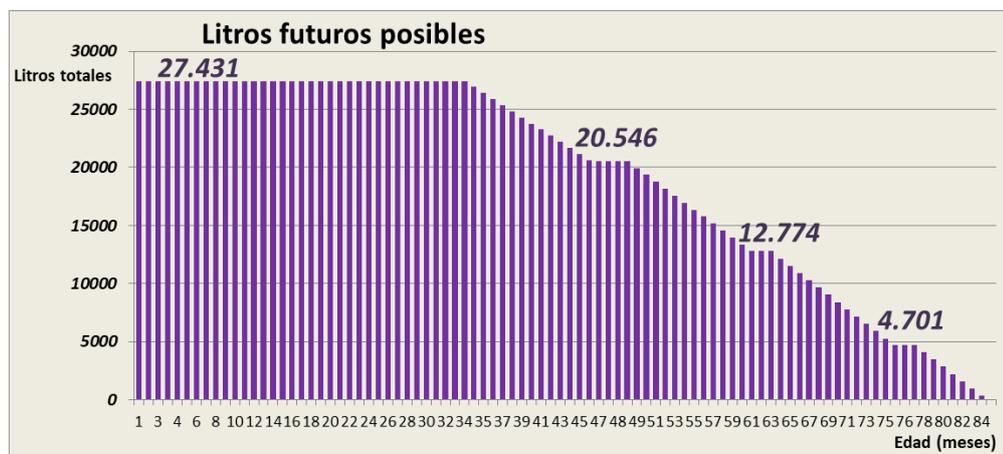


Gráfico 4. Litros futuros posibles o remanentes.

El valor actual de una ternera de crianza fluctúa entre US\$ 2611,4 y US\$ 2745,7 (promedio US\$ 2678,6). Esto sería lo que se deja de ganar si la ternera muere en la crianza (guachera) (Figura 10).

AÑO	Meses desde N	Días desde Nac.	Mes	Etapas	COSTO U\$\$/cab.	INVERS. U\$\$/cab.	SALDO U\$\$/cab.	V. ACTUAL del flujo futuro U\$\$/cab.		V. ACTUAL al inicio U\$\$/cab.	SALDO ACUM. U\$\$/cab.
1	1	30	MAR	CRIANZA	55,9	0,4	-56,4	2611,4	2611,4	2600,5	-56,4
	2	60	ABR	CRIANZA	55,9		-55,9	2678,6		2656,4	-112,3
	3	73	MAY	CRIANZA	17,5		-17,5	2745,7		2711,7	-129,7

Figura 10. Flujo de fondos, Valor Actual, Valor Actual al inicio y Saldos acumulados para la etapa de Crianza.

El Gráfico 5 es similar al Gráfico 3, ya que muestra el valor actual del flujo futuro, pero también muestra el valor capitalizado de flujo pasado. Como se mencionó anteriormente, el primero determina el valor futuro que le queda al vientre (potencial futuro), mientras que el segundo grafica cuánto se ha gastado hasta ese momento en el animal (certeza del pasado).

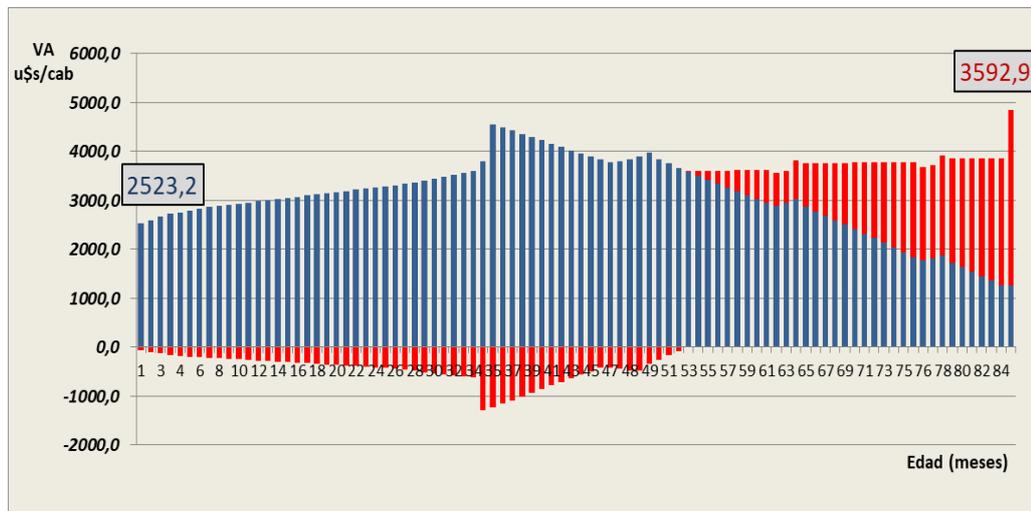


Gráfico 5. Valor Actual del Flujo futuro (columnas azules) y Valor capitalizado del flujo pasado (columnas rojas) de una hembra (Incluye inversiones y recuperos).

El valor capitalizado del flujo pasado presenta una disminución (se torna más negativo) hasta el inicio de la primera lactancia, ya que sigue acumulando costos. A partir de allí el ingreso, debido a la producción de leche, empieza a compensar los costos ocurridos y el valor empieza a incrementarse hasta hacerse positivo a partir del quinto mes de la segunda lactancia (es decir el período de recupero con costo de oportunidad, como se mencionó previamente). El valor capitalizado al final, en el mes 84,8 de vida, asciende a US\$ 3718,4, el cual si se actualiza al inicio resulta equivalente a los US\$ 2611,4 correspondientes al valor actual del flujo futuro en el momento inicial. El valor acumulado al final de la vida útil coincide con el valor potencial al inicio, descontando por el efecto tiempo.

$$\frac{US\$ 3718,4}{1,004167^{85}} = US\$ 2611,4$$

Para una tasa de interés periódica de 0,004167 y n=85 meses (vida útil del vientre).

Impacto relativo de la mortalidad de terneras en la crianza

La determinación del valor actual efectuada representa, en cierto modo, la valoración de máxima que se le asigna a la hembra en cada etapa de su vida. Esto es así debido a que, al no incluir la probabilidad de muerte, se asume que el vientre evoluciona de acuerdo con los parámetros planteados y llega con todo su valor al descarte cuando finaliza su vida útil. El modelo permite ajustar el flujo de fondos

plurianual deduciendo del mismo la proporción de mortalidad en cada etapa. Si bien se trata de un solo animal, este mecanismo pondera la incidencia relativa del factor mortalidad en relación con cada hembra nacida.

Por ejemplo, con una mortalidad en la etapa de crianza de 10,8%, al finalizar esta etapa habrá 0,892 animales para ingresar a la etapa de Recría 1 por cada hembra que ingresó a la crianza. Por otra parte, los costos de crianza se calcularán sobre la base de 0,946 animales, ya que se estableció que la muerte ocurre en promedio en la mitad de la etapa. A su vez, la etapa de Recría 1 recibirá 0,892 animales, los que experimentan una mortalidad de 0,5%, por lo que terminarán la etapa 0,8875 animales. Los animales relevantes para el cálculo de costos en esta etapa será el promedio de 0,89 debido a suponer que la muerte ocurre en la mitad de la etapa (esto se asume para todas las etapas). A la primera lactancia llegarán 0,8769 animales por cada ternera nacida, y saldrán de dicha etapa 0,8331 (asumiendo 5% de mortalidad en la mitad de la etapa). Para el cálculo de costos e ingresos por producción de leche se asume entonces el promedio de 0,8555 cabezas/hembra inicial.

Finalmente, al finalizar la vida útil, a los 2545 días de edad, el valor del descarte será de 0,7518 por cada hembra nacida, ya que se acumulan todas las tasas de mortalidad, por lo que el ingreso por descarte será de $US\$ 600 \times 0,7518 = US\$ 451,1$.

Al incluir de esta manera el factor mortalidad se modifica el flujo de fondos convirtiéndose en un promedio ponderado de distintas situaciones. Por ejemplo, el valor actual en el segundo mes de crianza bajo estas circunstancias es de US\$ 2068,7 por hembra al inicio (en vez de US\$ 2678,6).

Por ejemplo, en dos situaciones, una con una mortalidad del 10,8% y otra con una del 5,8%, el valor actual aumenta US\$ 118, lo que equivale a US\$ 23,60 por cada 1% de mortalidad que se reduce. En un rodeo de 100 animales esto sería entonces un valor adicional de US\$ 2360 por cada animal que no muera en la crianza (asumiendo que el resto de los factores se mantuvieran constantes).

A diferencia de la otra modalidad en la que se asumía que cada animal nacido llegaba al término de su vida útil, en esta el cálculo asume que no necesariamente una hembra que no muera en la crianza no vaya a morir en etapas posteriores.

Impacto de la mortalidad de la crianza sobre el sector primario nacional

El costo de oportunidad de una ternera que muere en la crianza es de US\$ 2678,6 (incluyendo inversiones, recuperos y terneros vendidos). Este valor multiplicado por la cantidad de terneras muertas durante la crianza daría una estimación de la pérdida económica total (“lo que se deja de ganar”) a nivel del sector primario nacional.

Según el INALE (Jorge Artagaveytía, comunicación personal) este valor ascendió a 24036 terneras muertas en 2014, sobre un total de 159182 terneras nacidas. De este modo el impacto de la mortalidad de terneras durante la crianza podría estimarse en US\$ 64.382.829 a nivel del sector primario en un período de 7 años. Este valor no considera la merma genética producto de la disminución de la capacidad de seleccionar vaquillonas de reposición, ni el impacto sobre el sector secundario o terciario.

Discusión

En este trabajo, estimamos las pérdidas económicas por mortalidad de terneras lecheras durante la etapa de crianza, a nivel de la producción primaria nacional. En la bibliografía se pueden encontrar trabajos sobre el costo de criar terneras y el periodo de repago de su cría y recria, pero debido a las diferencias existentes entre sistemas productivos, diferentes políticas nacionales, precios de insumos, aspectos culturales, entre otros, se hace difícil hacer comparaciones al respecto entre países, regiones e, incluso, entre establecimientos (Boulton et al., 2017).

Pese a lo anteriormente expuesto hay puntos en común. El costo de la alimentación representa el mayor costo en todas las etapas (Gabler et al., 2000; Mohd Nor et al., 2012; Heinrichs et al., 2013; Boulton et al., 2017; Akins et al., 2018), exceptuando, en nuestro caso, la etapa de lactancia 1 en donde sólo las inversiones realizadas lo superan y, en las etapas de vaca seca, en donde los costos de alimentación y mano de obra representan casi el mismo porcentaje. El segundo mayor costo es la mano de obra, al igual que lo observado en otros trabajos (Gabler et al., 2000; Mohd Nor et al., 2012; Heinrichs et al., 2013; Boulton et al., 2017; Akins et al., 2018).

El costo de criar a una ternera hasta el desleche a los 75 días de vida fue de US\$ 129,7 (US\$ 1,77 ternera/día), un 25% menor a lo reportado por Gabler et al. (2000) en EEUU pero marcadamente menor, en el orden de un 55%, a trabajos recientes realizados en EEUU y Europa, en donde se observaron valores de entre

US\$ 3,8 y US\$ 6/ternera/día (Heinrichs et al., 2013; Boulton et al., 2017; Akins et al., 2018). Incluso el costo arrojado por el modelo que nosotros desarrollamos con datos promedio nacionales fue menor que lo reportado en Argentina por Berra & Osacar (2012), y Martin & Demateis (2017), quienes estimaron un costo de US\$ 346 y US\$ 161,8, respectivamente, durante el intervalo entre el nacimiento y el desleche (Berra & Osacar: 90 días; US\$ 3,84 ternera/día; Martin & Demateis: 60 días; US\$ 2,69 ternera/día).

Con respecto al costo desde el nacimiento hasta el 1° parto, el mismo fue de US\$ 589,87, valor llamativamente inferior al reportado en otras partes del mundo y de la región. Por ejemplo, Gabler et al. (2000) en EEUU, calcularon un costo desde los 3 días de vida al parto (24,6 meses de vida) de US\$ 1124,06/animal. Trece años después, Heinrichs et al. (2013) estimaron los costos desde el nacimiento hasta el 1° parto a los 25,8 meses de vida, obteniendo un valor de US\$ 1808,23/animal, un 37,8% más elevado que lo reportado por Gabler et al. (2000). Esto principalmente se debe a la diferencia de precios de insumos utilizados en la alimentación de los animales, los cuales representan el principal costo participativo, junto con la mano de obra, de los costos totales durante la cría y recría de terneras lecheras. En Argentina, Berra & Osacar (2012) calcularon que el costo total de criar y criar una ternera desde el nacimiento hasta el 1° parto a los 24 meses de vida era de US\$ 736,25 (US\$ 1 cabeza/día), valor muy similar a lo reportado por Martin y Demateis (2017) (nacimiento a 1° parto a los 24,3 meses de vida; costo total: US\$ 735,5; US\$ 1 cabeza/día).

Estas diferencias probablemente sean debidas al tipo de inversiones y sistemas de crianza usados en los distintos países, así como también a diferencias de precios. En Uruguay, en general, la inversión destinada a la categoría de reemplazos es baja, lo que se evidencia en las bajas ganancias diarias de peso, largos períodos de crianza y recría y una elevada edad al primer parto (Costa et al., 2010; Schild et al., 2020; Fernando Sotelo 2019, MU, comunicación personal), que en nuestro estudio fue de 33 meses según datos promedio provistos por el MU (Fernando Sotelo 2019, MU, comunicación personal). Sin embargo, vale aclarar que varios de los trabajos en los que se modela la cría y recría de los reemplazos lecheros, se consideran situaciones ideales y los requerimientos nutricionales necesarios para alcanzar esos objetivos, situación que se aleja de la realidad de nuestros sistemas. Por ejemplo, los dos modelos propuestos en Argentina estiman una edad al primer parto que ronda los 24 meses de vida (Berra & Osacar, 2012; Martin & Demateis, 2017).

Recientemente a nivel regional, en Argentina, Turiello et al. (2020) hicieron un estudio retrospectivo sobre 15181 animales, observando que la mediana de edad al primer parto fue de 27 meses (Rango intercuartílico - RIC -: 25 – 30), y que sólo el 36,7% de los animales tuvieron su primer parto entre los 22 y 25 meses de vida. Los autores concluyen, como es de esperarse, que una elevada edad al primer parto se relaciona con un impacto económico negativo debido a mayores costos de crianza y recría (mayor cantidad de tiempo como una categoría improductiva) y mayor cantidad de días abiertos (mayor intervalo parto concepción), entre otros.

