

*Cryptosporidium muris* TYZZER, 1907 (APICOMPLEXA:  
CRYPTOSPORIDIIDAE) EM SUÍNOS: IDENTIFICAÇÃO,  
DIAGNÓSTICO E ALGUNS ASPECTOS  
EPIDEMIOLÓGICOS

**TERESA CRISTINA BERGAMO DO BOMFIM**

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

*Cryptosporidium muris* TYZZER, 1907 (APICOMPLEXA:  
CRYPTOSPORIDIIDAE) EM SUÍNOS: IDENTIFICAÇÃO,  
DIAGNÓSTICO E ALGUNS ASPECTOS  
EPIDEMIOLÓGICOS

**TERESA CRISTINA BERGAMO DO BOMFIM**

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR  
CARLOS WILSON GOMES LOPES

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária

ITAGUAÍ, RIO DE JANEIRO

JULHO, 1989

TÍTULO

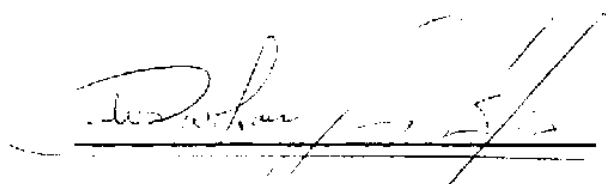
*Cryptosporidium muris* TYZZER, 1907 (APICOMPLEXA:  
CRYPTOSPORIDIIDAE) EM SUÍNOS: IDENTIFICAÇÃO,  
DIAGNÓSTICO E ALGUNS ASPECTOS  
EPIDEMIOLÓGICOS

AUTOR

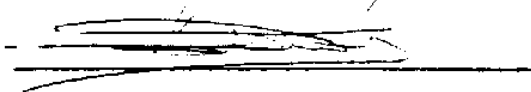
TERESA CRISTINA BERGAMO DO BOMFIM

TESE APROVADA EM: 28/07/1989

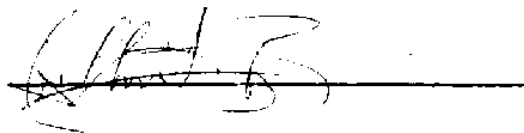
CARLOS WILSON GOMES LOPES



NICOLAU MAUÉS DA SERRA FREIRE



GILBERTO GARCIA BOTELHO



"Minha contribuição foi pequena, mas tenho a consciência de ter feito o que pude".

LOUIS PASTEUR

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho fosse realizado, especialmente aos professores:

- CARLOS WILSON GOMES LOPES, Professor Adjunto do Instituto de Biologia - Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

- PAULO CÉSAR FIGUEIREDO, Professor Adjunto do Departamento de Patologia e Clínica da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

Agradeço também a CATHIA MARIA SERRA PEIXOTO, colega do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária.

## BIOGRAFIA

TERESA CRISTINA BERGAMO DO BOMFIM, filha de Deoclecia-  
no Barroso do Bomfim e Joantina Bergamo do Bomfim, nasceu em  
Campo Grande, Rio de Janeiro, RJ.

Realizou o curso primário, 1º e 2º grau no Colégio Nos-  
sa Senhora do Rosário, Campo Grande, Rio de Janeiro.

No primeiro semestre de 1980, ingressou no Curso de  
Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, gra-  
duando-se em dezembro de 1983.

No período de março de 1985 a fevereiro de 1986, foi  
bolsista do CNPq na categoria de Aperfeiçoamento, desenvolven-  
do pesquisa com Eimeriose Caprina.

Em março de 1986, ingressou no curso de Pós-Graduação  
em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, a nível  
de Mestrado, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

## CONTEÚDO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Histórico	3
2.2. Classificação	5
2.3. Biologia	7
2.4. Hospedeiros vertebrados	10
2.4.1. Infecção em animais de sangue frio	10
2.4.2. Infecção em aves	11
2.4.3. Infecção em camundongos	12
2.4.4. Infecção em coelhos	17
2.4.5. Infecção em cobaias	17
2.4.6. Infecção em gatos	17
2.4.7. Infecção em cães	18
2.4.8. Infecção em esquilos e guaxinim	19
2.4.9. Infecção em ruminantes não domésticos	19
2.4.10. Infecção em cavalos	19
2.4.11. Infecção em ovinos	20

	Página
2.4.12. Infecção em caprinos	21
2.4.13. Infecção em suínos	22
2.4.14. Infecção em bovinos	27
2.4.15. Infecção em primatas não humanos	29
2.4.16. Infecção em humanos	29
2.5. Diagnóstico	32
3. MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1. Suínos	38
3.1.1. Local e manejo da criação de suínos	38
3.1.2. Histórico da criação de suínos	39
3.1.3. Procedimento laboratorial	40
a) Exame parasitológico de fezes	40
b) Técnicas de coloração para esfregaço de fezes	40
c) Material para inoculação	41
d) Exame histológico	41
3.2. Camundongos	41
3.2.1. Local e manejo de criação	41
3.2.2. Animais utilizados na infecção	42
3.2.3. Inoculação	42
3.2.4. Exame dos camundongos	44
3.3. Ratos	44
3.4. Mensuração e fotomicrografia	45
3.5. Análise estatística	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1. Diagnóstico de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> em	



	Página
fezes de suínos	46
4.1.1. Oocistos corados pela safranina-Azul de Metileno (S-AM)	46
4.1.2. Oocistos corados pelo Giemsa	48
4.1.3. Oocistos corados pelo Ziehl-Neelsen modificado (Z-N/M)	48
4.1.4. Oocistos avaliados por contraste de fase em centrífugo-flutuação (CF-CF)	51
4.2. Aspectos morfométricos dos oocistos de <i>Cryptosporidium</i> parasitos de suínos	51
4.3. Diagnóstico histológico de <i>Cryptosporidium</i> sp. em suínos	59
4.4. Infecção experimental em camundongos com oocistos de <i>Cryptosporidium</i> isolados de suínos	59
4.5. Identificação de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> em <i>Rattus rattus</i>	67
4.6. Aspectos comparativos dos oocistos de <i>Cryptosporidium</i> procedentes de suínos, camundongos e ratos	68
4.7. Aspectos gerais sobre o manejo da criação de suínos	71
5. CONCLUSÕES	78
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
7. APÊNDICES	105

## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Avaliação de quatro técnicas utilizadas na identificação de oocistos do gênero <i>Cryptosporidium</i> provenientes de suínos	54
TABELA 2. Aspecto comparativo dos oocistos do gênero <i>Cryptosporidium</i> provenientes de diferentes hospedeiros, utilizando-se o método de contraste de fase	69
TABELA 3. Espécies do gênero <i>Cryptosporidium</i> parasita de mamíferos	70
TABELA 4. Parasitismo observado nas diversas categorias de uma criação de suínos	74

TABELA 5. Técnicas utilizadas para o diagnóstico do gênero <i>Cryptosporidium</i> nas diversas categorias da criação de suínos	75
--	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Fluxograma da infecção experimental em camundongos por <i>Cryptosporidium</i> sp., provenientes de suínos	43
FIGURA 2. <i>Cryptosporidium</i> sp. - oocistos nas fezes de suínos, Safranina - Azul de Metileno. 1000 X	47
FIGURA 3. <i>Cryptosporidium</i> sp. - oocistos nas fezes de suínos, Giemsa. 1000 X	49
FIGURA 4. <i>Cryptosporidium</i> sp. - oocistos nas fezes de suínos, Ziehl-Neelsen/modificado. 1000 X	50
FIGURA 5. <i>Cryptosporidium</i> sp. - oocistos nas fezes de suínos, centrífugo-flutuação modificada, contraste de fase. 1200 X	52

- FIGURA 6. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, corados com Safranina-AM e provenientes de suínos 55
- FIGURA 7. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, corados com Giemsa e provenientes de suínos 56
- FIGURA 8. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, corados com Ziehl-Neelsen/modificado e provenientes de suínos 57
- FIGURA 9. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, em contraste de fase e provenientes de suínos 58
- FIGURA 10. Fluxograma do resultado da infecção experimental em camundongos, por *Cryptosporidium* sp. provenientes de suínos 60
- FIGURA 11. *Cryptosporidium* sp. - Corte histológico de intestino de camundongos infectados com oocistos provenientes de suínos. H.E., 1000 X 62

- FIGURA 12. *Cryptosporidium* sp. - Corte histológico de intestino de camundongos infectados com oocistos provenientes de suínos. Giemsa, 400X 63
- FIGURA 13. *Cryptosporidium* sp. - Corte histológico de intestino de camundongos infectados com oocistos provenientes de suínos. Giemsa, 1000X 64
- FIGURA 14. *Cryptosporidium* sp. - Corte histológico de intestino de camundongos infectados com oocistos provenientes de suínos. Toluidina, 1000 X 65
- FIGURA 15. *Cryptosporidium* sp. - Corte histológico de intestino de camundongos infectados com oocistos provenientes de suínos. T. masson, 1000 X 66
- FIGURA 16. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, em contraste de fase, provenientes da infecção experimental de camundongos com oocistos de suínos 72

FIGURA 17. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, em contraste de fase, provenientes de *Rattus rattus*

73

FIGURA 18. Fluxograma da possível disseminação da criptosporidiose na suinocultura estudada

77

ÍNDICE DE APÊNDICE

Página

APÊNDICE 1. Diarréia em um felino associada a infecção por <i>Cryptosporidium muris</i> Tyzzer, 1910 (A- picomplexa: Cryptosporidiidae)	106
---	-----



## R E S U M O

Numa suinocultura com 420 animais, distribuídos em 6 categorias, a saber: porcas em descanso, porcas em gestação, animais em amamentação, recria, terminação e reprodutores, observou-se um surto de diarréia em leitões recém-desmamados. A diarréia foi caracterizada como amarela, líquida e fétida.

Protozoários do gênero *Cryptosporidium* foram observados nas fezes dos animais com diarréia, através de métodos tinctoriais e mesmo em solução saturada de açúcar e observados com auxílio de contraste de fase.

A inoculação experimental de oocistos de *C. muris* procedentes de suínos, em camundongos, foi capaz de determinar infecção com período pré-patente de aproximadamente seis dias.

Medidas dos oocistos de *C. muris* procedentes de suínos e ratos da suinocultura e dos camundongos inoculados experimentalmente, foram semelhantes aquelas observadas para *C. muris* em contraste de fase.

Finalmente, observou-se nesta propriedade, estreita relação entre suínos e ratos, estes últimos alimentando-se nas pocilgas e no depósito de ração, facilitando com isso a disseminação desta protozoose na criação.

## SUMMARY

In a piggery with 420 animals divided in 6 categories, as followed: resting-sows, pregnant-sows, suckling-piglets, weaned-piglets, finishing feeder pigs and boars; where it was observed an outbreak of foal watery diarrhea in suckling piglets when they were weaned. The diarrhea was characterized by brown-yellow and fetid scour.

Protozoa of the genus *Cryptosporidium* were observed in the feces of animals with diarrhea by using staining methods as well as saturated sugar solution in phase contrast.

Experimental infection with *C. muris* from pigs in mice was capable to induce infection where the prepatent period was 6 days aproximatelly.

The oocysts of *C. muris* from pigs and rats of the piggery and those one from experimentally infected mice were similar based on measurement obtained by using phase contrast.

Finally, there was a close relationship between pigs

and rats in *Cryptosporidium* infection of piggery. The rats usually has fed on pig-feeders and in the feed deposit facilitating the dissemination of this protozoosis among animals.

## 1. INTRODUÇÃO

A diarréia têm sido um sintoma frequentemente observado nos animais domésticos, principalmente em animais jovens. Em leitões, do nascimento à recria, têm sido responsável por 30 a 50% das mortes ocorridas neste período.

Em suínos jovens, a diarréia é um complexo resultante da interação entre um ou mais agentes infecciosos, imunidade e manejo dos animais, que favorecem o desenvolvimento de enteropatógenos e/ou agravam suas manifestações.

A etiologia das diarréias e o mecanismo pelo qual os enteropatógenos causam a doença, têm sido estudados nas últimas décadas; estas pesquisas têm levado à identificação de um número considerável de patógenos entéricos anteriormente não diagnosticados.

Entre as inúmeras causas de diarréias, as principais podem ter origem parasitária, bacteriana, viral, nutricional, tóxica ou em associação de mais de uma delas.

Dentre as causas de diarréias parasitárias, têm-se a-

quelas associadas a helmintos e protozoários, sendo que nestes últimos destacam-se as espécies dos gêneros *Eimeria* Schneider, 1875 (JOYNER, 1982) e *Isospora* Schneider, 1881 (STUART et al., 1982). Atualmente inclui espécies do gênero *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907 (LINKS, 1982).