Por otro lado, en EEUU y Reino Unido, hay trabajos en donde la información surge de datos obtenidos en encuestas de un determinado número de productores y no de modelizaciones con datos de entrada estimados y/o parámetros objetivos obtenidos de la bibliografía (Heinrichs et al., 2013; Boulton et al., 2017). En estos casos la media de edad al primer parto sí se acerca a los valores objetivos propuestos por la bibliografía, pero vale aclarar que en esos lugares la cría y recría de reemplazos difiere considerablemente con la realizada en Uruguay.

Una pérdida adicional debida a la mortalidad de terneras es el aumento productivo que se hubiera registrado debido a la mejora genética que las nuevas generaciones aportan y la menor posibilidad de seleccionar debido a disponer de una menor cantidad de animales de reposición. Estos factores no han sido tenidos en cuenta en los resultados que se presentan en esta tesis.

Aunque no es el tema central de la presente tesis, pudimos observar al correr el modelo, que el tiempo de repago de una hembra lechera en las condiciones productivas de Uruguay se da en el 4° mes de su segunda lactancia (52,7 meses de vida). Boulton et al. (2017) en el Reino Unido, observaron en 101 establecimientos, que el tiempo de repago, en promedio, fue a los 17,4 meses luego del 1° parto lo que correspondió a 1,5 lactancias. El tiempo de repago no sólo depende de los costos incurridos durante la cría y recría, sino también de la edad al primer parto, producción y precio de la leche, entre otros factores (Boulton et al., 2017).

Mucho se ha estudiado sobre los costos incurridos en la etapa de cría y recría y su impacto en la edad a primer parto y producción, pero durante la exhaustiva revisión bibliográfica no hemos encontrado trabajos que evalúen el lucro cesante de los animales que mueren durante las diferentes etapas. Con los datos generados mediante el modelo aquí desarrollado se obtuvo que el lucro cesante de una ternera que muere durante la etapa de crianza es, en promedio, de US\$ 2678,6, lo que significaría que a nivel del sector primario, durante un período de 7 años teniendo en

cuenta la mortandad reportada por Schild et al. (2020) y datos del INALE (Jorge Artagaveytia, INALE, 2020, comunicación personal), los productores lecheros (sector primario) dejaron de ganar US\$ 64.382.829 por la mortalidad de terneras hembras, lo que equivale al 1.5% del total de los ingresos generados por la exportación de leche y productos lácteos por Uruguay entre los años 2014 - 2020 (Uruguay XXI, 2020).

La inversión en sistemas de transferencia de la información para poder realizar la estimación de pérdidas económicas por mortalidad de terneras lecheras podría resultar valiosa para los tomadores de decisiones a diferentes escalas, tanto a nivel nacional como empresarial, en busca de una mayor eficiencia económica, así como también para tomar noción del impacto económico futuro que tiene la pérdida de un animal durante la etapa de crianza y, de esta manera, implementar planes y medidas nacionales para reducirlas y prevenirlas.

La obtención de datos representativos a nivel nacional fue una de las principales limitantes con las que nos enfrentamos al momento de la recolección de información para incluir dentro del modelo, teniendo que recurrir al panel de expertos en reiteradas oportunidades (lo cual no desestima la robustez de los datos obtenidos).

En esta primera etapa, el modelo genera una sola situación determinística para mostrar un dimensionamiento inicial o base del problema pudiendo así medir el impacto de la variable en estudio en particular, manteniendo fijas a las demás variables, lo cual sería inviable en la realidad. Al ser un modelo abierto, a futuro, pueden modificarse o agregarse otras entradas para responder otras hipótesis, realizar análisis de sensibilidad y/o avanzar más allá del impacto en el sector primario.

Conclusiones

Basados en este modelo bioeconómico de simulación de una hembra lechera durante toda su vida útil concluimos que la mortalidad de terneras en Uruguay, a nivel del sector primario, genera pérdidas plurianuales multimillonarias.

CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados aquí expuestos son parte de una línea de trabajo que comenzó en el 2015, mediante proyectos financiados por INIA y ANII, de carácter multiinstitucional y que ha sido generadora de conocimiento en el área correspondiente a una categoría relegada, pero a la vez fundamental de los rodeos lecheros.

En línea con las hipótesis planteadas y los objetivos de este estudio, se demostró que hay agentes asociados al SDN (*Cryptosporidium parvum* y rotavirus), a determinadas características macroscópicas de la materia fecal (fibrina) (*Salmonella enterica* y rotavirus) y a la muerte de los animales (*Salmonella enterica*; diarrea) en terneros lecheros de crianza artificial de la cuenca lechera litoral sur y centro sur. Medidas que tengan un impacto positivo, en lo que a transferencia pasiva de inmunidad respecta, son necesarias para la salud, sobrevivencia y, por ende, el bienestar de los terneros.

La única especie de *Cryptosporidium* que detectamos en los terneros lecheros de nuestro estudio fue *C. parvum*, y estos animales son reservorio de subtipos zoonóticos. A su vez, en nuestros sistemas de crianza (en donde no se hace un adecuado manejo de los efluentes, la cercanía de las crianzas a cursos de agua superficiales, la vasta red acuífera y las condiciones climáticas), existe la posibilidad de contaminación de aguas superficiales. Futuros estudios son necesarios para evaluar la presencia de ooquistes en muestras de aguas.

Por último, demostramos el impacto, en el orden de los millones de dólares, que tiene la muerte de terneros a nivel de la producción primaria en un lapso de 7 años. Esto alienta a continuar con el desarrollo del modelo bioeconómico para responder futuras interrogantes que puedan surgir.

REFERENCIAS

- Abuelo, A., Havrlant, P., Wood, N., Hernandez-Jover, M. (2019). An investigation of dairy calf management practices, colostrum quality, failure of transfer of passive immunity, and occurrence of enteropathogens among Australian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 102, 8352–8366. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16578>
- Afema, J.A., Davis, M.A., Sicho, W.M. (2019). Antimicrobial use policy change in pre-weaned dairy calves and its impact on antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli*: A cross sectional and ecological study. *BMC Microbiol.* 19, 217. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1576-6>
- Akins, M., Cavitt, M., Hagedorn, M., Mills-lloyd, S., Kohlman, T., Sterry, R. (2018). Economic costs and labor efficiencies associated with raising dairy calves for operations using individual or automated feeding.
- Al Mawly, J., Grinberg, A., Velathanthiri, N., French, N. (2015). Cross sectional study of prevalence, genetic diversity and zoonotic potential of *Cryptosporidium parvum* cycling in New Zealand dairy farms. *Parasit Vectors.* 8, 240. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0855-9>
- Aliberti, N. (2017). Detección de *Cryptosporidium* spp en lechugas cultivadas en la cuenca del Río de Santa Lucía [WWW Document]. URL https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2845.
- Alsmark, C., Nolskog, P., Angervall, A.L., Toepfer, M., Winiecka-Krusnell, J., Bouwmeester, J., Bjelkmar, P., Troell, K., Lahti, E., Beser, J. (2018). Two outbreaks of cryptosporidiosis associated with cattle spring pasture events. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports* 14, 71–74. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.09.003>
- Alves, M., Xiao, L., Antunes, F., Matos, O. (2006). Distribution of *Cryptosporidium* subtypes in humans and domestic and wild ruminants in Portugal. *Parasitol. Res.* 99, 287–292. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0164-5>
- Alves, M., Xiao, L., Sulaiman, I., Lal, A.A., Matos, O., Antunes, F. (2003). Subgenotype analysis of *Cryptosporidium* isolates from humans, cattle, and zoo

ruminants in Portugal. *J. Clin. Microbiol.* 41, 2744–2747.

<https://doi.org/10.1128/JCM.41.6.2744-2747.2003>

Amer, S., Honma, H., Ikarashi, M., Tada, C., Fukuda, Y., Suyama, Y., Nakai, Y. (2010). *Cryptosporidium* genotypes and subtypes in dairy calves in Egypt. *Vet. Parasitol.* 169, 382–386. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.01.017>

Amer, S., Zidan, S., Adamu, H., Ye, J., Roellig, D., Xiao, L., Feng, Y. (2013). Prevalence and characterization of *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in Nile River delta provinces, Egypt. *Exp. Parasitol.* 135, 518–523. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.09.002>

Aráoz, V., Umpiérrez, A., Fraga, M., Casaux, M.L., Caffarena, R., Castells, M., Fernández, M., Colina, R., Zunino, P., Riet-Correa, F. (2017). Enteropatía por *Escherichia coli* enteropatógena y *Cryptosporidium* spp. en una ternera de un rodeo lechero con circulación de Rotavirus grupo A en Uruguay, En: Congreso Nacional de Biociencias. Montevideo, Uruguay.

Arslan MO, Ekinçi AI. (2012). Determination of *Cryptosporidium parvum* subtypes in cattle in Kars province of Turkey. *Kafkas. Univ. Vet. Fak. Derg.* 18, 221–226.

Avendaño, C., Ramo, A., Vergara-Castiblanco, C., Sánchez-Acedo, C., Quílez, J. (2018). Genetic uniqueness of *Cryptosporidium parvum* from dairy calves in Colombia. *Parasitol. Res.* 117, 1–7. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5818-6>

Barrington, G.M., Gay, J.M., Evermann, J.F. (2002). Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 18, 7–34. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(02\)00005-1](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(02)00005-1)

Bartels, C.J.M., Holzhauser, M., Jorritsma, R., Swart, W.A.J.M., Lam, T.J.G.M. (2010). Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Prev. Vet. Med.* 93, 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.09.020>

Berra, G., Osacar, G. (2012). Costos en crianza y recría de terneras de tambo [WWW Document]. URL <https://inta.gov.ar/documentos/presentacion-costos-en-crianza-y-recria-de-terneras-de-tambo>

- Betancourt, W.Q., Rose, J.B. (2004). Drinking water treatment processes for removal of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Vet. Parasitol.*
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.002>
- Blanchard, P.C. (2012). Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 28, 443–464.
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.07.002>
- Boulton, A.C., Rushton, J., Wathes, D.C. (2017). An empirical analysis of the cost of rearing dairy heifers from birth to first calving and the time taken to repay these costs. *Animal* 11, 1372–1380.
<https://doi.org/10.1017/S1751731117000064>
- Brankston, G., Boughen, C., Ng, V., Fisman, D.N., Sargeant, J.M., Greer, A.L. (2018). Assessing the impact of environmental exposures and *Cryptosporidium* infection in cattle on human incidence of cryptosporidiosis in Southwestern Ontario, Canada. *PLoS One* 13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196573>
- Brogia, A., Reckinger, S., Cacció, S.M., Nöckler, K. (2008). Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in Germany. *Vet. Parasitol.* 154, 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.02.029>
- Brook, E.J., Anthony Hart, C., French, N.P., Christley, R.M. (2009). Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* subtypes in cattle in England. *Vet. J.* 179, 378–382. <https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2007.10.023>
- Buczinski, S., Gicquel, E., Fecteau, G., Takwoingi, Y., Chigerwe, M., Vandeweerd, J.M. (2018). Systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum refractometry and brix refractometry for the diagnosis of inadequate transfer of passive immunity in calves. *J. Vet. Intern. Med.* 32, 474–483.
<https://doi.org/10.1111/jvim.14893>
- Budu-Amoako, E., Greenwood, S.J., Dixon, B.R., Barkema, H.W., McClure, J.T. (2012). *Giardia* and *Cryptosporidium* on dairy farms and the role these farms may play in contaminating water sources in Prince Edward Island, Canada. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 668–673. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00930.x>

- Busato, A., Lentze, T., Hofer, D., Burnens, A., Hentrich, B., Gaillard, C. (1998). A case control study of potential enteric pathogens for calves raised in cow-calf herds. *J. Vet. Med. Ser. B* 45, 519–528. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1998.tb00823.x>
- Cacciò, S.M., de Waele, V., Widmer, G. (2015). Geographical segregation of *Cryptosporidium parvum* multilocus genotypes in Europe. *Infect. Genet. Evol.* 31, 245–249. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.02.008>
- Caffarena, R D. (2017). Aspectos clínicos y epidemiológicos de la diarrea neonatal en terneros de tambos de Uruguay y su asociación con infección por *Cryptosporidium* spp. y *Escherichia coli* F5 (K99)+. Tesis de Maestría. Universidad de La República, Montevideo, Uruguay.
- Caffarena, R.D., Fraga, M., Castells, M., Colina, R., Schild, C.O., Giannitti, F. (2016). Detección de agentes causales de diarrea neonatal bovina en 2 tambos de Colonia, Uruguay, En: XLIV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay.
- Capurro, A., Deagosto, G., Ferro, F., Ithurralde, S., Oddone, G. (2020). Impacto social y económico del COVID-19 y opciones de políticas en Uruguay, PNUD Uruguay. Montevideo, Uruguay.
- Carey, C.M., Lee, H., Trevors, J.T. (2004). Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Res.* 38, 818–862. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.10.012>
- Casaux, M.L. (2018). *Salmonella enterica* en terneros lecheros de Uruguay: su rol como causal de enfermedad y mortalidad, caracterización de serotipos y resistencia a antibióticos. Tesis de Maestría. Universidad de La República, Montevideo, Uruguay.
- Casaux, M.L., Caffarena, R.D., Schild, C.O., Giannitti, F., Riet-Correa, F., Fraga, M. (2019). Antibiotic resistance in *Salmonella enterica* isolated from dairy calves in Uruguay. *Brazilian J. Microbiol.* 50, 1139–1144. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00151-w>
- Castells, M., Bertoni, E., Caffarena, R.D., Casaux, M.L., Schild, C., Victoria, M.,

- Riet-Correa, F., Giannitti, F., Parreño, V., Colina, R. (2019a). Bovine astrovirus surveillance in Uruguay reveals high detection rate of a novel *mamastrovirus* species. *Viruses* 12. <https://doi.org/10.3390/v12010032>
- Castells, M., Colina, R., Miño, S., Castells, F., Castells, D., Victoria, M., Riet-Correa, F., Caffarena, R.D., Casaux, M.L., Schild, C., Giannitti, F., Parreño, V. (2020). Phylogenetic analyses of rotavirus A from cattle in Uruguay reveal the circulation of common and uncommon genotypes and suggest interspecies transmission. *Pathogens* 9, 1–17. <https://doi.org/10.3390/pathogens9070570>
- Castells, M., Giannitti, F., Caffarena, R.D., Casaux, M.L., Schild, C., Castells, D., Riet-Correa, F., Victoria, M., Parreño, V., Colina, R. (2019b). Bovine coronavirus in Uruguay: genetic diversity, risk factors and transboundary introductions from neighboring countries. *Arch. Virol.* 164, 2715–2724. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04384-w>
- Castells, M., Schild, C., Caffarena, D., Bok, M., Giannitti, F., Armendano, J., Riet-Correa, F., Victoria, M., Parreño, V., Colina, R. (2018). Prevalence and viability of group A rotavirus in dairy farm water sources. *J. Appl. Microbiol.* 124, 922–929. <https://doi.org/10.1111/jam.13691>
- CDC (2011). Cryptosporidiosis outbreak at a summer camp --- North Carolina, 2009. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.*
- Cho, Y. Il, Han, J.I., Wang, C., Cooper, V., Schwartz, K., Engelken, T., Yoon, K.J. (2013). Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. *Vet. Microbiol.* 166, 375–385. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.07.001>
- Cho, Y. il, Yoon, K.J. (2014). An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J. Vet. Sci.* 15, 1–17. <https://doi.org/10.4142/jvs.2014.15.1.1>
- Climate Change & Infectious Diseases Group (2019). World Maps of Köppen-Geiger climate classification [WWW Document]. URL <http://koeppen-geiger.vu-wien.ac.at/> (17/08/20).
- Conti Diaz, I.A. (2001). Enfermedades emergentes y reemergentes en Uruguay. *Rev*

Med Uruguay 17, 180–199.