O gênero *Cryptosporidium* tem sido assinalado em várias espécies animais, tanto domésticas quanto silvestres. Entretanto, diversos estudos têm assinalado que as espécies deste gênero não têm especificidade por hospedeiro, por conseguinte são inclusive parasitas de humanos, considerando-se assim uma zoonose (TZIPORI, 1983; KIRKPATRICK & FARREL, 1984).

A criptosporidiose resulta em diarreia associada a má absorção intestinal devido à atrofia das vilosidades e alterações das microvilosidades das células intestinais (SANFORD & JOSEPHSON, 1982).

Métodos que proporcionem o controle das diarreias têm sido importantes na redução de prejuízo causado pela baixa conversão alimentar, retardamento do período de engorda e morte nos casos graves.

O presente trabalho têm por objetivos identificar a espécie do gênero *Cryptosporidium* encontrada em suínos naturalmente infectados, isolar o parasita, assim como avaliar a utilização de técnicas de diagnóstico que facilitem a identificação desta parasitose em suínos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

O gênero *Cryptosporidium* é um protozoário parasita que se desenvolve e reproduz nas microvilosidades das células epiteliais dos sistemas respiratório e digestivo de vertebrados, tendo sido observado em diversos hospedeiros vertebrados. É considerado não patogênico, embora alguns isolados tenham sido responsabilizados por causar doença severa. Apesar de ter sido descrito em 1907, a maior parte das pesquisas sobre sua identificação, biologia, importância clínica, epidemiologia e possíveis meios de tratamentos, recentemente tem sido relatados.

### 2.1. Histórico

Segundo TYZZER (1910), a primeira citação do parasito, assemelhando-se a *Cryptosporidium* em epitélio gástrico de camundongos, foi feita por CLARK em 1895. Em 1907, TYZZER descreve um protozoário que se desenvolve nas glândulas gástricas de camundongos de laboratório. Este mesmo autor o classifica co-

mo *C. muris*, mas não determina as características de identificação deste gênero. Usando microscópio com limitada resolução, TYZZER (1910) observou estágios de desenvolvimento assexuados e sexuados do parasita, que eram extra-celulares, e que formas infectantes eram eliminadas via fezes. Descreveu ainda *C. muris* com grande detalhe, utilizando-se de diversos hospedeiros e sugeriu que havia a liberação de esporozoítas dos oocistos e que os mesmos tinham período de maturação nas glândulas gástricas, podendo com isto ser fonte de auto-infecção.

A segunda espécie descrita, *Cryptosporidium parvum*, foi identificada e nominada por TYZZER (1912). Esta espécie foi observada no intestino delgado de camundongos de laboratório. Esta foi transmitida para outros camundongos de laboratório, nos quais ele só se desenvolveu neste local. Similar organismo foi assinalado pelo mesmo autor em coelhos, mas omitiu-se como hospedeiro da espécie descrita. TYZZER (1929), assinala ainda *Cryptosporidium* sp. no epitélio do ceco de pintos.

Entre 1968 e 1981, outras espécies de *Cryptosporidium* foram descritas em peixes, répteis, aves e mamíferos, com base na hipótese de que cada espécie de hospedeiro possa abrigar uma espécie de *Cryptosporidium* (FAYER & UNGAR, 1986).

O reconhecimento de *Cryptosporidium* associado com diarreia em bovinos foi realizada por PANCIERA et al. (1971).

Já em humanos, o primeiro caso de cryptosporidiose foi reportado por MEISEL et al. (1976) e NIME et al. (1976), mas poucos diagnósticos subseqüentes do parasito foram assinalados para ser uma infecção de tratamento em vida e uma ameaça a



pacientes com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Interesse médico em epidemiologia, diagnóstico e tratamento da Cryptosporidiose tem aumentado até o presente momento.

Observações clínicas da doença associada com *Cryptosporidium*, tem estimulado estudos experimentais, nos quais se tem procurado encontrar um modelo da doença em pequenos animais, desenvolvendo in vitro um sistema de crescimento, testes de desinfetantes potenciais e agentes quimioterápicos.

## 2.2. Classificação

Segundo LEVINE (1984) o gênero *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907 é um membro do Phylum Apicomplexa Levine, 1970, classe Sporozoasida Leuckart, 1879, sub-classe Coccidiasina Leuckart, 1879, ordem Eucoccidiorida Léger & Duboscq, 1910, sub-ordem Eimeriorina Léger, 1911, família Cryptosporidiidae Léger, 1911.

Vinte espécies do gênero *Cryptosporidium* foram classificadas de acordo com o hospedeiro vertebrado, no qual o parasito foi encontrado (FAYER & UNGAR, 1986). Isto foi revisado por LEVINE (1984) e UPTON & CURRENT (1985), onde várias espécies de *Cryptosporidium* têm sido consideradas inválidas por causa do estágio esporogônio, o qual foi identificado como esporocisto de *Sarcocystis*. Estes incluem *C. ameival* Arcay & Bastardo, 1969; *C. etenosauris* Duszynski, 1969; *C. lampropeltis* Anderson, Duszynski & Marguardt, 1968; *C. crotali* Triffit, 1925 e *C. vulpis* Wetzel, 1938. Estudos sobre transmissão cruzada

(FAYER & UNGAR, 1986) invalidaram as espécies *C. aqni* Barker & Carbonell, 1974; *C. bovis* Barker & Carbonell, 1974; *C. cuniculis* Inman & Takeuchi, 1979 e *C. felis* Iseki, 1979. LEVINE (1984) concluiu que quatro espécies podem ser consideradas válidas: *C. crotali* Triffit, 1925 em répteis, *C. meleagridis* Slavin, 1955 em aves, *C. muris* Tyzzer, 1907 em mamíferos e *C. nasarum* Hoover et al., 1981 em peixes. Já UPTON & CURRENT (1985), concluíram que duas espécies de *Cryptosporidium* têm sido encontrada em mamíferos: *C. muris* e *C. parvum* e caracterizaram o oocisto de *C. muris* como ovóide com 7,5 x 5,6 µm de diâmetro maior e *C. parvum* subesférico a ovóide com 5,0 x 4,5 µm de diâmetro menor; da mesma maneira, duas espécies foram consideradas válidas para aves: *C. meleagridis* Slavin, 1955 e *C. baileyi* Current et al., 1986.

O gênero *Cryptosporidium*, foi primeiramente descrito em hospedeiros considerados específicos. Entretanto, estudos de transmissão cruzada (FAYER & UNGAR, 1986) indicaram que isolados de *Cryptosporidium* spp. de mamíferos foram infectivos para outros mamíferos e isolados de aves foram infectivos para outras aves. Transmissão de aves para mamíferos não tiveram sucesso. Alguns estudos de transmissão cruzada, não foram capazes de transmitir *Cryptosporidium* spp. de um hospedeiro a outro (TYZZER, 1912; VETTERLING et al., 1971; RAHAMAN et al., 1984) porém, fatores que podem ter afetado o sucesso da transmissão não foram observados, tais como a infectividade do oocisto, a idade e o estado imunológico do hospedeiro recipiente.

Assim, uma importante característica que o distingue da maior parte dos outros coccídios têm sido a falta de especificidade por hospedeiros (TZIPORI et al., 1980a; MOON & BENRICK, 1981). Resultados de experimentos de transmissão cruzada, usando isolados de animais de fazendas e pacientes humanos, assinalados por TZIPORI et al. (1980b), verificaram que *Cryptosporidium* pode ter uma única espécie no gênero, embora espécies de animais domésticos podem ser considerados como um reservatório da infecção em humanos.

Para enfatizar pintos como hospedeiro foi então denominado como *C. meleagridis* por LEVINE em 1984, onde, morbidade e mortalidade nas aves por Cryptosporidiose foi descrita anteriormente por SLAVIN (1955).

### 2.3. Biologia

O ciclo de vida é direto e é essencialmente similar aos da família Eimeriidae, embora seja motivo de discussão a sua forma infectiva, ou seja, se o oocisto vai ao meio exterior esporulado ou se este ao ir ao meio exterior precisa de um tempo para que ocorra a sua esporulação, tornando-se assim infectivo. TYZZER (1912), descreveu estruturas em fezes de camundongos, identificando-as como oocistos contendo quatro esporozoítas evidentes. A existência de um estágio de oocisto foi discutida por VETTERLING et al. (1971) que não encontrou oocistos nas fezes de cobaias, infectados com *Cryptosporidium*. Esta situação foi em parte resolvida por POHLENZ et al. (1978)

e ISEKI (1979) que demonstraram a esporulação de oocistos presos na parede intestinal e nas fezes de bezerros e gatos, respectivamente. Em estudos de ultraestrutura de *Cryptosporidium* em camundongos, BRÄNDLER (1982) identificou o estágio de oocisto com uma parede multilaminar, aderido aos enterócitos dos intestinos delgado e grosso. Ainda este autor estabeleceu que a esporulação do oocisto ocorria nas microvilosidades intestinais, e que este possuía um esporocisto contendo quatro esporozoítas, cercado por uma membrana bilaminar que ao se desprender espalha-se nas fezes. Já, BRÄNDLER (1982) evidenciou os oocistos por microscopia eletrônica em fezes de bezerros com cryptosporidiose. Mais tarde, ANGUS (1983), estabeleceu que a presença de oocistos nas fezes é um indicador seguro de infecção.

Após a esporulação, as fases merogônica (= esquizogonia) e gametogônica tomam lugar no hospedeiro; o esporozoíta invade as bordas das microvilosidades dos enterócitos, resultando em trofozoítas que diferenciam-se para merontes (esquizontes) com 8 merozoítas. A primeira geração de merontes é seguida por no mínimo uma outra, a qual contém quatro ou oito merozoítas (VETTERLING et al., 1971; POHLENZ et al., 1978). O número de gerações de merontes pode ser influenciado pela espécie, idade ou estado imune do hospedeiro. A merogonia é seguida por gametogonia; microgametas passam por limitadas gerações e microgametócito funde-se com o macrogametócito, para formar o zigoto, que possui complexa parede externa. O oocisto em desenvolvimento é imóvel, prendendo-se ao enterócito. A

morfologia dos vários estágios endógenos no homem foi muito bem descrita por BIRD & SMITH (1980).

O gênero *Cryptosporidium*, tem seus estágios endógenos aderidos por zonas de fixação nas bordas das microvilosidades dos enterócitos, muitas vezes nos intestino delgado e grosso. Cada parasito é cercado por um vacúolo parasitóforo, derivado da membrana do enterócito (BIRD & SMITH, 1980). Esta localização provavelmente permite ao parasita se nutrir da célula do hospedeiro (HAMPTON & ROSÁRIO, 1966 e BIRD & SMITH, 1980).

Há uma relação entre a duração do ciclo de vida e a espécie do hospedeiro, a idade na qual a infecção foi adquirida e estado imunológico do hospedeiro, sendo mais grave em animais jovens. Sob condições experimentais, o ciclo de vida em cordeiros livres de patógenos específico (SPF), infectados com *Cryptosporidium*, pode ser reduzido à 72 horas (TZIPORI et al., 1981; SNODGRASS et al., 1984), um período relativamente curto em relação a outros coccídios entéricos.

O organismo não se estabelece exclusivamente no intestino, podendo ser observado nas glândulas do estômago de camundongos (TYZZER, 1910), de cobras (BROWNSTEIN et al., 1977), de aves (SNYDER et al., 1978); no epitélio respiratório de perus (HOERR et al., 1978) e de pintos (DILLON et al., 1981); em ductos biliares de macacos *Rhesus* (KOVATCH & WHITE, 1972) e na região das tonsilas do homem (BIRD & SMITH, 1980).

Segundo TZIPORI (1981), o gênero *Cryptosporidium* distingue-se dos outros coccídios entéricos devido a: a) falta de especificidade por hospedeiros; b) ser um parasita extracelu-

lar, aderindo-se às bordas da microvilosidade dos enterócitos; c) seu rápido ciclo biológico; d) número e tamanho dos oocistos excretados nas fezes serem pequenos; e) afetarem geralmente animais jovens.

Segundo MARCIAL & MADARA (1986), *Cryptosporidium* não invade além das células epiteliais parasitadas. Entretanto, alguns estágios endógenos podem aparecer na luz intestinal, por desprenderem-se das microvilosidades no ato das preparações histológicas. Segundo os autores, o parasito fixa-se na borda das microvilosidades intestinais projetando-se para a luz e são cobertos por uma membrana da célula epitelial, mas não entra no citoplasma da célula do hospedeiro. Esta localização tem sido descrita como intracelular-extracitoplasmática (BOCH et al., 1982).

## 2.4. Hospedeiros vertebrados

### 2.4.1. Infecção em animais de sangue frio

Em 1925, TRIFFIT identificou *Cryptosporidium* em cobras (*Crotalus congluents*) e LEVINE (1984) identificou este mesmo parasita em cobras Colubridae, *Crotalus* sp. e Boidae.

Em peixes, HOOVER et al. (1981) encontraram-no em necropsias de *Naso literatus*, onde estavam localizados no intestino. Já PAVLASEK (1983) o identificou em *Ciprinus carpio*.