Cook, R. (2020). World cattle inventory vs. human population [WWW Document]. URL <https://beef2live.com/story-world-cattle-inventory-vs-human-population-country-0-111575> (17/08/20).

Cordeiro, N.F., D'Alessandro, B., Iriarte, A., Pickard, D., Yim, L., Chabalgoity, J.A., Betancor, L., Vignoli, R. (2018). Draft genome sequences of two multidrug-resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium clinical isolates from Uruguay. *Microbiol. Resour. Announc.* 7, e00917-18. <https://doi.org/10.1128/MRA.00917-18>

Costa, M., Bussoni, A., Mello, R., Santoro, M., Rodríguez, D., Landa, F. (2010). Campos de recría en el Uruguay: gestión de los recursos y formas contractuales. *Agrociencia Uruguay* 14, 66–76. <https://doi.org/10.2477/vol14iss2pp66-76>

CPA Ferrere (2017). Análisis del impacto de la exportación de ganado en pie en Uruguay. Montevideo, Uruguay. URL <https://rurales.elpais.com.uy/wp-content/uploads/2017/09/INFORME-CPA.pdf>

Cuttance, E.L., Mason, W.A., Laven, R.A., Phyn, C.V.C. (2018). The relationship between failure of passive transfer and mortality, farmer-recorded animal health events and body weights of calves from birth until 12 months of age on pasture-based, seasonal calving dairy farms in New Zealand. *Vet. J.* 236, 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.04.005>

da Silva Silveira, C., Maya, L., Casaux, M.L., Schild, C., Caffarena, D., Aráoz, V., da Costa, R.A., Macías-Rioseco, M., Perdomo, Y., Castells, M., Colina, R., Fraga, M., Riet-Correa, F., Giannitti, F. (2020). Diseases associated with bovine viral diarrhoea virus subtypes 1a and 2b in beef and dairy cattle in Uruguay. *Brazilian J. Microbiol.* 51, 357–368. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00170-7>

De La Fuente, R., Garcia, A., Ruiz-Santa-Quiteria, J.A., Luzón, M., Cid, D., García, S., Orden, J.A., Gómez-Bautista, M. (1998). Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. *Prev. Vet. Med.* 36, 145–152. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(98\)00077-4](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(98)00077-4)

- Del Coco, V.F., Córdoba, M.A., Bilbao, G., de Almeida Castro, A.P., Basualdo, J.A., Fayer, R., Santín, M. (2014). *Cryptosporidium parvum* GP60 subtypes in dairy cattle from Buenos Aires, Argentina. *Res. Vet. Sci.* 96, 311–314.
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.12.010>
- Del Coco, V.F., Sparo, M.D., Sidoti, A., Santín, M., Basualdo, J.A., Córdoba, M.A. (2016). Effects of *Enterococcus faecalis* CECT 7121 on *Cryptosporidium parvum* infection in mice. *Parasitol. Res.* 115, 3239–3244.
<https://doi.org/10.1007/s00436-016-5087-1>
- Díaz-Lee, A., Mercado, R., Onuoha, E.O., Ozaki, L.S., Muñoz, P., Muñoz, V., Martínez, F.J., Fredes, F. (2011). *Cryptosporidium parvum* in diarrheic calves detected by microscopy and identified by immunochromatographic and molecular methods. *Vet. Parasitol.* 176, 139–144.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.001>
- Dohoo, I.R., Martin, W., Stryhn, H.E. (2003). *Veterinary epidemiologic research*, 1 Ed. ed. AVC Inc., Charlottetown, Prince Edward Island, Canada.
- Donovan, G.A., Dohoo, I.R., Montgomery, D.M., Bennett, F.L. (1998). Calf and disease factors affecting growth in female Holstein calves in Florida, USA. *Prev. Vet. Med.* 33, 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(97\)00059-7](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(97)00059-7)
- Dos Santos, G., Beloni, T. (2016). Custo de produção de bezerras e novilhas leiteiras – Um estudo de caso. *Rev. IPecege* 2, 29–39.
<https://doi.org/10.22167/r.ipecege.2016.1.29>
- Dubovi, E.J. (2013). Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus. *Biologicals* 41, 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2012.06.004>
- Duranti, A., Cacciò, S.M., Pozio, E., Di Egidio, A., De Curtis, M., Battisti, A., Scaramozzino, P. (2009). Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in cattle. *Zoonoses Public Health* 56, 176–182.
<https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01173.x>
- Efstratiou, A., Ongerth, J.E., Karanis, P. (2017). Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2011–2016. *Water Res.* 114, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.036>

- Elliott, D.A., Clark, D.P. (2000). *Cryptosporidium parvum* induces host cell actin accumulation at the host- parasite interface. *Infect. Immun.* 68, 2315–2322.
<https://doi.org/10.1128/IAI.68.4.2315-2322.2000>
- Fariña, S.R., Chilibroste, P. (2019). Opportunities and challenges for the growth of milk production from pasture: The case of farm systems in Uruguay. *Agric. Syst.* 176. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.05.001>
- Fayer, R. (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp. Parasitol.* 124, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.03.005>
- Fayer, R., Andrews, C., Ungar, B.L., Blagburn, B. (1989). Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *J. Parasitol.* 75, 393–7. <https://doi.org/10.2307/3282595>
- Feng, Y., Ortega, Y., He, G., Das, P., Xu, M., Zhang, X., Fayer, R., Gatei, W., Cama, V., Xiao, L. (2007). Wide geographic distribution of *Cryptosporidium bovis* and the deer-like genotype in bovines. *Vet. Parasitol.* 144, 1–9.
<https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2006.10.001>
- Feng, Y., Torres, E., Li, N., Wang, L., Bowman, D., Xiao, L. (2013). Population genetic characterisation of dominant *Cryptosporidium parvum* subtype IIaA15G2R1. *Int. J. Parasitol.* 43, 1141–1147.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.09.002>
- Foster, D.M., Smith, G.W. (2009). Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 25, 13–36.
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.013>
- Gabler, M.T., Tozer, P.R., Heinrichs, A.J. (2000). Development of a cost analysis spreadsheet for calculating the costs to raise a replacement dairy heifer. *J. Dairy Sci.* 83, 1104–1109. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74975-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74975-7)
- Gharpure, R., Perez, A., Miller, A.D., Wikswa, M.E., Silver, R., Hlavsa, M.C. (2019). Cryptosporidiosis Outbreaks — United States, 2009–2017. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 68, 568–572.
<https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6825a3>
- Giannitti, F., Caffarena, R.D., Pesavento, P., Uzal, F.A., Maya, L., Fraga, M.,

- Colina, R., Castells, M. (2019). The first case of bovine astrovirus-associated encephalitis in the Southern hemisphere (Uruguay), uncovers evidence of viral introduction to the Americas from Europe. *Front. Microbiol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01240>
- Glover, A.D., Puschner, B., Rossow, H.A., Lehenbauer, T.W., Champagne, J.D., Blanchard, P.C., Aly, S.S. (2013). A double-blind block randomized clinical trial on the effect of zinc as a treatment for diarrhea in neonatal Holstein calves under natural challenge conditions. *Prev. Vet. Med.* 112, 338–347. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.09.001>
- Godden, S.M., Lombard, J.E., Woolums, A.R. (2019). Colostrum management for dairy calves. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 35, 535–556. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.005>
- Gomez, D.E., Weese, J.S. (2017). Viral enteritis in calves. *Can. Vet. J.* 58, 1267–1274.
- Gong, C., Cao, X.F., Deng, L., Li, W., Huang, X.M., Lan, J.C., Xiao, Q.C., Zhong, Z.J., Feng, F., Zhang, Y., Wang, W.B., Guo, P., Wu, K.J., Peng, G.N. (2017). Epidemiology of *Cryptosporidium* infection in cattle in China: A review. *Parasite*. <https://doi.org/10.1051/parasite/2017001>
- Grimont, P., Weill, F. (2007). Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars, 9 Ed. ed. WHO, Paris, France.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* <https://doi.org/citeulike-article-id:691774>
- Hancock-Allen, J., Alden, N.B., Cronquist, A.B. (2017). Cryptosporidiosis outbreak at an academic animal research laboratory—Colorado, 2014. *Am. J. Ind. Med.* 60, 208–214. <https://doi.org/10.1002/ajim.22630>
- Heinrichs, A.J., Heinrichs, B.S. (2011). A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd. *J. Dairy Sci.* 94, 336–341. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3170>
- Heinrichs, A.J., Jones, C.M., Gray, S.M., Heinrichs, P.A., Cornelisse, S.A.,

- Goodling, R.C. (2013). Identifying efficient dairy heifer producers using production costs and data envelopment analysis. *J. Dairy Sci.* 96, 7355–7362. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6488>
- Helmy, Y.A., Krücken, J., Nöckler, K., von Samson-Himmelstjerna, G., Zessin, K.H. (2013). Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* in livestock animals and humans in the Ismailia province of Egypt. *Vet. Parasitol.* 193, 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.015>
- Helmy, Y.A., Von Samson-Himmelstjerna, G., Nöckler, K., Zessin, K.H. (2014). Frequencies and spatial distributions of *Cryptosporidium* in livestock animals and children in the Ismailia province of Egypt. *Epidemiol. Infect.* 143, 1208–1218. <https://doi.org/10.1017/S0950268814001824>
- Hira, K.G., Mackay, M.R., Hempstead, A.D., Ahmed, S., Karim, M.M., O’Connor, R.M., Hibberd, P.L., Calderwood, S.B., Ryan, E.T., Khan, W.A., Ward, H.D. (2011). Genetic diversity of *Cryptosporidium* spp. from Bangladeshi children. *J. Clin. Microbiol.* 49, 2307–2310. <https://doi.org/10.1128/JCM.00164-11>
- Hong, S., Kim, K., Yoon, S., Park, W.Y., Sim, S., Yu, J.R. (2014). Detection of *Cryptosporidium Parvum* in environmental soil and vegetables. *J. Korean Med. Sci.* 29, 1367–1371. <https://doi.org/10.3346/jkms.2014.29.10.1367>
- Hulbert, L.E., Moisés, S.J. (2016). Stress, immunity, and the management of calves 1. *J. Dairy Sci.* 99, 3199–3216. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10198>
- IFCN. (2020). Covid-19 related dairy crisis - the fear is bigger than it’s impact - yet [WWW Document]. URL <https://ifcndairy.org/press-information-ifcn-dairy-conference-2020/> (12/08/20).
- Instituto Nacional de la Leche (INALE). (2014). Primeros resultados de la Encuesta Lechera INALE 2014 [WWW Document]. URL <http://www.inale.org/innovaportal/v/4086/4/innova.front/primeros-resultados-de-la-encuesta-lechera-inale-2014.html> (31/07/18).
- Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) - Unidad de Agroclima y Sistemas de Información (GRAS). (2020). Portal INIA Banco datos

agroclimatico [WWW Document]. URL <http://www.inia.uy/gras/Clima/Banco-datos-agroclimatico> (29/06/20).

- International Federation of Red Cross and Red Crescent Societies (IFRC). (2016). DREF Final Report – Uruguay: Floods and Tornado. [WWW Document]. URL <https://reliefweb.int/report/uruguay/uruguay-floods-and-tornado-dref-final-report-epoa-mdruy002>
- Iqbal, A., Lim, Y.A.L., Surin, J., Sim, B.L.H. (2012). High diversity of *Cryptosporidium* subgenotypes identified in Malaysian HIV/AIDS individuals targeting gp60 gene. PLoS One 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031139>
- Izzo, M.M., Kirkland, P.D., Gu, X., Lele, Y., Gunn, A.A., House, J.K. (2012). Comparison of three diagnostic techniques for detection of rotavirus and coronavirus in calf faeces in Australia. Aust. Vet. J. 90, 122–129. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2011.00891.x>
- Izzo, M.M., Kirkland, P.D., Mohler, V.L., Perkins, N.R., Gunn, A.A., House, J.K. (2011). Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. Aust. Vet. J. 89, 167–173. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2011.00692.x>
- Jung, I., Kulldorff, M., Richard, O.J. (2010). A spatial scan statistic for multinomial data. Stat. Med. 29, 1910–1918. <https://doi.org/10.1002/sim.3951>
- Kabir, M.H. Bin, Ceylan, O., Ceylan, C., Shehata, A.A., Bando, H., Essa, M.I., Xuan, X., Sevinc, F., Kato, K. (2020). Molecular detection of genotypes and subtypes of *Cryptosporidium* infection in diarrheic calves, lambs, and goat kids from Turkey. Parasitol. Int. 79, 102163. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102163>
- Khalil, S., Mirdha, B.R., Paul, J., Panda, A., Singh, Y. (2017). Disseminated cryptosporidiosis: case report and literature review. World J. Clin. Infect. Dis. 7, 32. <https://doi.org/10.5495/wjcid.v7.i2.32>
- Khan, A., Shaik, J.S., Grigg, M.E. (2018). Genomics and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* species. Acta Trop.