#### 2.4.2. Infecção em aves

Infecção por *Cryptosporidium* tem sido encontrada em espécies de aves na Ásia, Austrália, Europa e Estados Unidos. Ele tem sido associado a morbidade e mortalidade em infecções naturais em pintos (DHILLON et al., 1981 e ITACURA et al., 1984), perus (SLAVIN, 1955; HOERR et al., 1978 e TARWID et al., 1985), pavão (MASON & HARTLEY, 1980), faisão (WHITTINGTON et al., 1985), pintassilgo (GARDINER & IMES, 1984), papagaios (DOSTER et al., 1985), ganso (PROCTOR & KEMP, 1974), codornas (HOERR et al., 1986). Na Escócia, 22 de 25 pintos continham anticorpos contra *Cryptosporidium* spp. (TZIPORI & CAMPBELL, 1981). Infecções experimentais têm sido induzidas em pintos, com oocistos provenientes de pintos (ITAKURA et al., 1985). Com oocistos isolados de mamíferos, pintos tornaram-se infectados em um dos estudos de TZIPORI (1981), mas não tornou-se infectivo em outro. O fracasso em sete tentativas de infecções experimentais de mamíferos, com oocistos isolados de pintos, sugere que *Cryptosporidium* sp. observados em espécies de aves não são uma ameaça zoonótica para humanos (LINDSAY et al., 1986).

Os locais de parasitismo, geralmente são os tratos intestinal e respiratório. Oocistos da bolsa de Fabrício de pintos infectaram cloaca, bursa, colon terminal, ceco, traquéia, brônquios, sacos aéreos, ductos das glândulas salivares e seios nasais de pintos expostos experimentalmente à infecção (LINDSAY, 1986). Sinais clínicos associados ao parasita tem sido variáveis. Em codornas e perus, a localização no intestino delga-

do foi associada a diarreia (SLAVIN, 1955 e HOERR et al., 1986), em pintos sem sinais clínicos, bolsa de Fabrício e ceco foram os órgãos afetados (RANDALL, 1982; FLETCHER et al., 1985 e ITAKURA et al., 1985).

A espécie associada a infecções intestinais em aves tem sido considerada como *C. meleagridis*, e em associação a infecções respiratórias considera-se a espécie *C. baileyi* (CURRENT et al., 1986).

*Cryptosporidium* sp. também foi observado em rins de um pintassilgo de 4 meses, no zoológico nos EUA por GARDINER & I-MES (1984).

A importância de *Cryptosporidium* sp. como um patógeno primário não tem sido claramente definida. Em alguns casos, vírus, bactérias, ou fungos foram isolados associados a *Cryptosporidium* (HOERR et al., 1978).

Transmissão por via oral-fecal através de contaminação do ambiente é facilmente obtida. Entretanto, transmissão por injeções intra-sinusal em perus de 1 semana, com exudato de seios nasais de perus afetados clinicamente, indica que o contato com fluídos respiratórios pode espalhar a doença dentro do plantel (GLISSON et al., 1984).

#### 2.4.3. Infecção em camundongos

Duas espécies de *Cryptosporidium* tem sido reconhecidas: *C. muris* estabelecendo-se somente no estômago TYZZER (1907) e TYZZER (1910) e *C. parvum* somente no intestino (TYZZER, 1912).



Subseqüentemente *C. parvum* foi encontrado no ceco e no cólon de camundongos (GOEBEL & BRAENDER, 1982 e JOKIPPI et al., 1985). Em um único caso este organismo foi encontrado no fígado, pulmão e coração de camundongos experimentalmente infectados com *C. parvum* isolado de bezerros (PAVLASEK, 1984). A falta de especificidade de *C. parvum*, faz com que esta espécie seja capaz de infectar bovinos, humanos, cobaias e ovinos (FAYER & UNGAR, 1986).

Segundo KLESIUS et al. (1986), de 115 camundongos silvestres capturados em instalações de bovinos, 30% estavam infectados com *Cryptosporidium* sp. Vinte dos 35 camundongos infectados, eliminaram oocistos no dia da captura, e o restante eliminou oocistos de dois a dez dias após a captura. O diagnóstico foi realizado por exame das amostras fecais usando o método de coloração pela Carbol-fuchsina modificado e aurime 0. Estes camundongos infectados não manifestaram a doença clínica. Oocistos foram isolados de amostras fecais para inoculação de camundongos e bezerros. Para a inoculação de camundongos, utilizou-se aproximadamente 10.000 oocistos inoculados oralmente em camundongos silvestres livres da infecção por *Cryptosporidium*, em duas repetições de cinco camundongos cada, tendo um controle também com cinco camundongos; os cinco camundongos inoculados eliminaram oocistos após 6 dias, permanecendo esta eliminação de nove a 15 dias; dois dos outros cinco camundongos inoculados eliminaram oocistos por volta do segundo dia após a infecção. Os camundongos do grupo controle não eliminaram oocistos. KLESIUS et al. (1986) sugeriram que este ciclo

pode ocorrer naturalmente: os bovinos infectando-se uns aos outros e aos camundongos, com o mesmo ocorrendo entre os camundongos e entre camundongos e bovinos. Este mesmo autor indica que camundongos silvestres adultos foram facilmente infectados com oocistos de *Cryptosporidium* sp. e também que estes camundongos puderam contaminar os alimentos e a água dos bezerros.

ISEKI (1986) coletou amostras de fezes de 61 *Rattus norvegicus* e três *Rattus rattus*; o material foi obtido de ceco e cólon de cada rato após a necrópsia e foi preservado em solução de  $K_2Cr_2O_7$  a 2,5% por vários dias. O exame foi feito pelo método de centrífugo flutuação usando solução saturada de açúcar de Sheather. Oocistos de *Cryptosporidium* foram obtidos em nove (14,8%) de 61 *R. norvegicus*, mas não foram encontrados em nenhum dos três *R. rattus*. Este mesmo autor constatou que oocistos de *Cryptosporidium* são difundidos entre ratos em áreas urbanas e que oocistos são eliminados nas fezes de ratos de domicílios, chamando atenção para ratos como fonte de criptosporidiose humana. Foram encontrados duas formas de oocistos em *Rattus norvegicus*, medindo 5,3 x 4,8  $\mu m$  de diâmetro, foram detectadas em seis (9,8%) de 61 ratos e uma outra forma medindo 8,4 x 6,3  $\mu m$  foi observada em três (4,9%) de 61 ratos. Estes oocistos foram infectivos para camundongos de laboratório.

Ratos silvestres recém-nascidos foram tão susceptíveis para infecção com *Cryptosporidium* sp, como camundongos de laboratório recém-nascidos, segundo FAYER & UNGAR (1986). Estes ratos silvestres, foram infectados com oocistos de bovinos, humanos, camundongos e ovinos, mas não com oocistos de pintos.

POHJOLA & LINDBERG (1986), utilizaram 120 camundongos de um a quatro dias de idade, inoculando-os oralmente com material fecal obtido de bezerros naturalmente infectados com *Cryptosporidium* sp. Para detectar a presença de oocistos nos camundongos, amostras de fezes foram coradas pela técnica de Ziehl-Neelsen/modificada (HENRIKSEN & POHLENZ, 1981). As amostras coradas foram examinadas ao microscópio, sob óleo de imersão, com uma grandeza de 100x. Os oocistos tinham o tamanho de três - seis  $\mu\text{m}$ , eram esféricos e apresentavam-se como corpos vermelhos sobre um fundo verde. Oocistos nas fezes dos camundongos foram primeiramente observados 84 horas após a inoculação.

Secções intestinais de camundongos foram coradas com Giemsa e apresentavam *Cryptosporidium* ao longo das microvilosidades das células intestinais do íleo e áreas com numerosas células inflamatórias na lâmina própria das vilosidades intestinais.

REESE et al. 1982), isolaram oocistos de humanos e bezerros, concentraram-nos por solução saturada de açúcar de Sheather, lavaram-nos em água por centrifugação e então inocularam oralmente em camundongos e ratos com um dia de idade. Todos os camundongos e ratos inoculados estavam altamente infectados quando necropsiados seis dias após infecção. Numerosos estágios endógenos foram observados nas microvilosidades das células intestinais do íleo e moderados no ceco e cólon. Secções intestinais foram coradas com Hematoxilina e eosina. Oocistos de *Cryptosporidium* sp. foram observados usan-

do-se a técnica de solução saturada de açúcar de Sheather, homogeneizando intestino de todos os camundongos e ratos com seis dias pós infecção (DPI).

ERNEST (1986), utilizou material fecal de bezerros com oocistos de *Cryptosporidium* sp. para inocular camundongos. Oocistos foram colocados em  $K_2Cr_2O_4$  e lavados por centrifugação. Camundongos livres do coccidia foram inoculados com seis dias de idade e necropsiados oito DPI, amostras de fezes de cada camundongo coradas com carbol-fuchsin (HEINE, 1982). Foi revelado que 100% dos camundongos inoculados com 1.000, 5.000, 10.000 e 100.000 oocistos estavam infectados e estágios endógenos foram observados a nível de intestino, após coloração com H.E. Um segundo grupo com inóculo de  $2 \times 10^4$  oocistos desenvolveu a infecção com período pré-patente de quatro dias e eliminou oocistos com uma média de 9,3 dias e um terceiro grupo de camundongos contraiu criptosporidiose, com um número mínimo de 100 a 500 oocistos por inóculo, comprovando que infecções experimentais, com limitada quantidade de oocistos podem se estabelecer em camundongos.

SHERWOOD et al. (1982), demonstraram que isolados de *Cryptosporidium* sp. ocasionaram infecção subclínica em oito raças de camundongos (SPF) de um a quatro dias de idade; porém, em camundongos com 21 dias de idade ou mais velhos, foram menos susceptíveis à infecção por *Cryptosporidium*. Para detectar *Cryptosporidium* sp., amostras de conteúdo fecal foram coradas com Giemsa, e segmentos de duodeno e íleo foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE).

#### 2.4.4. Infecção em coelhos

Coelhos adultos (*Orytolagus cuniculis*) têm sido infectados naturalmente com *Cryptosporidium* sp., onde foram observados no jejuno e íleo por ANMAN & YAKEVICH (1979) e REHG et al. (1979). Em alguns, o íleo tem apresentado as vilosidades moderadamente curtas com um descréscimo no raio criptas/vilos, ligeiro edema na lâmina própria e dilatações laterais (ANMAN & YAKEVCHI, 1979).

Coelhos podem tornar-se infectados quando inoculados com oocistos de bezerros, mas não quando inoculados com oocistos de cobaias (FAYER & UNGAR, 1986). Oocistos de coelhos têm sido responsabilizados como fonte de infecção para humanos (FAYER & UNGAR, 1986).

#### 2.4.5. Infecção em cobaias

Infecções naturais com *Cryptosporidium* sp. foram constatadas em cobaias (*Cavia porcellus*) (VETTERLING et al., 1971), onde não foram associadas a sinais clínicos, porém, descrições de alterações microscópicas indicavam uma enterite crônica (JERVIS et al., 1966).

#### 2.4.6. Infecção em gatos

Em 10 infecções naturais de gatos domésticos (*Felis catus*) na Ásia (ISEKI, 1979), Europa (AUGUSTIN-BICHL et al.,

1984 e PAVLASEK, 1985), nos Estados Unidos (KOCH et al., 1983), foi encontrado *Cryptosporidium* sp. em fezes coletadas em levantamento parasitológico de gatos de estimação de pacientes com criptosporidiose ou acidentalmente em tecido obtido de necrópsia. Doença clínica não foi notada, embora as fezes fossem pastosas, às vezes de cheiro desagradável (KOCH et al., 1983). A idade dos animais variou de duas semanas a adultos. Aproximadamente 23 gatos foram positivos na Escócia para anticorpos contra *Cryptosporidium* sp. (TZIPORI & CAMPBELL, 1981).

A infecção experimental em gatos com oocistos oriundos de bezerros (AUGUSTIN-BICHL et al., 1984) ou de gatos (ISEKI, 1979) tiveram período patente de dois a 25 dias e período pré-patente de dois a 11 dias respectivamente.

#### 2.4.7. Infecção em cães

Um levantamento epidemiológico em 200 cães domésticos (*Canis familiaris*) na Alemanha e 57 na Finlândia, para detectar oocistos de *Cryptosporidium* das fezes, não demonstrou infecção (AUGUSTIN-GICHL et al., 1984 e POHJOLA, 1984). Entretanto, quatro cães com infecção natural foram encontrados nos Estados Unidos (FUKUSHIMA & HELMAN, 1984; SISK et al., 1984); os animais tinham idade que variavam de uma semana a três meses. *Cryptosporidium* sp. foi observado no intestino delgado, em uma necrópsia. Por outro lado, um levantamento sorológico na Escócia registrou que 16 de 20 amostras de soro de cães continham anticorpos contra *Cryptosporidium* sp. (MATHAN et al., 1985).

#### 2.4.8. Infecção em esquilos e guaxinim

Infecção em esquilos (*Sauris carolinensis*) e guaxinim (*Procyon lotor*) com *Cryptosporidium* sp. também foi registrada por CARLSON & NIELSEN (1982) e SUNDBERG et al. (1982). Em guaxinim, os animais chegaram a morrer, porém, em esquilos, apenas ocorreu emagrecimento.

#### 2.4.9. Infecção em ruminantes não domésticos

Oitenta e dois veados vermelhos, com idade acima de uma semana, foram capturados e levados para a estação de pesquisa da Escócia (TZIPORI et al., 1981). Dentro de quatro semanas, 56 tiveram diarreia. Oocistos de *Cryptosporidium* sp. foram encontrados nas fezes de 27 veados com diarreia e em 11 animais saudáveis.

Em San Diego, EUA, no parque dos animais selvagens, 44 ruminantes com menos de 21 dias de idade tiveram diarreia, desidratação e emagrecimento (VAN NINKLE, 1985). Ao realizar o exame histológico do intestino delgado, observou-se a presença de *Cryptosporidium* sp. nas microvilosidades.

#### 2.4.10. Infecção em cavalos

Baseando-se no exame de fezes ou exame histológico, 13 de 82 cavalos sem sinais clínicos, na França (SOULE et al., 1983) e dois potros com diarreia, no Canadá (GAJADHAR et al., estavam infectados com *Cryptosporidium* sp. Na Escócia, 20 de 22

potros tiveram anticorpos para *Cryptosporidium* spp. (TZIPORI & CAMPBELL, 1981).

Dois potros na Austrália (GIBSON et al., 1983) e cinco nos Estados Unidos (SNYDER et al., 1978) com imunodeficiência associada a um quadro clínico agudo de diarreia, apresentaram *Cryptosporidium* sp. nos ductos biliares, ductos pancreáticos, bexiga, estômago, intestino delgado, ceco e cólon. Todos continham estágios do parasita. Segundo os autores a falta de imunidade tem grande influência na severidade e distribuição da infecção.

#### 2.4.11. Infecção em ovinos

A criptosporidiose tem sido associado com morbidade e mortalidade em infecção natural de cordeiros na Austrália, Escócia, Alemanha e Estados Unidos, e em ovinos adultos na Bélgica (BARKER & CARBONELL, 1974; BERG et al., 1978; TZIPORI et al., 1981; ANDERSON, 1982, ANGUS et al., 1982; HIEPE et al., 1985). Na Escócia, *Cryptosporidium* sp. foi o maior causador de diarreia, afetando em torno de 40% de 1064 cordeiros nascidos em 1981 (ANGUS et al., 1982), onde recém-nascidos foram mais susceptíveis à infecção natural (ANDERSON, 1982; ANGUS et al., 1982). Estudos experimentais têm mostrado que cordeiros também são susceptíveis à infecção. Cordeiros de 30 dias de idade foram infectados, porém, tiveram uma resposta clínica moderada e cordeiros infectados aos 7 meses, não tiveram resposta clínica (TZIPORI et al., 1981).



Diarréia foi o sinal clínico mais proeminente em ovinos com criptosporidiose, no final de dois a 12 dias de idade. Os animais afetados, às vezes tinham anorexia, redução no crescimento, rigidez, lento modo de andar, flacidez muscular e depressão (ANGUS et al., 1982).

A maior parte dos casos foi diagnosticada por identificação dos oocistos nas fezes. Em necrópsias, sangue, fluído mucoso e fezes aquosas amarelo brilhantes, têm sido observadas nos intestinos delgado e grosso, ambos aparecendo moderadamente hiperêmicos (BERG et al., 1978; TZIPORI et al., 1981).

As lesões histológicas incluem encurtamento e fusão das vilosidades, congestão de vasos na lâmina própria com infiltrado de células mononucleares e neutrófilos (BERG et al., 1978; ANGUS et al., 1982).

#### 2.4.12. Infecção em caprinos

Infecções naturais em caprinos por *Cryptosporidium* sp., foram assinaladas na Austrália (MASON et al., 1981; TZIPORI et al., 1982), com identificação histológica do parasita no intestino delgado de caprinos Angora de duas semanas de idade e que morreram com um quadro de diarréia; entretanto DUCATELLE et al. (1983) na Bélgica, identificaram em um caprino de seis meses de idade de uma criação de 10 casos de diarréia intermitente; e na Tanzânia, MASON et al. (1981) assinalaram este parasita no intestino delgado de caprinos que, antes de morrer, apresentavam diarréia.

Em uma criação de caprinos, de 29 animais com menos de três semanas de idade, 21 tiveram forte diarréia e três morreram. Em 11 destes animais foi detectado *Cryptosporidium* sp. nas fezes ou mesmo em secção histológica do intestino delgado (TZI-PORI et al., 1982). Aqueles com diarréia e *Cryptosporidium* sp., recuperaram-se e depois de sete dias tiveram breve recaída. Falta de higiene foi a causa de surtos nesta propriedade, onde atenção pode ser dada a contaminação com grande número de oocistos na criação.

#### 2.4.13. Infecção em suínos

Na Austrália, LINKS (1982) descreveu quatro casos naturais de infecção por *Cryptosporidium* em suínos em duas pocilgas. Estes animais tinham idades que variavam entre duas a nove semanas, e em uma das pocilgas dois animais tiveram diarréia aquosa. O sistema de criação era do tipo semi-intensivo. Para o diagnóstico foi feita secção histológica do intestino delgado, corados com Giemsa e Hematoxilina - Eosina, onde o parasito foi observado nas microvilosidades intestinais.

Nos Estados Unidos, em um levantamento nos suínos com enterite necrótica em 81 rebanhos, um animal foi positivo para *Cryptosporidium* sp. (BERGELAND, 1977). Em outro levantamento, KENNEDY et al. (1977) encontraram *Cryptosporidium* sp. no intestino grosso de três suínos inoculados oralmente com conteúdo do cólon de suínos com disenteria; estes mesmos autores não mencionam diarréia nos animais infectados.

Na Escócia, TZIPORI & CAMPBELL (1981) observaram que 41 de 43 amostras de soro de suínos de cinco origens diferentes, foram positivas para anticorpos contra *Cryptosporidium* sp. na imunofluorescência indireta.

Nos suínos a idade tem grande efeito sobre a severidade da infecção, segundo TZIPORI et al. (1982). Em um experimento com oocistos de *Cryptosporidium*, esterilizados para outros patógenos, suínos foram infectados com um a três dias de idade, sendo afetados severamente pela doença, com diarréia e anorexia nos três primeiros dias após à inoculação e excreção de oocistos após dois dias da infecção. Animais infectados com sete dias de idade foram moderadamente afetados; outros, infectados com 15 dias de idade, não tiveram sinais clínicos, permaneceram saudáveis e foram detectados oocistos de *Cryptosporidium* sp. em suas fezes três dias após a inoculação.

Segundo TZIPORI (1983), suínos com quatro semanas de idade, livres de patógenos específicos, infectados durante o aleitamento, não tiveram diarréia pós-desmame.

Por outro lado, suínos têm sido infectados com oocistos de bovinos (HEINE et al., 1984), onde se estabeleceu infecção com inoculação de oocistos na traquéia e saco conjuntival dos animais. MOON & BEMRICK (1981) promoveram infecção oral em suínos com fezes de bezerros contendo oocistos de *Cryptosporidium* sp. TZIPORI et al. (1981), e TZIPORI et al. (1982) realizaram infecção experimental em suínos por inoculação oral de oocistos de *Cryptosporidium* de ovinos, camundongos (TZIPORI et al., 1981) e de outros suínos (KENNEDY et al., 1977).

Na infecção experimental por *Cryptosporidium* observam-se respostas clínicas de brandas a severas (MOON & BEMRICK, 1981; TZIPORI et al., 1981; TZIPORI et al., 1982). Suínos de um a três dias, com dose oral de um número desconhecido de oocistos, tiveram vômito, diarreia e anorexia (MOON & BEMRICK, 1981; TZIPORI et al., 1981). Estágios do parasita foram encontrados no íleo, ceco e cólon, sendo numerosos nas células epiteliais das criptas de Lieberkühn (KENNEDY et al., 1977). Alterações histopatológicas foram mais notadas no intestino delgado posterior, onde houve extensa perda da mucosa, com encurtamento e fusão das vilosidades. Células mononucleares foram mais numerosas na lâmina própria e havia colônias de leucócitos nas criptas, fagocitando o parasita.

Os epitélios traqueal e conjuntival dos suínos têm sido infectados com oocistos provenientes de humanos e isolados de bovinos, respectivamente (TZIPORI, 1983; HEINE et al., 1984). Com estas infecções estabeleceram-se hipóteses de que *Cryptosporidium* sp. tem capacidade para infectar locais extra-intestinais, tendo em vista que o oocisto pode, romper-se sem enzimas pancreáticas ou sais biliares como é requerido por outros coccídios (FAYER & LEEK, 1984).

SANFORD (1987) observou formas do *Cryptosporidium* nas microvilosidades intestinais de 184 suínos de 133 fazendas, quando submetidos ao diagnóstico de rotina, entre 1981 a 1985. Os animais infectados tinham de seis a 12 semanas de idade, sendo que a faixa de idade explorada foi de uma a 30 semanas. A incidência sazonal não foi observada. Somente 26% dos animais in-

fectados tiveram diarreia, e na maior parte deles, outros agentes diarréicos foram diagnosticados. SANFORD (1987) concluiu que a infecção em suínos com Adenovirus e *Cryptosporidium* sp. foi significativamente grande, induzindo-o a especular que outros fatores não determinados, como talvez imunossupressão causada por "stress", criam oportunidade para a proliferação de um ou ambos os organismos.

TZIPORI (1981), em um estudo com 43 suínos, constatou que 95% dos animais tiveram anticorpos contra *Cryptosporidium*, porém, a prevalência da infecção por *Cryptosporidium* em suínos não foi determinada.

BELCHEV et al. (1984), ao necropsiarem três suínos de 10 dias de idade, mortos após uma semana com diarreia, constataram *Cryptosporidium* nas criptas de Lieberkühn e embebidos nas bordas das microvilosidades epiteliais do jejuno. As lesões teciduais a caracterizaram-se por decréscimo no tamanho das vilosidades intestinais e infiltração celular mononuclear na lâmina própria. Já em 1987, BELCHEV et al. diagnosticaram, em um grupo de 11 animais que morreram com diarreia, com 10 a 20 dias de idade, infecção mista de *Escherichia coli*, rotavírus e *Cryptosporidium* sp.

Em Cuba, *Cryptosporidium* foi encontrado em secções intestinais por CABRERA (1985) em dois de 92 suínos com duas semanas de idade e que apresentavam diarreia. O epitélio intestinal apresentou-se com descamação, com crescente secreção de muco e com infiltração de leucócitos na lâmina própria.

KOUDELA et al. (1986) no Vietnam, ao examinarem amos-

tras fecais de 17 animais de quatro a oito semanas de idade, pela técnica de flutuação de Sheater, observaram que sete animais tinham *Eimeria* (*E. debliciecki*, *E. scabrasuis* e *E. perminuta*), quatro *Cryptosporidium* sp., dois *Ascaris suis* e um *Oesophagostomum dentatus*; a confirmação do diagnóstico de *Cryptosporidium* sp. foi feita pela técnica de coloração de fezes de MILACEK & VITOVEC (1985).

GIALLETTI et al. (1986) com base em exame fecal e histológico de secções intestinais, inocularam cobaios para investigar possíveis casos de criptosporidiose em 64 bezerros, 40 cordeiros, 24 cabritos e 88 suínos, todos com idades variando entre dois e 45 dias. *Cryptosporidium* sp. foi identificado em 24 (38%) bezerros de seis das 21 fazendas pesquisadas; oito (20%) cordeiros de três de 18 fazendas de ovinos; seis (25%) cabritos de oito fazendas estudadas, porém, em nenhum dos suínos de 17 fazendas. Todos os animais infectados tinham quatro a 25 dias de idade e apresentavam diarréia.

Em 1985, AYENI et al. encontraram oocistos de *Cryptosporidium* sp. em amostras de fezes de 75 (32,6%) de 230 suínos; cinco (4,25%) de 130 caprinos; 18 (12%) de 150 ovinos e oito (7,6%) de 105 bezerros. O período da infecção foi rápido em animais com menos de 10 semanas de idade. Oocistos foram obtidos de suínos com ou sem diarréia e de caprinos, ovinos e bovinos sem diarréia. Cinco suínos desmamados com oito semanas de idade, receberam cada um 1500 oocistos procedentes de suínos com diarréia, e eliminaram oocistos do quarto dia após inoculação até ao final do período de dois meses; não foram observa-

dos sinais de diarreia. Entretanto, o aumento de peso (0,82kg) foi significativamente menor que o dos cinco animais controles (3,18 kg).