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.10.023>

- Kossaibati, M.A., Esslemont, R.J. (1997). The costs of production diseases in dairy herds in England. *Vet. J.* 154, 41–51. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(05\)80007-3](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(05)80007-3)
- Kulldorff, M. (1997). A spatial scan statistic. *Commun. Stat. - Theory Methods* 26, 1481–1496. <https://doi.org/10.1080/03610929708831995>
- Kváč, M., Kouba, M., Vítovec, J. (2006). Age-related and housing-dependence of *Cryptosporidium* infection of calves from dairy and beef herds in South Bohemia, Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 137, 202–209. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2006.01.027>
- Lefkaditis, M., Mpairamoglou, R., Sossidou, A., Spanoudis, K., Tsakiroglou, M., Györke, A. (2020). Importance of colostrum IgG antibodies level for prevention of infection with *Cryptosporidium parvum* in neonatal dairy calves. *Prev. Vet. Med.* 176, 104904. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.104904>
- Lombardelli, J.A., Tomazic, M.L., Schnittger, L., Tiranti, K.I. (2019). Prevalence of *Cryptosporidium parvum* in dairy calves and GP60 subtyping of diarrheic calves in central Argentina. *Parasitol. Res.* 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00436-019-06366-y>
- Mahfouz, M.E. Isaye., Mira, N., Amer, S. (2014). Prevalence and genotyping of *Cryptosporidium* spp. in farm animals in Egypt. *J. Vet. Med. Sci.* 76, 1569–1575. <https://doi.org/10.1292/jvms.14-0272>
- Mammeri, M., Chevillot, A., Chenafi, I., Julien, C., Vallée, I., Polack, B., Follet, J., Adjou, K.T. (2019). Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from diarrheal dairy calves in France. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports* 18. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100323>
- Martin, G., Demateis, F. (2017). Desde la guachera hasta el servicio : ¿ Cuánto cuesta criar una vaquillona de tambo ? [WWW Document]. URL https://inta.gob.ar/sites/default/files/desde_la_guachera_hasta_el_servicio.pdf
- Martinez, B.A.F., Leotti, V.B., Silva, G. de S. e, Nunes, L.N., Machado, G., Corbellini, L.G. (2017). Odds Ratio or Prevalence Ratio? An overview of

reported statistical methods and appropriateness of interpretations in cross-sectional studies with dichotomous outcomes in veterinary medicine. *Front. Vet. Sci.* 4, 193. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00193>

Maya, L., Puentes, R., Reolón, E., Acuña, P., Riet, F., Rivero, R., Cristina, J., Colina, R. (2016). Molecular diversity of bovine viral diarrhea virus in Uruguay. *Arch. Virol.* 161, 529–535. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2688-4>

McConnel, C.S., Nelson, D.D., Burbick, C.R., Buhrig, S.M., Wilson, E.A., Klatt, C.T., Moore, D.A. (2019). Clarifying dairy calf mortality phenotypes through postmortem analysis. *J. Dairy Sci.* 102, 4415–4426. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15527>

McEwen, S.A., Fedorka-Cray, P.J. (2002). Antimicrobial use and resistance in animals. *Clin. Infect. Dis.* 34, S93–S106. <https://doi.org/10.1086/340246>

McGuirk, S.M. (2008). Disease management of dairy calves and heifers. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 24, 139–153. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.003>

Meireles, M.V., Soares, R.M., Bonello, F., Gennari, S.M. (2007). Natural infection with zoonotic subtype of *Cryptosporidium parvum* in Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Brazil. *Vet. Parasitol.* 147, 166–170. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.03.034>

Meireles, M. V., De Oliveira, F.P., Teixeira, W.F.P., Coelho, W.M.D., Mendes, L.C.N. (2011). Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in dairy calves from the state of São Paulo, Brazil. *Parasitol. Res.* 109, 949–951. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2336-1>

Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP). (2020). Modelo digital de Terreno [WWW Document]. URL <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/tramites-y-servicios/servicios/modelo-digital-terreno> (17/08/20).

Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) - Oficina de Estadísticas Agropecuarias (DIEA). (2019). Anuario Estadístico Agropecuario 2019.

[WWW Document]. URL <http://www.mgap.gub.uy/unidad-organizativa/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-diea> (10/05/20).

Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. (2020). Datos Abiertos | Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca [WWW Document]. URL <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/datos-abiertos> (9/10/20).

Ministerio de Turismo del Uruguay. (2020). Agro-tourism [WWW Document]. URL <https://turismo.gub.uy/index.php/en/places-to-go/south-central-region/beaches/atlantida/item/1193-agro-tourism> (18/08/20).

Ministerio de Vivienda Ordenamiento territorial y Medio ambiente (MVOTMA) - Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA). (2020). Sistema de información ambiental [WWW Document]. URL <https://www.dinama.gub.uy/visualizador/index.php?vis=sig> (17/08/20).

Mohd Nor, N., Steeneveld, W., Mourits, M.C.M., Hogeveen, H. (2012). Estimating the costs of rearing young dairy cattle in the Netherlands using a simulation model that accounts for uncertainty related to diseases. *Prev. Vet. Med.* 106, 214–224. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.03.004>

Naciri, M., Paul Lefay, M., Mancassola, R., Poirier, P., Chermette, R. (1999). Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet. Parasitol.* 85, 245–257. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(99\)00111-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00111-9)

Ng, J., Eastwood, K., Durrheim, D., Massey, P., Walker, B., Armson, A., Ryan, U. (2008). Evidence supporting zoonotic transmission of *Cryptosporidium* in rural New South Wales. *Exp. Parasitol.* 119, 192–195. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.01.010>

Ng, J., Yang, R., McCarthy, S., Gordon, C., Hijjawi, N., Ryan, U. (2011). Molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* in pre-weaned calves in Western Australia and New South Wales. *Vet. Parasitol.* 176, 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.056>

- Ng, J.S.Y., Eastwood, K., Walker, B., Durrheim, D.N., Massey, P.D., Porignaux, P., Kemp, R., McKinnon, B., Laurie, K., Miller, D., Bramley, E., Ryan, U. (2012). Evidence of *Cryptosporidium* transmission between cattle and humans in northern New South Wales. *Exp. Parasitol.* 130, 437–441. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.01.014>
- Nguyen, T.D., Vo, T.T., Vu-Khac, H. (2011). Virulence factors in *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Vietnam. *J. Vet. Sci.* 12, 159–164. <https://doi.org/10.4142/jvs.2011.12.2.159>
- Nielsen, L.R., van den Borne, B., van Schaik, G. (2007). *Salmonella* Dublin infection in young dairy calves: Transmission parameters estimated from field data and an SIR-model. *Prev. Vet. Med.* 79, 46–58. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.11.006>
- Norman, H.D., Wright, J.R., Kuhn, M.T., Hubbard, S.M., Cole, J.B., VanRaden, P.M. (2009). Genetic and environmental factors that affect gestation length in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 92, 2259–2269. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0982>
- O'Brien, E., McInnes, L., Ryan, U. (2008). *Cryptosporidium* GP60 genotypes from humans and domesticated animals in Australia, North America and Europe. *Exp. Parasitol.* 118, 118–121. <https://doi.org/10.1016/J.EXPPARA.2007.05.012>
- Obras Sanitarias del Estado | Uruguay (OSE). (2020a). Abastecimiento [WWW Document]. URL <http://www.ose.com.uy/agua> (18/08/20).
- Obras Sanitarias del Estado | Uruguay (OSE). (2020b). Etapas del Proceso de Potabilización [WWW Document]. URL <http://www.ose.com.uy/agua/etapas-del-proceso-de-potabilizacion> (18/08/20).
- Octavia, S., Lan, R. (2014). The *Enterobacteriaceae* family, En: Rosenberg, E., DeLong, E., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. (Eds.), *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Germany, pp. 225–275.
- Ok, M., Güler, L., Turgut, K., Ok, Ü., Şen, I., Gündüz, I.K., Birdane, M.F., Güzelbekteş, H. (2009). The studies on the aetiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. *Zoonoses Public Health* 56, 94–101.

<https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01156.x>

- Oliveira Filho, J.P., Silva, D.P.G., Pacheco, M.D., Mascarini, L.M., Ribeiro, M.G., Alfieri, A.A., Alfieri, A.F., Stipp, D.T., Barros, B.J.P., Borges, A.S. (2007). Diarréia em bezerros da raça Nelore criados extensivamente: estudo clínico e etiológico. *Pesqui. Veterinária Bras.* 27, 419–424.
<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2007001000006>
- Ong, C., Moorehead, W., Ross, A., Isaac-Renton, J. (1996). Studies of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in two adjacent watersheds. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2798–2805. <https://doi.org/10.1128/aem.62.8.2798-2805.1996>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) - Federación Panamericana de Lechería (FEPALE). (2012). Situación de la lechería en América Latina y el Caribe en 2011 [WWW Document]. URL http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Dairy/Documents/Paper_Lecher%C3%ADa_AmLatina_2011.pdf
- Ott, S.L., Wells, S.J., Wagner, B.A. (1999). Herd-level economic losses associated with Johne's disease on US dairy operations. *Prev. Vet. Med.* 40, 179–192.
[https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(99\)00037-9](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(99)00037-9)
- Parreño, V., Béjar, C., Vagnozzi, A., Barranteguy, M., Costantini, V., Craig, M.I., Yuan, L., Hodgins, D., Saif, L., Fernández, F. (2004). Modulation by colostrum-acquired maternal antibodies of systemic and mucosal antibody responses to rotavirus in calves experimentally challenged with bovine rotavirus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 100, 7–24.
<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.02.007>
- Pasayo, R.A.G., Sanz, M.E., Padola, N.L., Moreira, A.R. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of enterotoxigenic *escherichia coli* isolated from diarrheic calves in Argentina. *Open Vet. J.* 9, 65–73.
<https://doi.org/10.4314/ovj.v9i1.12>
- Peña Frías, S. (2016). Caracterización molecular de *Cryptosporidium parvum* aislado en bovinos con diarrea neonatal en dos regiones de Chile usando el gen gp60. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

- Pérez, E., Kummeling, A., Janssen, M.M.H., Jiménez, C., Alvarado, R., Caballero, M., Donado, P., Dwinger, R.H. (1998). Infectious agents associated with diarrhoea of calves in the canton of Tilarán, Costa Rica. *Prev. Vet. Med.* 33, 195–205. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(97\)00038-X](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(97)00038-X)
- Picco, N.Y., Alustiza, F.E., Bellingeri, R. V., Grosso, M.C., Motta, C.E., Larriestra, A.J., Vissio, C., Tiranti, K.I., Terzolo, H.R., Moreira, A.R., Vivas, A.B. (2015). Detección molecular de cepas patógenas de *Escherichia coli* aisladas de terneros neonatos de tambo en la provincia de Córdoba, Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.* 47, 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.01.006>
- PROLESA. (2020). PROLESA - Productos [WWW Document]. URL <https://ecommerce.prolesa.com.uy/> (19/11/20).
- QGIS Development Team. (2019). Release 3.8.0-Zanzíbar.
- Razzaque, M.A., Bedair, M., Abbas, S., Al-Mutawa, T. (2009). Economic impact of calf mortality on dairy farms in Kuwait. *Pak. Vet. J.* 29, 97–101.
- Razzaque, M.A., Mohammed, S.A., Al-Mutawa T. (2010). Dairy Heifer Rearing in Hot Arid Zone : An Economic Assessment. *Am. J. Appl. Sci.* 7, 466–472. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2010.466.472>
- Richter, V., Lebl, K., Baumgartner, W., Obritzhauser, W., Käsbohrer, A., Pinior, B. (2017). A systematic worldwide review of the direct monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection. *Vet. J.* 220, 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.01.005>
- Rieux, A., Chartier, C., Pors, I., Delafosse, A., Paraud, C. (2013). Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from high-excreting young dairy calves in dairy cattle herds in Western France. *Parasitol. Res.* 112, 3423–3431. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3520-2>
- Robison, J., Stott, G., DeNise, S. (1988). Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. *J. Dairy Sci.* 71, 1283–1287. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79684-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79684-8)
- Roossinck, M.J. (2011). The good viruses: Viral mutualistic symbioses. *Nat. Rev. Microbiol.* <https://doi.org/10.1038/nrmicro2491>

- Santos, G., Lopes, M.A. (2014). Custos de produção de fêmeas bovinas leiteiras do nascimento ao primeiro parto. *Cienc. Anim. Bras.* 15, 11–19.
<https://doi.org/10.5216/cab.v15i1.14634>
- Sayin Ipek, D. (2017). Prevalence and molecular characterisation of *Cryptosporidium* spp. in diarrhoeic pre-weaned goat kids reared under traditional farming system in Diyarbakir, Southeastern Anatolia City, Turkey. *Rev. Med. Vet.* 168, 229–234.
- Schelotto, F., Pérez, R., Maglione, R., Algorta, G., Montano, A., Garela, G., Zanetta, E., Acuña, A., Chiparelli, H., Hortal de Peluffo, M. (1991.) No Title, in: XI Congreso Latinoamericano de Microbiología. Buenos Aires, Argentina., p. C 73.
- Schild, C. (2017). Estimación de la tasa de mortalidad anual de terneros y caracterización de los sistemas de crianza en establecimientos lecheros de Uruguay. Tesis de Maestría. Facultad de Veterinaria, Universidad de La República, Montevideo, Uruguay.
- Schild, C.O., Caffarena, R.D., Gil, A., Sánchez, J., Riet-Correa, F., Giannitti, F. (2020). A survey of management practices that influence calf welfare and estimating the annual calf mortality risk in pastured dairy herds in Uruguay. *J. Dairy Sci.* 103, 9418-9429. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18177>
- Schreiber-Gregory, D.N., Jackson, H.M. (2017). Multicollinearity: What is it, Why should we care, and how can it be controlled?, En: Proceedings of the SAS® Global Forum 2017.
- Seegers, H., Fourichon, C., Beaudeau, F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet. Res.* 34, 475–491.
<https://doi.org/10.1051/vetres:2003027>
- Segura, R., Prim, N., Montemayor, M., Valls, M.E., Muñoz, C. (2015). Predominant virulent IbA10G2 subtype of *Cryptosporidium hominis* in human isolates in barcelona: A five-year study. *PLoS One* 10, 1–7.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121753>
- Sergeant, E. (2018). Epitools epidemiological calculators - Ausvet [WWW

Document]. URL <https://epitools.ausvet.com.au/> (9/10/20).

Sharp, C.P., Gregory, W.F., Mason, C., Bronsvort, B.M. d. C., Beard, P.M. (2015). High prevalence and diversity of bovine astroviruses in the faeces of healthy and diarrhoeic calves in South West Scotland. *Vet. Microbiol.* 178, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.05.002>

Silverlås, C., De Verdier, K., Emanuelson, U., Mattsson, J.G., Björkman, C. (2010). *Cryptosporidium* infection in herds with and without calf diarrhoeal problems. *Parasitol. Res.* 107, 1435–1444. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2020-x>

Smith, K.E., Stenzel, S.A., Bender, J.B., Wagstrom, E., Soderlund, D., Leano, F.T., Taylor, C.M., Belle-Isle, P.A., Danila, R. (2004). Outbreaks of enteric infections caused by multiple pathogens associated with calves at a farm day camp. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 23, 1098–1104. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000145409.74116.e5>

Sociedad de medicina veterinaria del Uruguay (SMVU). (2020). Aranceles Veterinarios [WWW Document]. URL <http://www.smvu.com.uy/aranceles.html> (17/08/20).