TOCAL et al. (1987) ao realizarem exame de amostras de fezes de 200 suínos para o abate, observaram oocistos de *Cryptosporidium* em animais em crescimento e terminação. Dos suínos em crescimento, quatro pertenciam a um grupo de 98 animais sem diarreia e três a outro grupo de 17 suínos com diarreia. Entre os 85 suínos em terminação, todos estavam clinicamente normais.

#### 2.4.14. Infecção em bovinos

Numerosos casos de infecção em rebanhos e levantamentos regionais em bovinos, indicam que a criptosporidiose tem distribuição cosmopolita. Encontrada em gado leiteiro e de corte, tem sido mais prevalente em animais jovens, muitas vezes associada a um processo diarreico. Casos naturais da infecção são relatados na Austrália (JERRETT & SNODGRASS, 1981), Bengala (RAHAMAN et al., 1984), Irlanda (PEARSON & LOGAN, 1978), Escócia (SNOGRASS et al., 1980), Bélgica (PEETERS et al., 1982), Suíça (NAGY & POHLENZ, 1982), Dinamarca (HENRICKSEN & KROGH, 1980), Alemanha (JUNGMANN & HIEPE, 1983), Tchecoslováquia (PAVLASEK, 1982), Hungria (NAGY et al., 1979), Romênia (DAN et al., 1983), Israel (NOBEL et al., 1982), Cuba (GOMEZ et al., 1982), México (MORTEO et al., 1983), Canadá (MORIN et al., 1976) e Estados Unidos (ANDERSON, 1981).

A prevalência de *Cryptosporidium* sp. em bovinos varia amplamente, embora o meio de diagnóstico possa ter importância para esta variação. Assim, MYERS et al. (1984) não detectaram oocistos nas fezes de 136 bovinos saudáveis, enquanto TZIPORI & CAMPBELL (1981) encontraram anticorpos para *Cryptosporidium* sp. em 25 animais saudáveis.

A criptosporidiose bovina parece estar relacionada também com a idade do animal, isto é, em bezerros com menos de 3 semanas de idade (PAVLASEK, 1982).

Oocistos de *Cryptosporidium* sp. isolados de bezerros infectaram vários mamíferos (FAYER & UNGAR, 1986). Do mesmo modo, as fontes de infecção de bovinos podem ser outras espécies de mamíferos. Sob condições de fazendas, as fontes mais prováveis de infecção podem ser animais da mesma espécie (TZIPORI, 1983; CURRENT, 1985), roedores silvestres (FAYER & UNGAR, 1986), e em alguns casos, animais domésticos de estimação, como cães e gatos (CURRENT, 1985).

Em alguns casos de diarreia em bezerros com criptosporidiose, um ou mais patógenos têm sido identificados (JERRETT & SNODGRASS, 1981), porém, em outros casos não foram encontrados outros patógenos, sugerindo que *Cryptosporidium* sp. pode ser também patógeno primário (BARKER & CARBONELL, 1974).

O colostro não parece conferir proteção contra a criptosporidiose (MOON & BEMRICK, 1981; TZIPORI et al., 1983). De 12 bezerros infectados experimentalmente que estavam recebendo colostro de suas mães ou foram alimentados com colostro de várias vacas, todos liberaram oocistos e tiveram diarreia (MOON



& BEMRICK, 1981). De 40 bezerros alimentando-se de colostro em infecção experimental com *Cryptosporidium* sp., 31 animais tornaram-se infectados e liberaram oocistos (MOON et al., 1982). Em 17 infecções experimentais de bezerros, não foram distinguidas diferenças entre nove infecções com animais alimentando-se de colostro ou animais privados do colostro (FAYER & UNGAR, 1986).

#### 2.4.15. Infecção em primatas não humanos

Criptosporidiose em primatas não humanos tem sido raramente assinalada e predominantemente em macacos do gênero *Macaca*: *Macaca mulata* (KOVATCH & WHITE, 1972), *M. radiata* e *M. fascicularis* (WILLSON et al., 1984). LEVINE (1980) indicou que a espécie encontrada em macacos Rhesus podem ser *Cryptosporidium rhesi*, mas que esta espécie seria o *C. parvum*, o qual tem sido encontrada virtualmente em todos os mamíferos. A maior parte foi encontrada em animais jovens e todos com diarreia (WILLSON et al., 1984 e KOVATCH & WHITE, 1972), durante surtos por um período de nove meses no mesmo centro de Pesquisa de Primatas, onde 67 animais apresentavam-se com diarreia e todos eliminavam oocistos em um período de três a 66 dias; estas infecções porém, não resultaram em mortes.

#### 2.4.16. Infecção em humanos

O primeiro registro de caso humano característico de

criptosporidiose foi assinalado por NINE et al. (1976), em um paciente de três anos de idade, nos EUA, que apresentava um quadro de vômitos, diarreia aquosa, dor e cólicas abdominais. O estado imunológico desta criança não foi avaliado, e com auxílio terapêutico recuperou-se. O diagnóstico da infecção foi efetuado por biópsia retal. TZIPORI et al. (1980b), WEINSTEIN et al. (1981), SLOPER et al. (1982), ANDERSON et al. (1982) e REESE et al. (1982), relataram outros casos humanos; destes pacientes, cujas idades variavam de três a 38 anos, oito estavam imunodeficientes ou estiveram recebendo tratamento imunossupressivo. O resultado foi fatal em seis desses pacientes imunologicamente comprometidos, embora um paciente de 30 anos, que aparentemente contraiu a infecção no espaço de tempo sob tratamento médico imunossupressivo, tenha se recuperado espontaneamente após a retirada do medicamento (MEISEL et al., 1976).

Em três casos de infecção aguda, porém transitória em adultos, não houve história de imunodeficiência; seus sintomas foram similares, caracterizando-se por náuseas ou vômitos, houve recuperação espontânea em uma a duas semanas. Em cada caso, o diagnóstico foi feito por demonstração de oocistos de *Cryptosporidium* em amostra de fezes, com ausência de outros enteropatógenos. Em outros dois casos os oocistos foram recuperados por técnicas de flutuação (ANDERSON et al., 1982; REESE et al., 1982), e em 2 dos exemplos adicionais as confirmações foram feitas por transmissão para animais de laboratório (CURRENT et al., 1983; TZIPORI et al., 1983), demonstrando oocistos de *Cryptosporidium* em amostras de fezes de 12 humanos saudáveis.

Evidências adicionais da ocorrência da criptosporidiose transitória em humanos foram fornecidas por um levantamento de quatro meses em pacientes com enterite: 25 de 362 pacientes (6,9%) eliminavam oocistos de *Cryptosporidium* em suas fezes (TZIPORI et al., 1983); em quatro desses pacientes foram identificados outros possíveis enteropatógenos.

Como em outras espécies de hospedeiros, não teve efeito os medicamentos ou outros tratamentos capazes de controlar a infecção por *Cryptosporidium* no homem e, conseqüentemente, a doença mostrou-se refratária em pacientes imunodeficientes ou que estão recebendo terapia prolongada imunossupressiva. Em circunstância adequada a suspensão de medicamentos imunossupressivos, podem desenvolver resistência natural, resultando em espontânea recuperação (MEISEL et al., 1976). Em indivíduos saudáveis ou imunocompetentes a infecção parece ser transitória e há recuperação espontânea (ANGUS, 1983).

A doença tem sido normalmente limitada em indivíduos imunocompetentes, mas tem sido uma ameaça para indivíduos imunocomprometidos, tal como tem acontecido em pacientes submetidos a transplante de órgãos, ou em quimioterapia para câncer, ou aqueles com a Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (CURRENT & HAYNES, 1984).

Animais reservatórios do agente da infecção humana têm sido incriminados, e pode servir para contaminar a água de rios, com fezes contendo oocistos (REESE et al., 1982).

Segundo CURRENT (1984), o principal modo de transmissão parece ser por eliminação de oocistos e o contato oral-fecal.

#### 4.5. Diagnóstico

Na maior parte das infecções de humanos e animais com *Cryptosporidium*, o diagnóstico foi feito por observações microscópicas dos estágios endógenos do parasita em tecidos intestinais obtidos por biópsia ou post-mortem (NIME et al., 1976; LASSER et al., 1979 e STEMMERMANN et al., 1980).

Os estágios tem sido reconhecidos pelo tamanho e localização. Eles variaram de dois a cinco  $\mu\text{m}$  de diâmetro, localizados individualmente ou em grupos sobre a superfície do epitélio dos tratos gastrintestinal ou respiratório, e aparecem como projeções subesféricas dentro do lúmen (FAYER & UNGAR, 1986).

O tecido tem sido fixado em solução de formalina a 10% ou solução de Buin e posteriormente corados em Hematoxilina e Eosina (H.E.), Azul de Toluidina, Giemsa ou Tricrômico de Masson. Todos os corantes têm mostrado boa afinidade ao parasita (KIRKPATRICK & FARRELL, 1984), porém características especiais de tecido não tem identificação facilitada, quando corado com H.E., na qual o *Cryptosporidium* sp. aparece basófilo (FAYER & UNGAR, 1986). Obstáculos para o diagnóstico por biópsia incluem a colheita de área não invadida pelo parasita, limitada quantidade de tecido, necessidade de processamento imediato para evitar autólise ou remoção do organismo da superfície da membrana (POHLENS et al., 1978). Estágios endógenos do parasita nas microvilosidades intestinais das células epiteliais têm sido demonstrados histologicamente quando corados

por H.E., em amostras fixadas dentro de uma ou duas horas após morte (ANDERSON, 1982; ANGUS, 1983 e TZIPORI, 1983).

A microscopia eletrônica tem permitido uma visualização das estruturas internas e diferenciação dos vários estágios de *Cryptosporidium*, sendo muitas vezes necessária para a confirmação do diagnóstico (POHLENZ et al., 1978; STEMMERMANN et al., 1980 e LEFKOWITCH et al., 1984).

A confirmação histológica da infecção, embora valiosa (MORIN et al., 1976), têm sido a única praticável em carcaças mortas recentemente ou em animais abatidos por anestésicos intravenosos, devido à autólise da superfície dos enterócitos. Entretanto, o organismo pode ser detectado em cadáveres após 6 horas da morte, por exames de secções intestinais coradas pelo corante Giemsa (POHLENZ et al., 1978).

O xenodiagnóstico tem envolvido inoculação oral em mamíferos, tais como camundongos livres do patógeno, com suspensão fecal de casos suspeitos de *Cryptosporidium* sp. Ao redor de uma semana após a inoculação, os camundongos são sacrificados e secções intestinais tais como duodeno, jejuno, íleo, ceco, cólon e reto são fixadas, coradas e examinados ao microscópio (TZIPORI et al., 1980b).

Camundongos infectados eliminaram oocistos a 12 DPI e evidências histológicas da infecção têm sido confirmada pelo menos 14 DPI (SHERWOOD et al., 1982).

O diagnóstico de casos transitórios agudos de criptosporidiose no homem, têm sido feito por demonstração de oocistos em esfregaços de fezes e coradas, ou por técnica de flutua-

ção e confirmado por transmissão para camundongos (TZIPORI et al., 1980b; RESSE et al., 1982).

O diagnóstico sem a demonstração de invasão em tecido intestinal foi primeiramente realizado em bezerros (POHLENZ et al., 1978; SNODGRASS et al., 1980) e em humanos (TZIPORI et al., 1980b), quando oocistos foram observados em amostras de fezes coradas com Giemsa. ANGUS et al. (1981), durante exame de rotina em amostras de surtos de diarréia em bezerros a campo, encontraram amostras contendo corpos de leveduras; quando coradas, as leveduras apresentaram-se ovóides ou redondas, de aproximadamente 4 a 5  $\mu\text{m}$  de diâmetro e geralmente em grande número nas amostras. Seu tamanho, morfologia e características tintoriais, quando em amostras coradas pelo Giemsa, poderiam ser confundidas com oocistos de *Cryptosporidium*; entretanto, o último geralmente, quando corado, apresentou-se com cinco grânulos vermelho brilhantes, os quais provavelmente representam quatro esporozoítas e o corpo residual, ao passo que a estrutura central das leveduras aparece como uma massa vermelha indeterminada.

Conseqüentemente, numerosas técnicas para concentração de amostras de fezes e para corar oocistos têm sido aplicadas para detecção de *Cryptosporidium* spp.; mas neste ponto há limitado consenso sobre quais métodos têm sido os mais satisfatórios.

A técnica de Ziehl-Neelsen modificada (HENRIKSEN & POHLENZ, 1981), foi efetiva em demonstrar este protozoário em esfregaço de fezes. Em amostras coradas por esta técnica, oocistos de *Cryptosporidium* tem aparecido com três-seis  $\mu\text{m}$  de diâ-

metro, volumosos, densamente corados como corpos vermelhos claramente distingüíveis, contra o fundo verde. Alguns parasitas, entretanto, foram pouco corados, tornando-se claros; esses são provavelmente oocistos ou seus precursores (HENRIKSEN & POHLENZ, 1981). Ainda em amostra de fezes coradas por este mesmo método (HENRIKSEN & POHLENZ, 1981), as leveduras não são coradas de vermelho, acontecendo o inverso quando coradas pelo método de Giemsa.

A técnica de Safranina - Azul de Metileno (S-AM), descrita por BAXBY *et al.* (1984) é segundo estes autores, o método mais sugestivo que o recomendado correntemente como o Ziehl-Neelsen. BAXBY *et al.* (1983) utilizaram este método para detectar criptosporidiose em crianças de hospital, com os oocistos tendo sido vistos como corpos corados de rosa-alaranjado vivo, com aproximadamente 5  $\mu$ m de diâmetro, normalmente esféricos ou ligeiramente ovóides.

Segundo BAXBY *et al.* (1984), os oocistos que não retêm carbol-fucsina no método de Ziehl-Neelsen modificado, são corados com S-AM. Estes mesmos autores caracterizam o método S-AM como mais sensível e mais preciso do que o de Ziehl-Neelsen modificado.

Técnicas de concentração de fezes incluem solução de Sheather, cloreto de sódio ou sedimentação com formol ether (modificado Ritchie) ou formol éter-acetado. Uma comparação das quatro técnicas não estabeleceu diferença apreciável entre os métodos (ANDERSON, 1983). CASEMORE *et al.* (1985) descreveram que a técnica do formol éter é mais sensível para sedimen-

tação e cloreto de sódio o mais sensível para flutuação; outros têm estabelecido a técnica de Sheather como mais efetiva que formalina éter ou formalina acetado de etila (ZIERDT, 1984 e McNABB et al., 1985). Solução de Sheather permite imediato reconhecimento do oocisto, o qual cora-se em rosa, mas os oocistos começam a despedaçar-se e perdem suas características de forma subsférica, ligeiramente após 15 minutos (ZIERDT, 1984 e McNABB et al., 1985). Contraste de fase ou interferência no contraste do microscópio podem facilitar a identificação comparando-se o oocisto com o campo brilhante do microscópio (GARCIA et al., 1983); os oocistos são prontamente vistos como esferas refráteis contra um escuro campo, enquanto usualmente exibindo uma ou mais manchas escuras internas, leveduras aparecem escuras como corpos não refráteis (RESSE et al., 1982 e WILLSON & ACRES, 1982).

Um largo número de técnicas de coloração têm sido usado para detectar oocistos de *Cryptosporidium* sp.

Imunofluorescência também pode ser usado para detectar *Cryptosporidium* spp. (GARCIA et al., 1983; MA & SOAVE, 1983 e PAYNE et al., 1984).

Amostras de fezes podem ser preservadas em dicromato de potássio a 2,5%, em formol a 10% ou em álcool polivinil (FAYER & UNGAR, 1986).

Há estudos em que se comparam técnicas de diagnóstico de *Cryptosporidium* sp. por exame de fezes; num estudo, onde se comparam seis processos de coloração, conclui-se pelo uso de três dos corantes examinados: lugol (exame preliminar), flu-



tuação Sheather (para concentração de oocistos) e Ziehl-Neelsen modificado para confirmação do diagnóstico (MA & SOAVE, 1983). Um outro estudo, comparando 15 diferentes métodos, recomenda a técnica de Ziehl-Neelsen modificada sobre concentrados de amostra fecal preservados em formalina a 10% e tratados com hidróxido de potássio a 10% sendo o mais efetivo (GARCIA et al., 1983). GARZA et al. (1984) também indicaram a técnica de Ziehl-Neelsen modificada como a mais efetiva. Estes autores constataram que dois pacientes em um grupo de oito considerados negativos para *Cryptosporidium* sp. através de biópsia retal, mostraram-se positivos com o uso da técnica de Ziehl-Neelsen modificada; além disso, os outros seis pacientes positivos pela técnica de biópsia retal também o foram pela de Ziehl-Neelsen modificada. Biópsia de material intestinal pode fornecer um diagnóstico, entretanto, se este local da biópsia não estiver infectado o diagnóstico será errado, estando o paciente infectado pelo parasita.

Ensaios de imunofluorescência direta sobre amostras preservadas têm sido experimentalmente usados (STERLING & ARROWOOD, 1986), mas não em larga escala para diagnóstico clínico.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Suínos**

##### **3.1.1. Local e manejo da criação de suínos**

O trabalho foi realizado em uma suinocultura, localizada no Município de Itaguaí, no Estado do Rio de Janeiro, com sistema de criação semi-intensivo, onde porcas gestantes, porcas solteiras e cachaços eram mantidos em piquetes. De dois a três dias antes da data prevista para a parição, havia a desinfecção das porcas. Após este procedimento, as porcas eram levadas para a maternidade, local com piso concretado e solário. Na maternidade, as porcas permaneciam com os leitões até o desmame. Após o desmame, este ocorrendo aos 42 dias do nascimento da leitegada, os leitões eram encaminhados para outra instalação, onde se iniciava a fase de recria.

Depois da fase de recria, os animais passavam à fase de terminação. Nesta fase as fêmeas eram novamente colocadas

em piquetes, onde eram cobertas. Os machos eram enviados para o abate, assim como algumas fêmeas descartadas. Alguns desses machos eram selecionados para reposição de reprodutores.

Todas as categorias da criação, recebiam ração balanceada e água à vontade. Esta ração era feita na propriedade, a qual, quando não dispunha de algum nutriente de alto valor biológico, substituía-o por outro(s) de menor valor.

### **3.1.2. Histórico da criação de suínos**

Os animais da criação pertenciam às raças Landrace e Large White e seus cruzamentos. A média de leitões por porca, estava em torno de dez.

O desmame dos leitões ocorria aos 42 dias de idade. Ao se proceder o desmame dos leitões, estes passavam por um processo de "stress", caracterizado por mudança de instalações, separação da mãe e mudança de alimentação.

Todos animais pós-desmamados, entrando na fase de recria, apresentavam diarréia, sendo esta aquosa, de cor amarelada e de odor desagradável. Esta diarréia permanecia por vários dias, sendo que em algumas leitegadas ocorriam mortes, e os que resistiam a esta diarréia, tinham baixa conversão alimentar.

No depósito de ração desta criação de suínos, era comum a presença de ratos (*Rattus rattus*), inclusive tendo-se crias neste local. Segundo informações do tratador da criação, estes ratos se mantinham à noite nas instalações, comen-

do ração dos animais no comedouro.

### 3.1.3. Procedimento laboratorial

Foram colhidas amostras fecais de todas as categorias animais da criação e transportadas para o laboratório da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde se procederam os exames.

#### a) Exame parasitológico de fezes:

Foram utilizadas as seguintes técnicas de diagnóstico:

- Método de GORDON & WHITLOCK, 1939.
- Método de Centrífugo-Flutuação modificado.
- Método de RITCHIE, 1948.

#### b) Técnicas de coloração para esfregaço de fezes:

- Técnica de Safranina - Azul de metileno (S-AM), (BAXBY et al., 1984).
- Técnica de Ziehl-Neelsen modificada (Z-N/M) (HENRIKSEN & POHLENZ, 1981).
- Coloração de Giemsa.

c) Material para inoculação:

Também foram utilizadas fezes frescas, que após serem pesadas em gase oito dobras, foi adicionado às mesmas solução de dicromato de potássio à 2,5%, na proporção de 1:3, e colocadas em estufa microbiológica (BOD)<sup>1</sup> a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e umidade relativa de 70-80%, para posterior exame e utilização na infecção experimental de camundongos de laboratório, para se proceder ao isolamento do parasita.

d) Exame histológico

Foram realizadas necrópsias em três suínos com diarreia, escolhidos aleatoriamente, e com 50 dias de idade. Destes foram recolhidas partes do intestino, fixadas em formol a 10%, embebidas em parafina, seccionadas com 5  $\mu\text{m}$  de espessura e coradas com hematoxilina e eosina, Giemsa, toluidina e tricromo de Masson. As secções incluíam as seguintes partes: duodeno, jejuno, íleo, ceco, cólon e reto.

### **3.2. Camundongos**

#### **3.2.1. Local e manejo de criação**

Foram utilizados camundongos fêmeas e machos, manti-

<sup>1</sup>FANEM, São Paulo.

dos em laboratório na Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, em caixas plásticas, com ração<sup>1</sup> e água à vontade; suas ninhadas após serem acompanhadas com exame de fezes do nascimento até o desmame (21 dias de idade), para verificar se estavam livres da infecção por *Cryptosporidium* sp., foram utilizadas para as infecções experimentais.

### **3.2.2. Animais utilizados na infecção**

Foram utilizados quatro grupos, cada um com 12 camundongos de 21 dias de idade, dos quais, quatro animais aleatoriamente escolhidos serviam como controle (Figura 1). Os animais ficaram acondicionados em caixas plásticas com água e ração à vontade.

### **3.2.3. Inoculação**

Para o inóculo, foi utilizado 0,125 ml com aproximadamente 2.000 oocistos de *Cryptosporidium* sp., oriundos das fezes de suínos, previamente acondicionadas por dois dias em estufa BOD a 27°C com dicromato de potássio a 2,5%; este conteúdo foi lavado em solução salina<sup>2</sup> e centrifugado para a concentração de oocistos e dados aos camundongos oralmente por meio de uma sonda de polietileno n° 20.

<sup>1</sup> Purina, São Paulo.

<sup>2</sup> Solução de cloreto de sódio a 0,9%, Darrow Laboratórios.

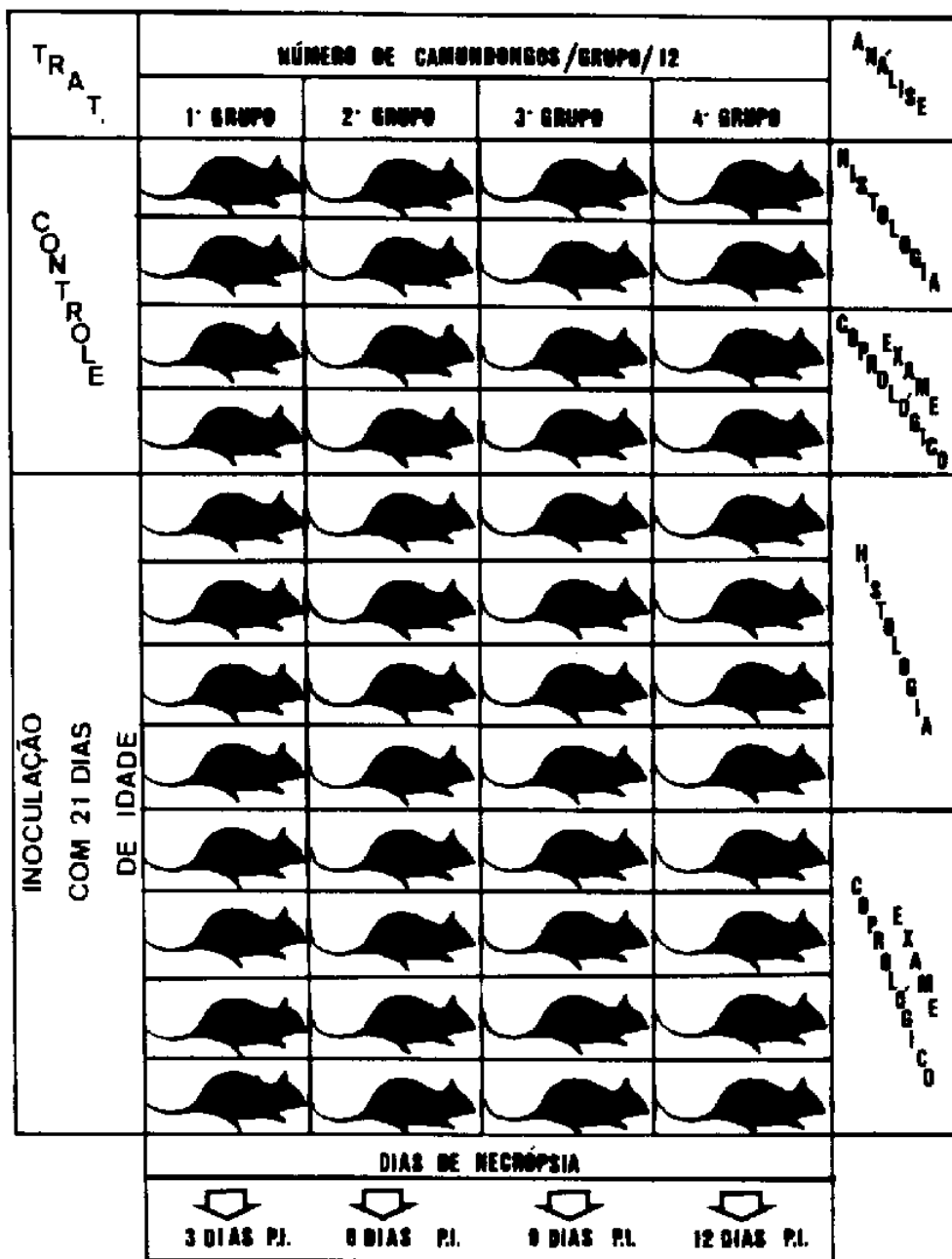


FIGURA 1. Fluxograma da infecção experimental em camundongos por *Cryptosporidium* sp., provenientes de suínos.