Sulaiman, I.M., Hira, P.R., Zhou, L., Al-Ali, F.M., Al-Shelahi, F.A., Shweiki, H.M., Iqbal, J., Khalid, N., Xiao, L. (2005). Unique endemicity of cryptosporidiosis in children in Kuwait. *J. Clin. Microbiol.* 43, 2805–2809. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.6.2805-2809.2005>

Symonds, M.R.E., Moussalli, A. (2011). A brief guide to model selection, multimodel inference and model averaging in behavioural ecology using Akaike's information criterion. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 65, 13–21. <https://doi.org/10.1007/s00265-010-1037-6>

Taylan-Ozkan, A., Yasa-Duru, S., Usluca, S., Lysen, C., Ye, J., Roellig, D.M., Feng, Y., Xiao, L. (2016). *Cryptosporidium* species and *Cryptosporidium parvum* subtypes in dairy calves and goat kids reared under traditional farming systems in Turkey. *Exp. Parasitol.* 170, 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.06.014>

Taylor, L.F., Janzen, E.D., Van Donkersgoed, J. (1997). Losses over a 2-year period

associated with fetal infection with the bovine viral diarrhea virus in a beef cow-calf herd in Saskatchewan. *Can. Vet. J.* 38, 23–28.
<https://doi.org/10.4141/cjas58-003>

Thompson, H.P., Dooley, J.S.G., Kenny, J., McCoy, M., Lowery, C.J., Moore, J.E., Xiao, L. (2006). Genotypes and subtypes of *Cryptosporidium* spp. in neonatal calves in Northern Ireland. *Parasitol. Res.* 100, 619–624.
<https://doi.org/10.1007/s00436-006-0305-x>

Thompson, J., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G. (1997). The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 25, 4876–4882.
<https://doi.org/10.1093/nar/25.24.4876>

Tiranti, K., Larriestra, A., Vissio, C., Picco, N., Alustiza, F., Degioanni, A., Vivas, A. (2012). Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp., spatial clustering and patterns of shedding in dairy calves from Córdoba, Argentina. *Rev. Bras. Parasitol. Veterinária* 20, 140–147. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612011000200009>

Toledo, R.D.S., Martins, F.D.C., Ferreira, F.P., De Almeida, J.C., Ogawa, L., Dos Santos, H.L.E.P.L., Dos Santos, M.M., Pinheiro, F.A., Navarro, I.T., Garcia, J.L., Freire, R.L. (2017). *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in feces and water and the associated exposure factors on dairy farms. *PLoS One* 12, 1–20.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175311>

Tomazic, M.L., Maidana, J., Dominguez, M., Uriarte, E.L., Galarza, R., Garro, C., Florin-Christensen, M., Schnittger, L. (2013). Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from calves in Argentina. *Vet. Parasitol.* 198, 382–386. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.09.022>

Torres, M.E., Pérez, M.C., Schelotto, F., Varela, G., Parodi, V., Allende, F., Falconi, E., Dell'Acqua, L., Gaione, P., Mendez, M. V., Ferrari, A.M., Montano, A., Zanetta, E., Acuña, A.M., Chiparelli, H., Ingold, E. (2001). Etiology of children's diarrhea in Montevideo, Uruguay: Associated pathogens and unusual isolates. *J. Clin. Microbiol.* 39, 2134–2139.
<https://doi.org/10.1128/JCM.39.6.2134-2139.2001>

- Tozer, P.R., Heinrichs, A.J. (2001). What affects the costs of raising replacement dairy heifers: A multiple-component analysis. *J. Dairy Sci.* 84, 1836–1844. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74623-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74623-1)
- Trejo-Cerro, O., Aguilar-Hernández, N., Silva-Ayala, D., López, S., Arias, C.F. (2019). The actin cytoskeleton is important for rotavirus internalization and RNA genome replication. *Virus Res.* 263, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.01.003>
- Tse, H., Chan, W.-M., Tsoi, H.-W., Fan, R.Y.Y., Lau, C.C.Y., Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., Yuen, K.-Y. (2011). Rediscovery and genomic characterization of bovine astroviruses. *J. Gen. Virol.* 92, 1888–1898. <https://doi.org/10.1099/vir.0.030817-0>
- Uetake, K. (2013). Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. *Anim. Sci. J.* 84, 101–105. <https://doi.org/10.1111/asj.12019>
- Uhde, F.L., Kaufmann, T., Sager, H., Albini, S., Zanoni, R., Schelling, E., Meylan, M. (2008). Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland. *Vet. Rec.* 163, 362–366.
- Umpiérrez, A., Acquistapace, S., Fernández, S., Oliver, M., Acuña, P., Reolón, E., Zunino, P. (2016). Prevalence of *Escherichia coli* adhesion-related genes in neonatal calf diarrhea in Uruguay. *J. Infect. Dev. Ctries.* 10, 472. <https://doi.org/10.3855/jidc.7102>
- Umpiérrez, A., Ernst, D., Fernández, M., Oliver, M., Casaux, M.L., Caffarena, R.D., Schild, C., Giannitti, F., Fraga, M., Zunino, P. (2020). Virulence genes of *Escherichia coli* in diarrheic and healthy calves. *Rev. Argent. Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.04.004>
- Urie, N.J., Lombard, J.E., Shivley, C.B., Koprak, C.A., Adams, A.E., Earleywine, T.J., Olson, J.D., Garry, F.B. (2018). Preweaned heifer management on US dairy operations: Part V. Factors associated with morbidity and mortality in preweaned dairy heifer calves. *J. Dairy Sci.* 101, 9229–9244. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14019>
- Uruguay Natural. (2017). Uruguay received more than 3 million tourists during

- 2016 [WWW Document]. URL <https://marcapaisuruguay.gub.uy/en/uruguay-received-more-than-3-million-tourists-during-2016/> (18/08/20).
- Uruguay XXI. (2020). SIE - Sistema de información de exportaciones [WWW Document]. URL <http://aplicaciones.uruguayxxi.gub.uy/uruguayxxi/inteligencia/sie/> (16/08/20).
- USDA. (2010). Dairy 2007, Heifer calf health and management practices on U.S. dairy operations. Fort Collins, CO, USA.
- USDA. (2002). Part I: Reference of dairy health and management in the United States, 2002 1–92. Fort Collins, CO, USA.
- Uzal, F., Plattner, B., Hostetter, J. (2016). Alimentary system, En: Maxie, G. (Ed.), Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Elsevier, St. Louis, Missouri, USA, pp. 112–113.
- Valbuena-García, A.M., Rodríguez-Villamizar, L.A. (2018). Análisis espacial en epidemiología: revisión de métodos. Salud UIS. 50, 358–365. <https://doi.org/10.18273/revsal.v50n4-2018009>
- Valenzuela, O., González-Díaz, M., Garibay-Escobar, A., Burgara-Estrella, A., Cano, M., Durazo, M., Bernal, R.M., Hernandez, J., Xiao, L. (2014). Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in children from Mexico. PLoS One 9, 1–5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096128>
- Van Campen, H., Vorpahl, P., Huzurbazar, S., Edwards, J., Cavender, J. (2000). A case report: Evidence for type 2 bovine viral diarrhea virus (BVDV)-associated disease in beef herds vaccinated with a modified-live type 1 BVDV vaccine. J. Vet. Diagnostic Investig. 12, 263–265. <https://doi.org/10.1177/104063870001200312>
- Waage, S., Ødegaard, S.A., Lund, A., Brattgjerd, S., Røthe, T. (2001). Case-control study of risk factors for clinical mastitis in postpartum dairy heifers. J. Dairy Sci. 84, 392–399. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(01\)74489-x](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(01)74489-x)
- Walter, J.E., Mitchell, D.K. (2003). Astrovirus infection in children. Curr. Opin. Infect. Dis. 16, 247–53. <https://doi.org/10.1097/01.qco.0000073775.11390.60>

- Wang, R., Wang, H., Sun, Y., Zhang, L., Jian, F., Qi, M., Ning, C., Xiao, L. (2011). Characteristics of *Cryptosporidium* transmission in preweaned dairy cattle in Henan, China. *J. Clin. Microbiol.* 49, 1077–1082. <https://doi.org/10.1128/JCM.02194-10>
- Wegayehu, T., Karim, R., Anberber, M., Adamu, H., Erko, B., Zhang, L., Tilahun, G. (2016). Prevalence and genetic characterization of *Cryptosporidium* species in dairy calves in Central Ethiopia. *PLoS One* 11, e0154647. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154647>
- Wells, S.J., Dargatz, D.A., Ott, S.L. (1996). Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States. *Prev. Vet. Med.* 29, 9–19. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(96\)01061-6](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(96)01061-6)
- Widerström, M., Schönning, C., Lilja, M., Lebbad, M., Ljung, T., Allestam, G., Ferm, M., Björkholm, B., Hansen, A., Hiltula, J., Långmark, J., Löfdahl, M., Omberg, M., Reuterwall, C., Samuelsson, E., Widgren, K., Wallensten, A., Lindh, J. (2014). Large outbreak of *Cryptosporidium hominis* infection transmitted through the public water supply, Sweden. *Emerg. Infect. Dis.* 20, 581–589. <https://doi.org/10.3201/eid2004.121415>
- Woode, G.N., Bridger, J.C. (1978). Isolation of Small Viruses Resembling Astroviruses and Caliciviruses from Acute Enteritis Of Calves. *J. Med. Microbiol.* 11, 441–452. <https://doi.org/10.1099/00222615-11-4-441>
- Xiao, L. (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: An update. *Exp. Parasitol.* 124, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.03.018>
- Xiao, L., Alderisio, K., Limor, J., Royer, M., Lal, A.A. (2000). Identification of species and sources of *Cryptosporidium* oocysts in storm waters with a small-subunit rRNA-based diagnostic and genotyping tool. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 5492–5498. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.12.5492-5498.2000>
- Xiao, L., Escalante, L., Yang, C., Sulaiman, I., Escalante, A.A., Montali, R.J., Fayer, R., Lal, A.A. (1999). Phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* parasites based on the small- subunit rRNA gene locus. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 1578–1583. <https://doi.org/10.1128/aem.65.4.1578-1583.1999>

- Xiao, L., Fayer, R. (2008). Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *Int. J. Parasitol.* 38, 1239–1255. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.006>
- Xiao, L., Feng, Y. (2008). Zoonotic cryptosporidiosis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 52, 309–323. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2008.00377.x>
- Xiao, L., Zhou, L., Santin, M., Yang, W., Fayer, R. (2007). Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in eastern United States. *Parasitol. Res.* 100, 701–706. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0337-2>
- Yildirim, A., Adanir, R., Inci, A., Yukari, B.A., Duzlu, O., Onder, Z., Ciloglu, A., Simsek, E. (2020). Prevalence and genotyping of bovine *Cryptosporidium* species in the Mediterranean and Central Anatolia Region of Turkey. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 69, 101425. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101425>
- Zanetta, E., Bonifacino, R., Carmona, C., Acuña, A., Guerrero, J. (1987). Primeros hallazgos en Uruguay de un nuevo agente de diarrea aguda infantil: *Cryptosporidium* sp. *Arch. Pediatr. Urug.* 58, 37–45.
- Zhang, S., Kingsley, R.A., Santos, R.L., Andrews-Polymenis, H., Raffatellu, M., Figueiredo, J., Nunes, J., Tsolis, R.M., Adams, L.G., Bäumlner, A.J. (2003). Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype typhimurium-induced diarrhea. *Infect. Immun.* 71, 1–12. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.1.1>
- Zimmer, G.M., Van Maanen, C., De Goey, I., Brinkhof, J., Wentink, G.H. (2004). The effect of maternal antibodies on the detection of bovine virus diarrhoea virus in peripheral blood samples. *Vet. Microbiol.* 100, 145–149. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.03.008>

ANEXOS

ANEXO 1:

Tabla suplementaria 1. Información adicional sobre las guacheras y animales incluidos en el estudio.

N° de establecimiento	Departamento	n° caravana	Diarrea	Edad al muestreo (días)	Edad al muestreo (semanas)	Concentración de proteínas totales (g/dl)	Moco_MF	Fibrina_MF	¿Muer te antes del desleche?	Edad a la muerte (días)	Edad mínima de supervivencia en días (tiempo de seguimiento)	Rotavirus	BCoV	<i>E. coli</i> F5+	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>Salmonella enterica</i>	BoAstrV	BVDV
1	Colonia	5460	1	3	1	4	0	0	0		60	1	0	0	0	0		
1	Colonia	5437	0	4	1	6,4	0	0	0		60	1	0	0	0	0		
1	Colonia	5434	1	4	1	5,4	0	0	0		60	1	0	0	0	0		
1	Colonia	5435	0	4	1	5	0	0	0		60	0	0	0	0	0		
1	Colonia	5436	1	4	1	4,6	0	0	0		60	1	0	0	0	0		
1	Colonia	5430	1	7	1	6,8	0	0	0		60	1	0	0	1	0		
1	Colonia	5431	1	7	1	6	0	0	0		60	0	0	0	1	0		
1	Colonia	5424	0	14	2		0	0	0		60	0	0	0	0	0		
1	Colonia	9890	0	9	2		0	0	0		60	0	0	0	1	1		0
1	Colonia	9889	1	9	2		1	1	0		60	0	0	0	1	0		0
1	Colonia	5552	0	9	2		1	0	0		60	0	0	0	1	1	0	0
1	Colonia	9891	1	9	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
1	Colonia	9895	0	9	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0

1	Colonia	5551	1	13	2		1	1	0		60	1	0	0	1	1		0
1	Colonia	9888	1	14	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
1	Colonia	5549	0	20	3		1	0	0		60	0	0	0	0	0		0
1	Colonia	5547	0	20	3		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
1	Colonia	5545	0	20	3		1	0	0		60	0	0	0	0	0		0
1	Colonia	5526	0	8	2				0		60	0	0	0	0	0	0	0
1	Colonia	5521	0	14	2				0		60	0	0	0	1	0		0
1	Colonia	5520	1	15	3				0		60	0	0	0	1	1	0	0
1	Colonia	5519	1	16	3				0		60	0	0	0	1	1	1	0
1	Colonia	5511	0	27	>3				0		60	0	0	0	0	0	1	0
1	Colonia	5432	1	7	1	5	0	0	1	9		0	0	0	1	1		
1	Colonia	5523	1	10	2				1	11		0	0	0	1	0	0	0
1	Colonia	5427	1	12	2		1	0	1	16		0	0	0	0	0		
1	Colonia	5421	1	15	3		1	1	1	17		0	0	0	0	0		
1	Colonia	5539	0	27	>3		0	0	1	34		1	0	0	0	0		0
1	Colonia	5433	0	4	1	5	0	0	1	37		0	0	0	0	0		
2	Colonia	2425	0	6	1		1	0	0		60	0	0	0	0	0	1	
2	Colonia	2423	0	9	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	1	
2	Colonia	2421	0	16	3		1	0	0		60	0	0	0	0	0	1	
2	Colonia	8329	0	3	1	5,2	0	0	0		60	0	0	0	0	0		
2	Colonia	8328	0	3	1	5,6	1	0	0		60	0	0	0	0	0		
2	Colonia	8327	0	4	1	5	1	0	0		60	1	0	0	0	0		
2	Colonia	2174	0	21	3				0		60	0	0	0	0	1	0	
2	Colonia	8326	1	6	1	4,6	0	0	0		60	0	0	0	1	0		
2	Colonia	8324	1	9	2		0	0	0		60	1	0	0	1	0		

2	Colonia	8323	1	10	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0		
2	Colonia	8322	1	11	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0		
2	Colonia	2157	0	6	1	6,4	0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
2	Colonia	2152	1	11	2		1	0	0		60	0	0	0	0	1		0
2	Colonia	2153	1	11	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0		0
2	Colonia	2150	0	14	2		0	0	0		60	0	0	0	0	1	0	0
2	Colonia	2155	1	14	2		1	1	0		60	0	0	0	1	0		0
2	Colonia	2151	1	14	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
2	Colonia	2154	1	14	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0		0
2	Colonia	2149	0	20	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
2	Colonia	8325	1	8	2	5	0	0	1	12		0	0	0	1	0		
3	Colonia	1928	0	3	1	5,6	0	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0
3	Colonia	5116	0	10	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
3	Colonia	1926	1	11	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0		0
3	Colonia	1925	1	11	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
3	Colonia	1922	0	19	3		1	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0
3	Colonia	1921	0	19	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0
3	Colonia	1909	1	5	1		0	0	0		60	1	0	0	0	0	0	0
3	Colonia	1910	0	7	1		1	1	0		60	0	0	0	0	0	1	0
3	Colonia	1908	0	8	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
3	Colonia	1097	1	10	2		1	1	0		60	0	0	0	1	0	0	0
3	Colonia	1293	1	10	2		0	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
3	Colonia	1904	0	15	3		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
3	Colonia	1903	1	15	3		1	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0
3	Colonia	1899	0	23	>3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0

3	Colonia	1285	0	28	>3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0
3	Colonia	1906	1	12	2		1	0	1	15		0	0	0	1	0	0	0
3	Colonia	1911	1	1	1				1	18		0	0	0	0	0	0	0
3	Colonia	1294	1	6	1		1	0	1	24		1	0	0	1	0	1	0
3	Colonia	1905	1	12	2		0	1	1	25		0	0	0	1	0	0	0
3	Colonia	1292	0	16	3				1	33		0	0	0	0	0	1	0
4	San José	1997	0	4	1		0	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1988	0	8	2		1	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1992	0	5	1		1	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1996	0	4	1		1	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1990	0	6	1		1	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1991	0	6	1		0	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1993	0	5	1		1	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1994	0	5	1		0	1				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1998	0	3	1		0	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1978	0	10	2		0	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1980	1	10	2		1	1				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1975	1	11	2		0	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1956	1	13	2		1	0				0	0	0	1	0	0	1
4	San José	1970	1	12	2		0	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1972	1	12	2		1	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1974	1	11	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
4	San José	1966	1	12	2		0	0				0	0	0	0	0	0	0
4	San José	1969	1	12	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
4	San José	1964	1	12	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0

4	San José	1965	1	12	2		0	0				0	0	0	0	0	0	0
5	Colonia	3641	0	9	2		0	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
5	Colonia	3639	0	7	1		0	0	0		60	0	0	0	0	0		0
5	Colonia	3931	0	8	2		0	0	0		60	0	0	0	0	0		0
5	Colonia	3930	1	8	2		0	0	0		60	0	0	0	0	0		0
5	Colonia	3933	0	9	2		1	0	0		60	0	0	0	0	0		0
5	Colonia	3623	1	12	2		0	0	0		60	0	0	0	0	0		0
5	Colonia	3628	1	12	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0		0
5	Colonia	3614	1	29	>3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
5	Colonia	3610	0	30	>3		0	0	0		60	0	0	0	0	0		0
5	Colonia	3637	0	9	2		1	0	1	12		1	0	0	1	0		0
5	Colonia	3636	1	9	2		0	1	1	12		1	0	0	1	1		0
5	Colonia	3629	1	11	2		0	0	1	13		0	0	0	1	0		0
5	Colonia	3622	1	14	2		0	0	1	15		0	0	0	1	1		0
5	Colonia	3627	1	12	2		0	0	1	15		0	0	0	1	0		0
5	Colonia	3640	0	4	1		0	0	1	17		0	0	0	0	0		0
5	Colonia	3621	1	15	3		1	0	1	19		0	0	0	1	0		0
5	Colonia	3630	0	17	3		0	0	1	21		0	0	0	0	0	0	0
5	Colonia	3631	1	17	3		0	0	1	27		0	0	0	1	0	0	0
5	Colonia	3632	1	18	3		1	0	1	28		0	0	0	1	0		0
5	Colonia	3932	0	9	2		0	0	1	28		0	0	0	0	0		0
5	Colonia	3638	0	8	2		0	0	1	29		0	0	0	0	0		0
5	Colonia	3634	1	18	3		0	0				0	0	0	1	0		0
6	San José	9904	1	13	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
6	San José	9909	1	11	2		1	0				0	0	0	1	0		0

6	San José	9911	1	11	2		0	0				1	0	0	1	0	0	0
6	San José	9914	1	10	2		0	0				0	0	0	1	0		0
6	San José	9922	1	8	2		0	0				0	0	0	1	0	1	0
6	San José	9923	1	8	2		0	0				0	0	0	1	0	1	0
6	San José	9925	1	7	1	4,4	1	0				0	0	0	1	0	1	0
6	San José	9926	1	7	1	5,6	0	0				0	0	0	1	0	1	0
6	San José	9927	1	7	1	5,2	1	0				0	0	0	1	0	1	0
6	San José	9928	1	6	1	6,2	1	0				0	0	0	1	0	1	0
6	San José	9934	0	3	1	6,6	0	0				0	0	0	0	0	0	0
6	San José	9935	0	3	1	7,4	0	0				0	0	0	0	0	0	0
6	San José	9936	0	3	1	6,4	1	0				0	0	0	0	0	0	0
6	San José	9937	0	3	1	6,4	0	0				0	0	1	1	0		0
6	San José	9939	0	3	1	7,2	0	0				0	0	0	0	0	0	0
6	San José	9940	0	3	1	7	0	0				0	0	0	0	0	0	0
6	San José	9941	0	3	1	7,4	0	0				0	0	0	0	0	0	0
6	San José	9942	0	3	1	5,2	0	0				0	0	0	0	0	0	0
6	San José	9943	0	3	1	5,6	0	0				0	0	0	1	0	0	0
6	San José	9944	0	3	1	4,8	0	0				0	0	0	0	0	0	0
7	Río Negro	187	0	3	1	7,2	0	0				0	0	0	1	0		0
7	Río Negro	866	0	2	1	4,2	0	0				1	0	0	0	0		0
7	Río Negro	962	1	1	1	6	0	0				0	1	0	0	0	0	0
7	Río Negro	1	0	3	1	4,6	1	0				0	0	0	0	0		0
7	Río Negro	44	0	18	3		1	0				0	0	0	0	0	0	0
7	Río Negro	42	0	22	>3		1	0				0	0	0	0	0		0
7	Río Negro	2	1	3	1	4,6	0	0				0	0	0	1	0		0

7	Río Negro	3	0	6	1	6	1	0				0	0	0	0	0		0
7	Río Negro	30	0	12	2		0	0				0	0	0	0	0	1	0
7	Río Negro	43	1	13	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
7	Río Negro	4	1	5	1	5,2	0	0				0	0	0	1	0	0	0
7	Río Negro	5	1	13	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
7	Río Negro	6	1	13	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
7	Río Negro	7	1	9	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
7	Río Negro	8	1	15	3		0	0				0	0	0	1	0		0
7	Río Negro	46	1	11	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
7	Río Negro	7	0	13	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
7	Río Negro	9	1	9	2		1	1				0	0	0	1	0	0	0
7	Río Negro	8	0	11	2		1	0				1	0	0	1	0	0	0
7	Río Negro	1	0	14	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
8	San José	4784	1	4	1	6,2	1	1	0		60	1	0	0	0	0		0
8	San José	4787	0	5	1	4,2	1	0	0		60	0	0	0	1	1	0	0
8	San José	4788	1	5	1	4	0	0	0		60	0	0	0	1	0	1	0
8	San José	4782	0	5	1	4	1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
8	San José	4782	0	5	1	5,8	1	0	0		60	1	0	0	0	0		0
8	San José	4778	1	6	1	5,8	0	0	0		60	0	0	0	1	1		0
8	San José	4779	0	6	1	4,6	1	0	0		60	0	0	0	0	1	0	0
8	San José	4780	0	6	1	6,2	1	0	0		60	1	0	0	0	0	1	0
8	San José	4781	0	6	1	5,4	1	0	0		60	1	0	0	0	0	0	0
8	San José	914	0	9	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	1	0
8	San José	912	1	10	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
8	San José	4777	1	14	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0

8	San José	4775	1	15	3		1	1	0		60	0	0	0	1	0	0	0
8	San José	911	1	22	>3		0	1	0		60	0	0	0	0	1	0	0
8	San José	4772	0	24	>3		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
8	San José	4769	0	30	>3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0
8	San José	4768	1	30	>3		1	1	0		60	0	0	0	0	1		0
8	San José	4785	0	6	1	5,6	0	0	1	9		0	0	0	1	0	0	0
8	San José	4776	1	14	2		0	0	1	16		0	0	0	1	0	1	0
8	San José	4774	1	17	3		0	1	1	17		0	0	0	1	1	0	
9	San José	4439	0	11	2		0	0				1	0	0	0	0	1	0
9	San José	4438	0	11	2		1	0				0	0	0	0	0	0	0
9	San José	4435	0	17	3		0	0				1	0	0	0	0	1	0
9	San José	4431	1	18	3		1	0				1	0	0	0	0	0	0
9	San José	4436	0	16	3		1	0				1	0	0	0	0	0	0
9	San José	5516	0	10	2		1	0				1	0	0	0	0	0	0
9	San José	4430	1	18	3		1	0				1	0	0	1	0	0	0
9	San José	2183	0	30	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
9	San José	2184	0	30	>3		0	0				0	0	0	0	0		0
9	San José	4443	0	23	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
9	San José	2191	1	7	1		1	0				0	0	0	1	0	0	0
9	San José	2190	1	7	1		1	0				0	0	0	1	0	1	0
9	San José	4446	1	12	2		1	0				1	0	0	1	0	0	0
9	San José	2189	1	8	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
9	San José	4470	0	20	3		0	0				0	0	0	0	0		0
9	San José	4471	1	14	2		1	0				1	0	0	0	0		0
9	San José	4472	0	12	2		0	0				1	0	0	1	0		0

9	San José	2222	1	7	1		1	0				1	0	0	0	0		
9	San José	4479	1	12	2		1	0				0	0	0	1	0		
9	San José	2221	1	8	2		0	1				1	0	0	1	0		
10	Río Negro	1374	1	8	2							0	0	0	1	0	1	0
10	Río Negro	4984	1	8	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
10	Río Negro	4985	1	8	2		1	1				0	0	0	1	0	1	0
10	Río Negro	4981	0	16	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
10	Río Negro	1372	0	15	3		0	0				0	0	0	1	0	1	0
10	Río Negro	1373	0	12	2		0	0				0	0	0	1	0	1	0
10	Río Negro	1371	0	16	3		1	0				0	0	0	0	0		0
10	Río Negro	1378	1	13	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
10	Río Negro	1375	0	16	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
10	Río Negro	4987	1	15	3		1	0				0	0	0	0	0	0	0
10	Río Negro	1372	1	24	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
10	Río Negro	4982	0	21	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
10	Río Negro	8907	0	5	1		0	0				0	0	0	0	0	0	0
10	Río Negro	8913	0	4	1		0	0				0	0	0	0	0	0	0
10	Río Negro	4997	0	4	1		1	0				0	0	0	0	0	0	0
10	Río Negro	1376	0	15	3		0	0				0	0	0	1	0	0	1
10	Río Negro	1377	1	14	2		1	0				0	0	0	0	0	0	0
10	Río Negro	4995	1	11	2		0	0				0	0	0	0	0	0	0
10	Río Negro	4989	1	12	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
10	Río Negro	4986	1	15	3		1	0				0	0	0	0	0	0	0
11	Río Negro	9764	1	6	1	6,2	0	1				1	0	0	1	0		0
11	Río Negro	680	0	20	3		0	0				0	0	0	0	0		0

11	Río Negro	725	0	19	3		1	0				0	0	0	0	0		0
11	Río Negro	682	1	11	2		1	1				0	0	0	1	0		0
11	Río Negro	7009	1	6	1	5,6	1	0				0	0	0	1	0		0
11	Río Negro	674	1	9	2		1	1				0	0	0	1	0		0
11	Río Negro	675	1	11	2		1	0				0	1	0	1	0		0
11	Río Negro	673	0	17	3		0	0				0	0	0	0	0		0
11	Río Negro	694	0	19	3		1	1				0	0	0	1	0		0
11	Río Negro	713	1	7	1	5,2	0	0				1	0	0	0	0		0
11	Río Negro	677	0	4	1	8,6	1	0				0	0	0	0	0		0
11	Río Negro	7748	1	25	>3		0	0				0	0	0	0	0		0
11	Río Negro	6998	1	3	1	7,6	1	1				0	0	0	0	0		0
11	Río Negro	1722	0	29	>3		1	0				0	0	0	0	0		0
11	Río Negro	1719	0	25	>3		0	0				0	0	0	0	0		0
11	Río Negro	1718	0	3	1	4,8	0	0				0	0	0	0	0		0
11	Río Negro	6998	0	1	1		1	0				0	0	0	0	0	0	0
11	Río Negro	M1	1	6	1	6	1	0				0	0	0	1	0	0	0
11	Río Negro	M2	1	2	1		1	0				0	0	0	0	0	1	0
11	Río Negro	694	0	1	1		0	0				0	0	0	0	0	0	0
11	Río Negro	687	1	11	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
12	Río Negro	427	1	19	3		0	0				0	0	0	0	0		0
12	Río Negro	5237	1	30	>3		0	0				0	0	0	0	0		0
12	Río Negro	M2	1	11	2		0	0				1	0	0	0	1		0
12	Río Negro	M1	1	7	1	6,8	0	0				0	0	0	0	0		0
12	Río Negro	M3	1	11	2		1	0				0	0	0	1	0		0
12	Río Negro	0768	1	11	2		0	0				0	0	0	0	0		0