Decorridos três dias após a infecção (DPI), foram necropsiados os camundongos do primeiro grupo, e as necrópsias prosseguiram a cada três dias, até o último grupo.

#### **3.2.4. Exame dos camundongos**

A cada necrópsia, que se procedeu aos 3 DPI, 6 DPI, 9 DPI e 12 DPI, dos 12 camundongos necropsiados por grupo, 4 pertenciam ao controle, sendo que 2 destes eram realizados exames histológicos e nos outros dois, exames do conteúdo intestinal; dos oito restantes, em quatro procediam-se exames histológicos e nos outros quatro, exames do conteúdo intestinal (Figura 1). Para o exame parasitológico das fezes e para o exame histológico, seguiram-se os mesmos critérios e os mesmos procedimentos descritos para suínos.

#### **3.3. Ratos**

Foram capturados seis ratos (*R. rattus*), com o auxílio de armadilha, no depósito de ração da suinocultura. Estes foram levados a laboratório onde recolheu-se fezes para exame após dois dias da captura. Para o exame de fezes foram utilizados os mesmos critérios descritos para suínos e camundongos.



### 3.4. Mensuração e fotomicrografia

Para as mensurações dos oocistos foi utilizado microscópio Leitz Mod. H.M. Luz<sup>1</sup>, com ocular micrométrica SK. 15 Wild<sup>2</sup>.

O material estudado, foi fotografado com o auxílio de um microscópio Dialux 20 EB<sup>1</sup>, acoplado com câmara fotográfica MPS 51, utilizando-se filme Kodacolor URG Kodak, 35 mm, 100 ASA, 21 DIN. O tempo de exposição foi medido com fotômetro automático Wild MPS 55<sup>2</sup>.

### 3.5. Análise estatística

Os dados morfométricos foram analisados estatisticamente pela análise de variância, teste "F", teste Tukey com auxílio de calculadora DISMAC<sup>3</sup> e Regressão Linear com auxílio do computador MACINTSH SE<sup>4</sup> utilizando-se o programa STATWORKS. Na análise estatística, foi utilizado o novo DMS (Tabela 1).

1 Leitz Wetzlar, República Federal Alemã.

2 Wild Heerbrugg, Suíça.

3 Dismac, Manaus, A.M.

4 E.U.A.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Diagnóstico de oocistos de *Cryptosporidium* em fezes de suínos

Dos animais com ou sem diarréia da suinocultura examinada, amostras de fezes foram analisadas para a procura de oocistos de *Cryptosporidium* conforme a fase de criação.

#### 4.1.1. Oocistos corados pela safranina-Azul de Metileno (S-AM)

Oocistos de conformação esférica a sub-esférica e coloração vermelho-rubi, foram observados isoladamente ou em grupo (Figura 2). Estes oocistos tinham como diâmetro equatorial  $5,10 \pm 0,29$ , por  $4,78 \pm 0,35$   $\mu\text{m}$  de diâmetro polar, com índice morfométrico de  $0,94 \pm 0,05$ . Nesta coloração algumas formas, semelhantes a oocistos tornaram-se rosa-pálido, porém estas formas foram menores que os oocistos. Leveduriformes e bactérias,

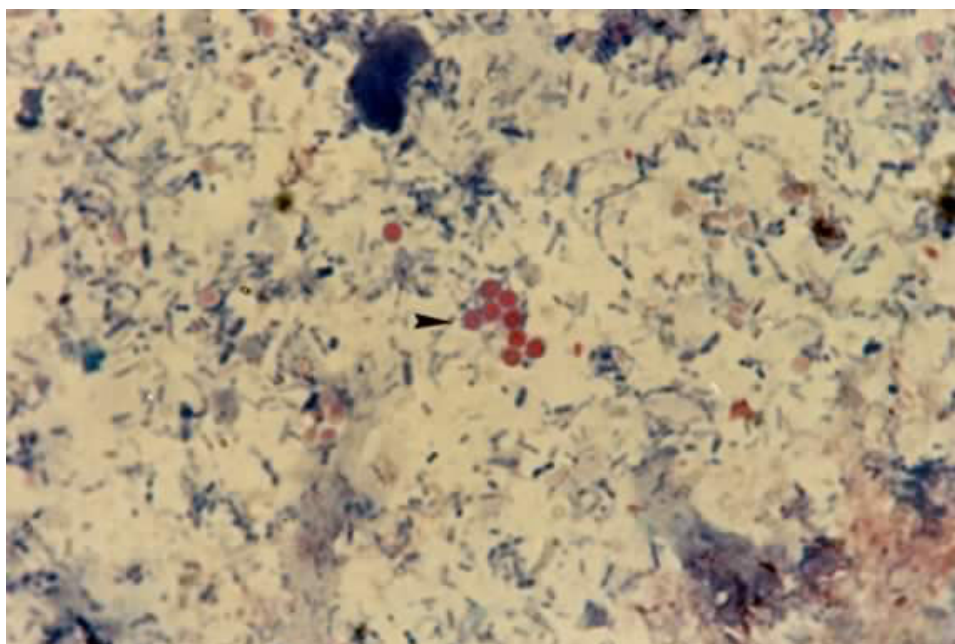


FIGURA 2. *Cryptosporidium* sp. - oocistos ( ➤ ) nas fezes de suínos, Safranina - Azul de Metileno. 1000 X.

coraram-se em azul, diferenciando-os facilmente do parasita. Medidas semelhantes foram observadas por BAXBY et al. (1984), onde o parasita mediu 5  $\mu\text{m}$  de diâmetro.

#### **4.1.2. Oocistos corados pelo Giemsa**

Nesta coloração, os oocistos foram de conformação esférica a sub-esférica e coraram-se de azul pálido, com pouca diferenciação do substrato composto por leveduriformes, bactérias e restos celulares (Figura 3). Porém, foi possível observar estruturas internas, havendo concordância com os resultados de ANGUS et al. (1981).

Os oocistos tiveram diâmetro equatorial de  $4,86 \pm 0,26$   $\mu\text{m}$  e diâmetro polar de  $4,71 \pm 0,24$   $\mu\text{m}$ , com índice morfométrico de  $0,97 \pm 0,05$ .

#### **4.1.3. Oocistos corados pelo Ziehl-Neelsen modificado (Z-N/M)**

Oocistos nesta coloração aparecem como estruturas esféricas ou ligeiramente sub-esféricas, de cor vermelho-pálido, porém, claramente distinguíveis contra um fundo verde (Figura 4). Estes oocistos tiveram diâmetro equatorial de  $3,20 \pm 0,01$   $\mu\text{m}$  e diâmetro polar de  $3,10 \pm 0,10$   $\mu\text{m}$ , com índice morfométrico de  $0,97 \pm 0,03$ . Considerações compatíveis com os resultados observados foram previamente assinalados por HENRIKSEN & POHLENZ (1981) ao encontrar o parasita, que tinha aproximada-



FIGURA 3. *Cryptosporidium* sp. - oocistos ( ➤ ) nas fezes de suínos, Giemsa. 1000 X.

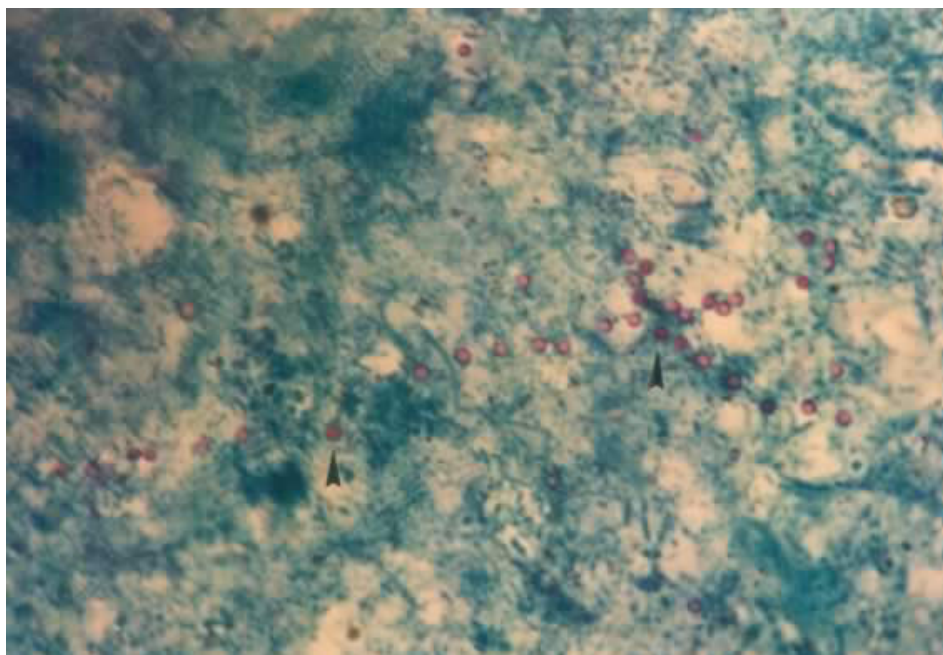


FIGURA 4. *Cryptosporidium* sp. - oocistos (  ) nas fezes de suínos, Ziehl-Neelsen/modificado. 1000 X.

mente 3-6  $\mu\text{m}$  de diâmetro.

#### 4.1.4. Oocistos avaliados por contraste de fase em centrífugo-flutuação (CF-CF)

Por esta técnica os oocistos caracterizam-se como estruturas esféricas a sub-esféricas, brilhantes contra um fundo escuro, evidenciando uma ou mais manchas escuras no interior do oocisto (Figura 5), o que os separa dos leveduriformes, pois estes apresentaram um só núcleo como estrutura interna. O parasita, quando observado em contraste de fase, tinha como valores de diâmetro equatorial  $6,39 \pm 0,56$  e de diâmetro polar  $6,22 \pm 0,56$ , com índice morfométrico de  $0,97 \pm 0,01$ .

Descrição semelhante, quando ao observado no interior do oocisto foi relatada por RESSE et al. (1982) e WILSON & ACRES (1982).

#### 4.2. Aspectos morfométricos dos oocistos de *Cryptosporidium* parasitos de suínos

Oocistos de *Cryptosporidium* de mamíferos têm sido caracterizados por seu pleormofismo. Desta maneira tem sido possível observar duas espécies, assinaladas como *C. muris* e *C. parvum*, pois baseando-se em técnicas tintoriais ou por centrífugo-flutuação em contraste de fase, foi possível avaliar modificações quanto aos diâmetros polar e equatorial.

Ao se comparar as medidas dos diâmetros polar e equa-

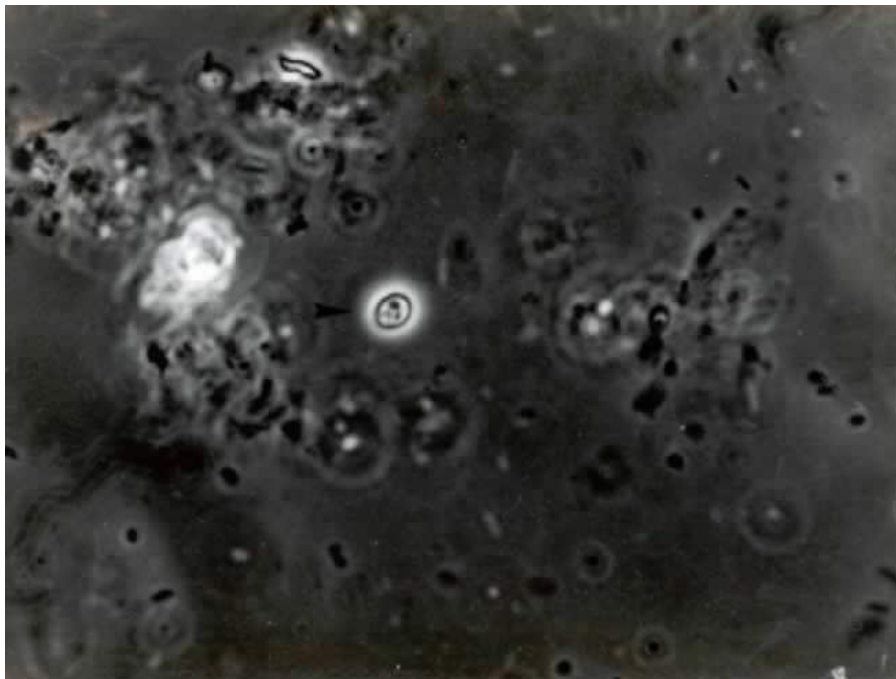


FIGURA 5. *Cryptosporidium* sp. - oocistos ( ▶ ) nas fezes de suínos, centrífugo flutuação modificada em contraste de fase. 1200 X.



torial de oocistos de *Cryptosporidium*, procedentes de um plantel de suínos, utilizando-se as técnicas de coloração de S-AM, Giemsa, ZN-M e CF-CF, observou-se que havia diferenças significativas entre elas (Tabela I).