12	Río Negro	M4	1	15	3		0	0				1	0	0	0	0		0
12	Río Negro	M6	0	27	>3		0	0				1	0	0	0	0		0
12	Río Negro	M7	0	17	3		0	0				0	0	0	0	0		0
12	Río Negro	0704	0	25	>3		0	0				0	0	0	0	0		0
12	Río Negro	4275	0	25	>3		0	0				0	0	0	0	0		0
12	Río Negro	M1	0	3	1		0	0				0	0	0	0	0	0	0
12	Río Negro	427	0	3	1		1	0				0	0	0	0	0	0	0
12	Río Negro	8704	1	17	3		0	0				0	0	0	1	0	1	0
12	Río Negro	6385	0	28	>3		0	0				0	0	0	1	0	1	0
12	Río Negro	5237	0	17	3		0	0				0	0	0	1	0	1	0
12	Río Negro	0704	0	7	1		0	0				0	0	0	1	0	1	0
12	Río Negro	M2	1	10	2		0	0				0	0	0	1	0	1	0
12	Río Negro	M3	0	28	>3		0	0				1	0	0	1	0	1	0
13	Río Negro	2471	1	11	2		1	0				0	0	0	1	0		0
13	Río Negro	2470	0	15	3		0	0				0	0	0	1	0		0
13	Río Negro	2469	0	16	3		0	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	2468	0	22	>3		0	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	2465	0	27	>3		1	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	2466	0	27	>3		1	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	M1	0	11	2		0	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	M2	0	15	3		0	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	M3	0	16	3		1	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	M4	0	22	>3		0	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	M5	0	27	>3		0	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	2482	1	8	2		1	0				1	0	0	1	0		0

13	Río Negro	2478	1	18	3		0	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	M1	1	10	2		0	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	2483	1	8	2		1	0				0	0	0	1	0		0
13	Río Negro	2481	1	15	3		1	0				0	0	0	1	0		0
13	Río Negro	2480	1	16	3		0	0				0	0	0	1	0		0
13	Río Negro	2484	1	19	3		0	0				0	0	0	0	0		0
13	Río Negro	2486	1	14	2		0	0				0	0	0	1	0		1
13	Río Negro	2487	1	7	1	5,4	0	0				0	0	0	1	0		0
14	San José	827B	0	1	1		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
14	San José	6002	0	2	1		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
14	San José	900	0	5	1	6,2	1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
14	San José	614	1	5	1		0	0	0		60	0	1	0	0	0	0	1
14	San José	6022	0	8	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
14	San José	835	0	3	1	6,8	0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
14	San José	495	0	4	1		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	1
14	San José	6029	1	14	2		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
14	San José	437	1	9	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
14	San José	360	0	16	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
14	San José	355	0	28	>3		1	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0
14	San José	356	1	28	>3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0
14	San José	4402	1	4	1	6	1	0	1	9		0	1	0	0	0	0	0
14	San José	4404	0	3	1		0	0	1	10		0	0	0	0	0	0	0
14	San José	6009	1	8	2		0	0	1	17		0	0	0	1	0	0	0
14	San José	827	1	18	3		1	0	1	18		0	0	0	0	1	0	0
14	San José	6030	1	9	2		0	0	1	20		0	0	0	1	0	0	0

14	San José	149	0	21	3		0	0	1	30		0	0	0	0	0	1	0
14	San José	601	1	11	2		0	0	1	32		1	0	0	1	0	0	1
14	San José	500	1	12	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
15	San José	B	0	1	1	6	0	0	0		60	0	0	1	0	0		0
15	San José	M2	1	2	1	4,4	0	0	0		60	0	0	1	0	0		0
15	San José	M1	1	3	1	5,4	1	0	0		60	0	0	1	0	0		0
15	San José	V	0	4	1	7	0	0	0		60	0	0	1	0	0		0
15	San José	L	0	4	1	5,6	0	0	0		60	0	0	1	0	0		0
15	San José	A	0	4	1	6,2	1	0	0		60	0	0	0	0	0		0
15	San José	W	0	4	1	5,4	0	0	0		60	0	0	0	0	0		0
15	San José	3860	1	15	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0		0
15	San José	E	0	3	1	5,4	1	0	0		60	0	0	0	0	0	1	
15	San José	B	0	3	1	4,8	1	0	0		60	0	0	0	0	0	1	
15	San José	H	0	3	1	4,8	0	0	0		60	0	0	0	0	0	1	
15	San José	Y	1	5	1	5	0	0	0		60	1	0	1	0	0	0	
15	San José	P	1	8	2		1	0	0		60	1	0	0	1	0	1	
15	San José	C	0	10	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	
15	San José	G	0	12	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	
15	San José	X	1	13	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	1	
15	San José	R	1	14	2		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	
15	San José	K	1	2	1	6,2	1	0	1	9		0	0	1	0	0		0
15	San José	W	1	6	1	5,4	0	0	1	11		1	0	0	1	0	1	
15	San José	T	1	8	2		1	0	1	30		0	0	0	1	0	0	
16	San José	1	0	12	2		0	0				0	0	0	0	0	1	0
16	San José	2	0	12	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0

16	San José	3	0	12	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
16	San José	4	0	12	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
16	San José	5	1	12	2		1	0				1	0	0	0	0	1	0
16	San José	6	1	12	2		1	0				1	0	0	1	0	1	0
16	San José	7	1	12	2		0	0				1	0	0	1	0	0	0
16	San José	8	0	12	2		0	0				0	0	0	1	0	1	0
16	San José	9	1	12	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
16	San José	10	1	12	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
16	San José	11	0	12	2		0	0				1	0	0	1	0	0	0
16	San José	12	0	7	1		1	0				0	0	0	0	0	1	0
16	San José	13	1	21	3		1	0				0	0	0	1	0	0	0
16	San José	14	0	21	3		0	0				0	0	0	0	0	1	0
16	San José	15	0	21	3		0	0				0	0	0	0	0	1	0
16	San José	16	1	9	2		0	0				0	0	0	0	0	1	0
16	San José	17	0	9	2		0	0				0	0	0	0	0	1	0
16	San José	18	1	9	2		1	0				0	0	0	0	0	0	0
16	San José	19	1	9	2		0	0				0	0	0	1	0	1	0
16	San José	20	1	9	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
17	San José	4074	0	3	1	5,8	1	0				0	0	0	0	0	0	
17	San José	4069	0	12	2		0	0				0	0	0	1	0	0	
17	San José	4073	1	8	2		1	0				0	0	0	1	0	0	
17	San José	4070	1	5	1	5,8	0	0				0	0	0	1	0	0	
17	San José	4072	1	10	2		1	0				1	0	0	1	0	0	
17	San José	4048	0	18	3		0	0				0	0	0	0	0	0	
17	San José	4071	0	11	2		0	0				0	0	0	1	0	0	

17	San José	4075	1	4	1	4,4	0	0				1	0	0	0	0	0	
17	San José	M1	1	14	2		0	0				0	0	0	1	0	0	
17	San José	M2	1	14	2		0	0				0	0	0	1	0	0	
17	San José	M3	0	14	2		1	0				0	0	0	1	0	0	
17	San José	M4	0	14	2		1	0				0	0	0	1	0	0	
17	San José	4091	1	13	2		0	0				0	0	0	1	0	1	
17	San José	4079	0	18	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
17	San José	4092	1	10	2		0	0				1	0	0	1	0	0	0
17	San José	4077	0	18	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
17	San José	4080	0	17	3		0	0				0	0	0	1	0	0	0
17	San José	4095	0	14	2		0	0				0	0	0	1	0	1	0
17	San José	4093	1	13	2		0	0				0	0	0	1	0	1	0
17	San José	4094	1	13	2		0	0				1	0	0	0	0	1	0
18	San José	2999	1	9	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
18	San José	3044	0	16	3		1	0				1	0	0	0	0	1	0
18	San José	3104	1	10	2		1	0				1	0	0	1	0	0	0
18	San José	2622	1	10	2		1	0				1	0	0	1	0	0	0
18	San José	2572	0	23	>3		1	0				0	0	0	0	0	1	0
18	San José	3252	1	29	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
18	San José	3251	1	30	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
18	San José	2658	1	9	2		1	0				1	0	0	1	0	0	0
18	San José	3275	0	21	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
18	San José	3273	0	16	3		0	0				1	0	0	0	0	0	0
18	San José	3278	1	12	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
18	San José	2622	0	16	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0

18	San José	2592	0	5	1		0	0				0	0	0	0	0	0	0
18	San José	2616	1	9	2		1	0				1	0	0	0	0	0	0
19	Colonia	1832	0	19	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
19	Colonia	1833	0	19	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
19	Colonia	1835	0	19	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
19	Colonia	1834	0	19	3		1	0				0	0	0	0	0	0	0
19	Colonia	1872	0	19	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
19	Colonia	1873	0	19	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
19	Colonia	1874	0	19	3		0	0				0	0	0	1	0	0	0
19	Colonia	1836	0	12	2		0	1				0	0	0	0	0	0	0
19	Colonia	1837	0	12	2		1	1				1	0	0	0	0	0	0
19	Colonia	1875	0	12	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
19	Colonia	1839	1	10	2		1	0				0	0	0	1	1	0	0
19	Colonia	1838	1	10	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
19	Colonia	1843	1	5	1		1	0				1	0	0	1	0		0
19	Colonia	1847	0	3	1		0	0				0	0	0	0	0		0
19	Colonia	1844	1	3	1		1	0				0	0	0	0	0		0
19	Colonia	1845	1	3	1		1	0				0	0	0	0	0		0
19	Colonia	M1	1	13	2		1	1				1	0	0	1	0		0
19	Colonia	M2	1	11	2		1	0				1	0	0	1	0		0
19	Colonia	1884	1	6	1		0	0				1	0	0	1	0	0	0
19	Colonia	1952	1	6	1		1	0				0	0	0	1	0	0	0
20	San José	7571	1	4	1		1	0	0		60	0	0	1	0	0	0	0
20	San José	7573	0	4	1		0	0	0		60	0	0	0	0	1	0	0
20	San José	7547	1	5	1		1	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0

20	San José	7556	1	10	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
20	San José	7552	1	11	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
20	San José	6084	1	11	2		0	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
20	San José	6086	1	11	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
20	San José	6078	1	12	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
20	San José	7542	0	13	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
20	San José	6070	0	14	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
20	San José	7536	0	15	3		0	0	0		60	1	0	0	1	0	1	0
20	San José	6062	0	16	3		1	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
20	San José	7534	0	16	3		0	0	0		60	0	0	0	1	0	1	0
20	San José	7522	0	21	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0
20	San José	6044	1	25	>3		1	0	0		60	1	0	0	0	0	0	0
20	San José	6042	0	25	>3		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
20	San José	7516	0	25	>3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
20	San José	6098	1	9	2		1	0	1	12		0	0	0	1	0	0	0
20	San José	6081	1	8	2		1	0	1	16		0	0	0	1	0	0	0
20	San José	7544	0	13	2		0	0	1	18		1	0	0	1	0	0	0
21	San José	65	0	1	1		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
21	San José	64	0	1	1		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
21	San José	660	0	3	1	6	0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
21	San José	659	0	3	1		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
21	San José	63	0	4	1		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
21	San José	658	0	5	1	5,4	1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
21	San José	61	1	5	1		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
21	San José	62	0	5	1		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0

21	San José	657	1	6	1		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
21	San José	60	1	7	1		1	0	0		60	0	1	0	1	0	0	0
21	San José	59	1	9	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
21	San José	655	1	10	2		0	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
21	San José	654	1	10	2		1	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
21	San José	653	0	12	2		1	0	0		60	0	0	1	1	0	0	0
21	San José	650	0	15	3		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
21	San José	651	1	15	3		0	0	0		60	1	0	0	0	0	0	0
21	San José	53	0	18	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
21	San José	648	1	21	3		0	0	0		60	1	0	0	0	0	0	0
21	San José	66	1	1	1		1	0	1	9		0	0	0	1	0	0	0
21	San José	656	1	7	1		0	0	1	12		0	0	0	1	0	0	0
22	San José	1939	0	27	>3		0	0				0	0	0	1	0	0	0
22	San José	6676	0	25	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
22	San José	182	0	24	>3		0	0				0	0	0	1	0	0	0
22	San José	3650	0	23	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
22	San José	3678	1	23	>3		1	0				0	0	0	0	0	0	0
22	San José	1400	0	21	3		0	0				0	0	0	0	0		0
22	San José	1904	0	21	3		1	0				0	0	0	0	0	1	0
22	San José	1725	0	20	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
22	San José	961	0	20	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
22	San José	1331	0	13	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
22	San José	0054	1	4	1	4,4	0	0				1	0	0	0	0	0	0
22	San José	1532	1	8	2		0	0				0	0	0	1	0		0
22	San José	791	1	7	1		0	0				1	0	0	1	0		0

22	San José	1290	0	21	3		0	0				0	0	0	0	0		0
22	San José	213	1	11	2		0	0				0	0	0	1	0	1	0
22	San José	34	1	11	2		1	0				0	0	0	1	0		0
22	San José	97	1	11	2		0	0				1	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	9581	1	6	1	4,8	0	0	0		60	1	0	0	0	0	1	0
23	Soriano	5735	1	6	1	5,2	1	0	0		60	1	0	0	0	0	1	0
23	Soriano	9579	1	7	1	4,8	1	0	0		60	1	0	0	1	0	1	0
23	Soriano	5730	1	7	1	4,2	1	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	5732	1	7	1	5,2	0	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	9577	1	8	2		1	0	0		60	1	0	0	0	0	1	0
23	Soriano	9578	0	8	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	9576	1	9	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	9575	1	9	2		0	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	5799	0	10	2		1	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	9574	0	10	2		0	0	0		60	1	0	0	1	0	1	0
23	Soriano	5797	1	10	2		1	0	0		60	1	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	9571	1	11	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	9570	0	11	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	5788	0	15	3		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	9568	0	15	3		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
23	Soriano	9567	0	16	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
23	Soriano	5773	0	18	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
23	Soriano	9563	0	19	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
23	Soriano	9572	0	11	2		1	0	1	14		0	0	0	1	0	0	0
24	Flores	2945	0	5	1	5,2	1	0	0		60	1	0	0	0	0	0	0

24	Flores	2944	1	12	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
24	Flores	2943	0	12	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
24	Flores	2942	1	13	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
24	Flores	2940	0	15	3		1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
24	Flores	2941	0	13	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
24	Flores	2939	1	15	3		1	0	0		60	0	0	1	1	0	0	0
24	Flores	2938	0	15	3		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
24	Flores	2937	0	15	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
24	Flores	2935	0	17	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
24	Flores	2934	0	19	3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
24	Flores	2932	0	24	>3		0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
24	Flores	2933	0	20	3		0	0	1	26		0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	10	1	13	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
25	Río Negro	8	0	10	2		0	0				0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	5	0	15	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	3	1	11	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
25	Río Negro	11	1	11	2		0	0				0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	1180	1	17	3		1	0				0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	4	1	11	2		1	0				0	0	0	1	0	0	0
25	Río Negro	6	0	16	3		0	0				0	0	0	1	0	0	0
25	Río Negro	2	1	16	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	1182	0	17	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	6052	0	26	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	6054	1	27	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	6046	0	23	>3		0	0				1	0	0	1	0	0	0

25	Río Negro	A	1	12	2		1	0				1	0	0	1	0	0	
25	Río Negro	B	1	12	2		0	0				0	0	0	0	0	0	
25	Río Negro	C	1	12	2		1	0				0	0	0	1	0	0	
25	Río Negro	9	0	19	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	4	0	17	3		0	0				0	0	0	0	0	1	0
25	Río Negro	M1	0	29	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
25	Río Negro	M2	0	29	>3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
26	Río Negro	1	1	11	2		0	0				0	0	0	0	0	0	0
26	Río Negro	8	0	7	1		1	0				0	0	0	0	0	0	0
26	Río Negro	3	1	10	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
26	Río Negro	4	1	8	2		1	0				1	0	0	1	0	0	0
26	Río Negro	5	0	7	1		0	0				0	0	0	0	0	0	0
26	Río Negro	6	0	7	1		1	0				0	0	0	1	0	0	0
26	Río Negro	7	1	8	2		0	0				0	0	0	1	0	0	0
26	Río Negro	9	1	7	1		1	0				0	0	0	0	0	0	0
26	Río Negro	10	0	5	1	6,6	0	0				0	0	0	0	0	0	0
26	Río Negro	11	0	10	2		1	1				0	0	0	0	0	0	0
26	Río Negro	12	0	15	3		0	0				0	0	0	1	0	1	0
26	Río Negro	13	0	19	3		0	0				1	0	0	0	0	1	0
26	Río Negro	14	0	7	1		0	1				1	0	0	0	0	0	0
26	Río Negro	15	1	18	3		0	0				0	0	0	1	0	1	0
26	Río Negro	16	0	18	3		0	0				0	0	0	0	0	0	0
26	Río Negro	17	0	19	3		0	0				0	0	0	1	0	0	0
26	Río Negro	18	1	18	3		1	0				1	0	0	1	0	0	0
26	Río Negro	20	1	12	2		0	0				1	0	0	1	0	1	0

26	Río Negro	2	1	11	2		1	0				0	0	0	1	0	1	0
26	Río Negro	19	1	15	3		0	0				0	0	0	1	0	0	0
27	Florida	16436	0	1	1	6,6	0	0	0		60	0	1	0	0	0	0	0
27	Florida	16434	0	1	1	6,2	1	0	0		60	0	1	0	0	0	0	0
27	Florida	16433	0	2	1	6	1	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
27	Florida	16419	0	5	1	6	0	0	0		60	0	0	0	0	0	0	0
27	Florida	16410	0	6	1	6,4	0	0	0		60	0	0	0	1	0	1	0
27	Florida	16404	1	8	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
27	Florida	16389	1	9	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
27	Florida	16393	1	9	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
27	Florida	16394	1	9	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
27	Florida	16398	1	9	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	1	0
27	Florida	16396	1	9	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
27	Florida	16402	1	9	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
27	Florida	16386	1	10	2		1	0	0		60	0	0	0	1	0	0	0
27	Florida	16403	0	11	2		0	0	0		60	0	0	0	0	0	1	0
27	Florida	16385	1	11	2		0	0	0		60	0	0	0	1	0	1	0
27	Florida	16432	0	2	1	6,2	0	0	1	5		0	0	0	0	0	0	0
27	Florida	16425	0	3	1	5,4	0	0	1	8		0	0	0	0	0	0	0
27	Florida	16414	0	6	1	6,2	0	0	1	9		0	0	0	0	0	0	0
27	Florida	16409	1	6	1	6,2	1	0	1	10		0	0	0	1	0	1	0
27	Florida	16009	0	2	1	5,2	1	0				0	1	0	0	0	0	0

Edad al muestreo (semanas): 1 = < 8 días, 2 = 8 a 14 días, 3 = > 14 a 21 días, > 3 = 22 a 30 días.

Diarrea, Moco_MF, Fibrina_MF y Muerte antes del desleche: 0 = NO, 1 = SI.

Rotavirus, *E. coli* F5+, *Cryptosporidium* spp., *S. enterica*, BoAstV y BVDV: 0 = Negativo, 1 = Positivo.

ANEXO 2:

Tabla suplementaria 2. Información adicional sobre las guacheras incluidas en el estudio.

N° Establecimiento	Vacas en ordeño (2016)	Cantidad de terneros criados (2016)	Superficie de la guachera (m ²)	Tipo de guachera (individual vs colectiva, interior vs exterior)	Tipo de suelo de la guachera	¿La MF era removida de la guachera?	¿Cuál es la fuente de agua de los terneros?
1	332	168	656	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
2	390	SD	640	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
3	SD	SD	225	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
4	420	SD	942	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
5	390	143	416	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
6	435	SD	657	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
7	250	237	650	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
8	500	258	1138	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
9	280	52	248	Individual, Interior	Cemento	Sí, las heces se removieron con manguera a las tierras de cultivo adyacentes.	PA

10	SD	SD	2007	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
11	130	115	507	Colectiva, Interior	Cemento	Sí, las heces se removieron con manguera a las tierras de cultivo adyacentes.	PA
12	130	76	SD	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
13	111	110	360	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
14	400	187	1040	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
15	563	281	554	Colectiva, Interior	Cemento	Sí, las heces se removieron con manguera a las tierras de cultivo adyacentes.	PA
16	SD	SD	1376	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
17	270	145	1100	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
18	230	110	770	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
19	140	SD	179	Individual, Interior	Madera	Sí, las heces se removieron con manguera a las tierras de cultivo adyacentes.	PA
20	SD	SD	SD	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
21	1100	420	5145	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
22	140	62	351	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA

23	222	216	752	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
24	250	276	528	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
25	1260	1342	4726	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
26	512	286	7500	Individual, Exterior	Tierra	No	PA
27	70	100	SD	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA
28	SD	SD	SD	SD	SD	SD	PA
29	SD	295	2111	Colectiva, Exterior	Tierra	No	PA

SD: Sin Determinar. **PA:** pozo de agua (sin ningún tipo de tratamiento potabilizador).



Causes of neonatal calf diarrhea and mortality in pasture-based dairy herds in Uruguay: a farm-matched case-control study

Rubén Dario Caffarena^{1,2} · María Laura Casaux¹ · Carlos Omar Schild¹ · Martín Fraga¹ · Matias Castells^{1,2} · Rodney Colina³ · Leticia Maya³ · Luis Gustavo Corbellini^{1,4} · Franklin Riet-Correa^{1,5} · Federico Giannitti¹Received: 10 July 2020 / Accepted: 2 February 2021
© Sociedade Brasileira de Microbiologia 2021

Abstract

Neonatal calf diarrhea (NCD) and mortality cause significant losses to the dairy industry. The preweaning dairy calf mortality risk in Uruguay is high (15.2%); however, causes for these losses are largely unknown. This study aimed to assess whether various pathogens were associated with NCD and death in Uruguayan dairy calves and whether these infections, diarrhea, or deaths were associated with the failure of transfer of passive immunity (FTPI). Contemporary diarrheic ($n = 264$) and non-diarrheic ($n = 271$) 1- to 30-day-old calves from 27 farms were sampled. Feces were analyzed by antigen-capture ELISA for *Cryptosporidium* spp., rotavirus, bovine coronavirus, and *Escherichia coli* F5+, RT-PCR for bovine astrovirus (BoAstV), and bacterial cultures for *Salmonella enterica*. Blood/serum was analyzed by RT-PCR or antigen-capture ELISA for bovine viral diarrhea virus (BVDV). Serum of ≤ 8 -day-old calves ($n = 95$) was assessed by refractometry to determine the concentration of serum total proteins (STP) as an indicator of FTPI. Whether the sampled calves died before weaning was recorded. At least one pathogen was detected in 65.4% of the calves, and this percentage was significantly higher in diarrheic (83.7%) versus non-diarrheic (47.6%) calves. Unlike the other pathogens, *Cryptosporidium* spp. and rotavirus were associated with NCD. Diarrheic calves, calves infected with any of the pathogens, and calves infected with rotavirus had significantly lower concentrations of STP. Diarrheic calves had higher chances of dying before weaning than non-diarrheic calves. Diarrheic calves infected with *S. enterica* were at increased risk of mortality. Controlling NCD, salmonellosis, cryptosporidiosis, and rotavirus infections, and improving colostrum management practices would help to reduce calf morbi-mortality in dairy farms in Uruguay.

Keywords *Cryptosporidium* spp. · Dairy calves · Diarrhea · Failure of transfer of passive immunity · Infectious diseases · Mortality · Rotavirus · *Salmonella enterica*

Introduction

Dairy farming in Uruguay is socio-culturally and economically important, as Uruguay is one of the top per capita

consumers of dairy products in Latin America [1], and approximately 70% of the milk produced in the country is exported [2]. Uruguayan dairy farming systems are largely pasture-based, with 75% of the diet of the milking herd being

Responsible Editor: Beatriz Ernestina Cabelio Guth

✉ Rubén Dario Caffarena
rdcaffarena@gmail.com

✉ Federico Giannitti
fgiannitti@insa.org.uy

¹ Plataforma de Investigación en Salud Animal, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) Estación Experimental La Estanzuela, Colonia, Uruguay

² Departamento de Patología y Clínica de Rumiantes y Suínos, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo, Uruguay

³ Laboratorio de Virología Molecular, Centro Universitario Regional (CENUR) Litoral Norte, Universidad de la República (UdelaR), Salto, Uruguay

⁴ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Laboratório de Epidemiologia Veterinária (EpiLab), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

⁵ Programa de Pós Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Ondina, Salvador, BA, Brasil

Published online: 11 February 2021

Springer



Dairy Calves in Uruguay Are Reservoirs of Zoonotic Subtypes of *Cryptosporidium parvum* and Pose a Potential Risk of Surface Water Contamination

Rubén Darío Caffarena^{1,2*}, Marcelo Vasconcelos Meireles², Leonidas Carrasco-Letellier⁴, Catalina Picasso-Risso^{2,5}, Bruna Nicoletti Santana², Franklin Riet-Correa¹ and Federico Giannitti^{1*}

¹Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Plataforma de Investigación en Salud Animal, Estación Experimental INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay; ²Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay; ³Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Aracatuba, Brazil; ⁴Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Programa de Producción y Sustentabilidad Ambiental, Estación Experimental INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay; ⁵Department of Veterinary Population Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota, Saint Paul, MN, United States

OPEN ACCESS

Edited by:
Olivier Andre Sparagano,
City University of Hong Kong,
Hong Kong

Reviewed by:
Grace Mulcahy,
University College Dublin, Ireland
Lucy Robertson,
Norwegian University of Life
Sciences, Norway

*Correspondence:
Rubén Darío Caffarena
dcaffarena@inia.org.uy
Federico Giannitti
fgiannitti@inia.org.uy

Specialty section:
This article was submitted to
Parasitology,
a section of the journal
Frontiers in Veterinary Science

Received: 20 March 2020

Accepted: 15 July 2020

Published: 21 August 2020

Citation:
Caffarena RD, Meireles MV,
Carrasco-Letellier L, Picasso-Risso C,
Santana BN, Riet-Correa F and
Giannitti F (2020) Dairy Calves in
Uruguay Are Reservoirs of Zoonotic
Subtypes of *Cryptosporidium parvum*
and Pose a Potential Risk of Surface
Water Contamination.
Front. Vet. Sci. 7:562.
doi: 10.3389/fvets.2020.00562

Cryptosporidium parvum, a major cause of diarrhea in calves, is of concern given its zoonotic potential. Numerous outbreaks of human cryptosporidiosis caused by *C. parvum* genetic subtypes are reported yearly worldwide, with livestock or water being frequently identified sources of infection. Although cryptosporidiosis has been reported from human patients in Uruguay, particularly children, epidemiologic information is scant and the role of cattle as reservoirs of zoonotic subtypes of *C. parvum* has not been explored. In this study, we aimed to (a)-identify *C. parvum* subtypes infecting dairy calves in Uruguay (including potentially zoonotic subtypes), (b)-assess their association with calf diarrhea, (c)-evaluate their spatial clustering, and (d)-assess the distance of infected calves to surface watercourses draining the farmlands and determine whether these watercourses flow into public water treatment plants. Feces of 255 calves that had tested positive for *Cryptosporidium* spp. by antigen ELISA were selected. Samples had been collected from 29 dairy farms in seven Uruguayan departments where dairy farming is concentrated and represented 170 diarrheic and 85 non-diarrheic calves. Selected samples were processed by nested PCRs targeting the 18S rRNA and gp60 genes followed by sequencing to identify *C. parvum* subtypes. Of seven *C. parvum* subtypes detected in 166 calves, five (identified in 143 calves on 28/29 farms) had been identified in humans elsewhere and have zoonotic potential. Subtype IIaA15G2R1 was the most frequent (53.6%; 89/166), followed by IIaA20G1R1 (24.1%; 40/166), IIaA22G1R1 (11.4%; 19/166), IIaA23G1R1 (3.6%; 6/166), IIaA17G2R1 (3%; 5/166), IIaA21G1R1 (2.4%; 4/166), and IIaA16G1R1 (1.8%; 3/166). There were no significant differences in the proportions of diarrheic and non-diarrheic calves infected with any of the *C. parvum* subtypes. Two spatial clusters were detected, one of which overlapped with Uruguay's capital city and its main water treatment plant (Aguas Corrientes), harvesting