UPTON & CURRENT (1985) reafirmaram existir duas espécies do gênero *Cryptosporidium* para mamíferos o que diferiu de LEVINE (1984), e como se observou no parágrafo anterior modificações podem estar relacionadas às técnicas utilizadas no diagnóstico dos oocistos (Tabela 1) .

A comparação das quatro retas de regressão (Figuras 6, 7, 8, 9) ilustrou as modificações que ocorreram nos oocistos provenientes de suínos, nas diferentes técnicas de diagnóstico. Comparação sem este tipo de avaliação foi feita por JOYNER (1982) entre espécies do gênero *Eimeria*, entre espécies do gênero *Sarcocystis* parasitas de ruminantes, que tinham o cão como hospedeiro definitivo (FIGUEIREDO, 1989), ou mesmo ao se comparar modificações intra-específicas de oocistos de *Hammondia heydorni* (TADROS & LAARMAN, 1976, DUBEY, 1977), eliminados nas fezes de cães e do cachorro do mato (PEREIRA, 1987).

Das técnicas utilizadas, as que mais modificaram a estrutura dos oocistos foram ZN-M, Safranina-AM e Giemsa, enquanto que a CF-CF, foi a que menos modificou. Desta maneira, com esta, as medidas se aproximam das medidas propostas por TYZZER (1910) e UPTON & CURRENT (1985) para *Cryptosporidium muris*.

TABELA 1.

Avaliação de quatro técnicas utilizadas na identificação de oocistos do gênero *Cryptosporidium* provenientes de suínos<sup>a</sup>

Técnicas	Medidas <sup>b</sup>	
	Diâmetro polar (µm)	Diâmetro equatorial (µm)
Ziehl-Neelsen Modificada	3,10 ± 0,10 a	3,20 ± 0,01 a
Safranina - Azul de Metileno	4,78 ± 0,35 b	5,10 ± 0,29 b
Coloração pelo Giemsa	4,71 ± 0,24 bc	4,86 ± 0,26 c
Centrífugo-flutuação/Contraste de fase	6,22 ± 0,56 d	6,39 ± 0,56 d

<sup>a</sup> Os dados são referentes a medidas de 100 oocistos para cada técnica e os valores expressos em  $\bar{X}$  e  $S(\bar{X})$ .

<sup>b</sup> Letras iguais não diferem significativamente à nível de 5% pelo teste de D. M.S.

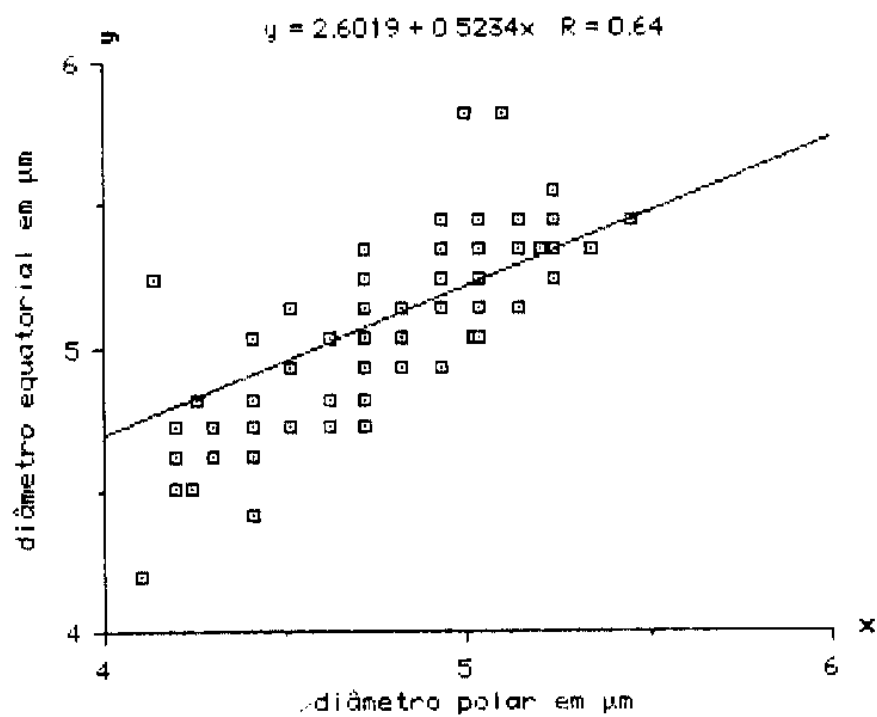


FIGURA 6. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, corados com Safranina-AM, provenientes de suínos.

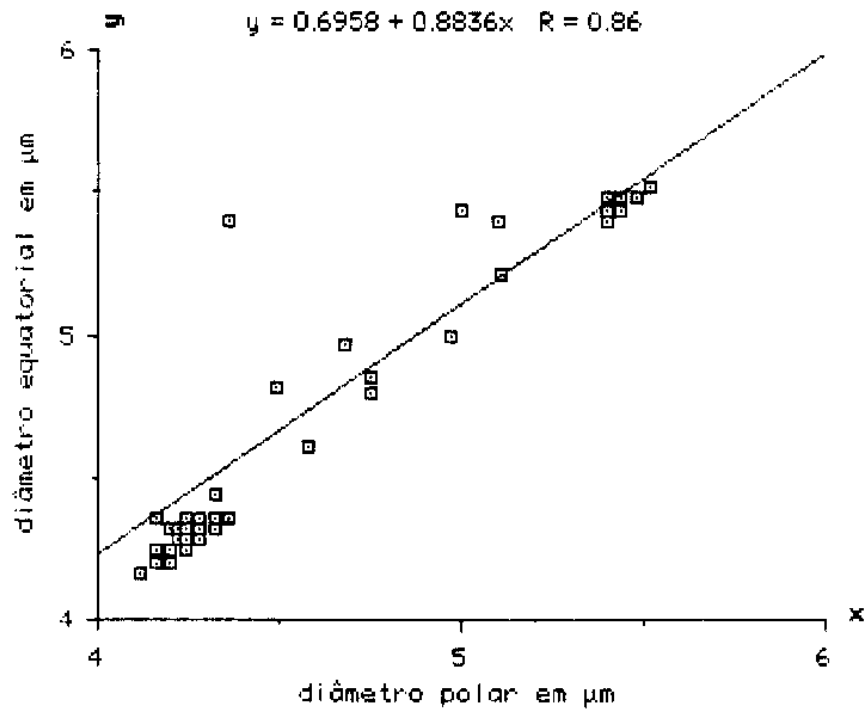


FIGURA 7. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, corados com Giemsa, provenientes de suínos.

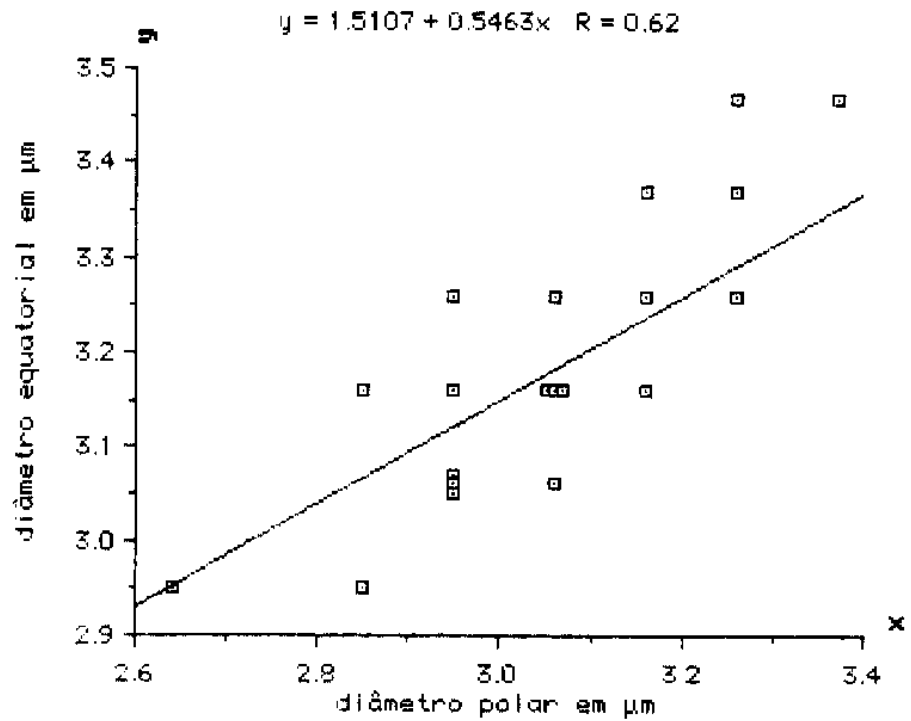


FIGURA 8. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, corados com Ziehl-Neelsen/modificado, provenientes de suínos.

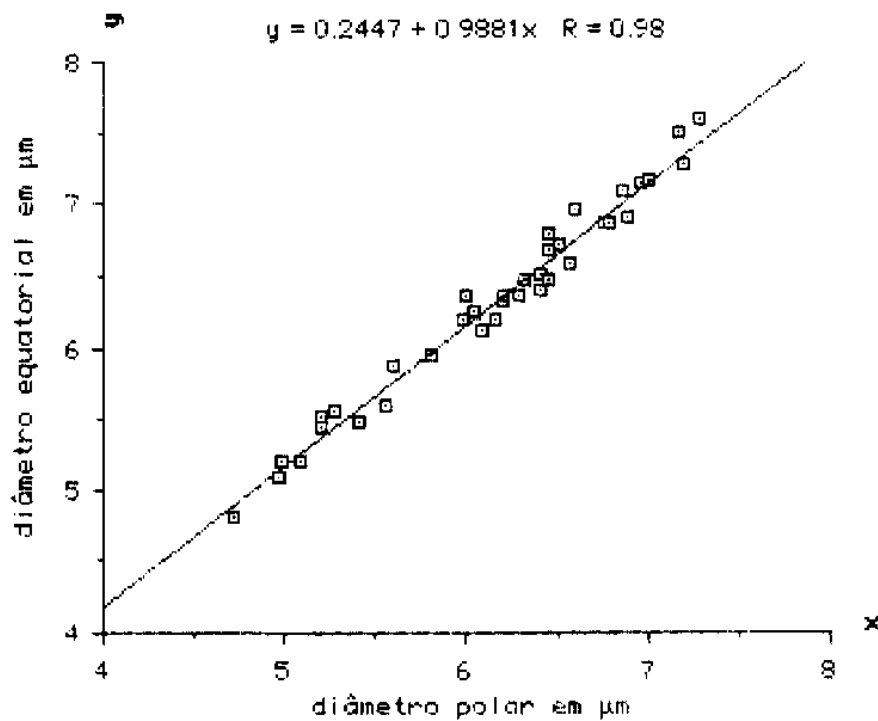


FIGURA 9. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, em contraste de fase, provenientes de suínos.

#### **4.3. Diagnóstico histológico de *Cryptosporidium* sp. em suínos**

Quanto aos cortes histológicos de secções intestinais de suínos com 50 dias de idade, fase de recria, apresentaram-se negativos para o diagnóstico de *Cryptosporidium*. Isto se deve a obstáculos para o diagnóstico, tais como área seccionada não invadida pelo parasita e limitada amostragem (POHLENS et al., 1978b), já que este parasita não causa lesões macroscópicas, dificultando a escolha das áreas a serem submetidas a cortes histológicos. GARCIA et al. (1983), concluíram que seis de oito pacientes foram diagnosticados para a infecção por *Cryptosporidium*, por biópsia intestinal, sendo que 8 dos 8 pacientes foram positivos usando-se a técnica de Ziehl-Neelsen/modificada. Os mesmos autores destacaram portanto que exame de fezes assumiu a função de uma amostra de todo o trato intestinal.

#### **4.4. Infecção experimental em camundongos com oocistos de *Cryptosporidium* isolados de suínos**

Camundongos livre da infecção por *Cryptosporidium* foram infectados com aproximadamente  $2 \times 10^2$  oocistos provenientes de suínos. Decorridos três dias após inoculação (PI) (Figura 10), foi necropsiado o 1º grupo de camundongos onde nenhum fora positivo para oocistos de *Cryptosporidium* em exame feito do conteúdo intestinal quando se utilizaram as técnicas de coloração no presente trabalho. Por outro lado, nenhuma for-

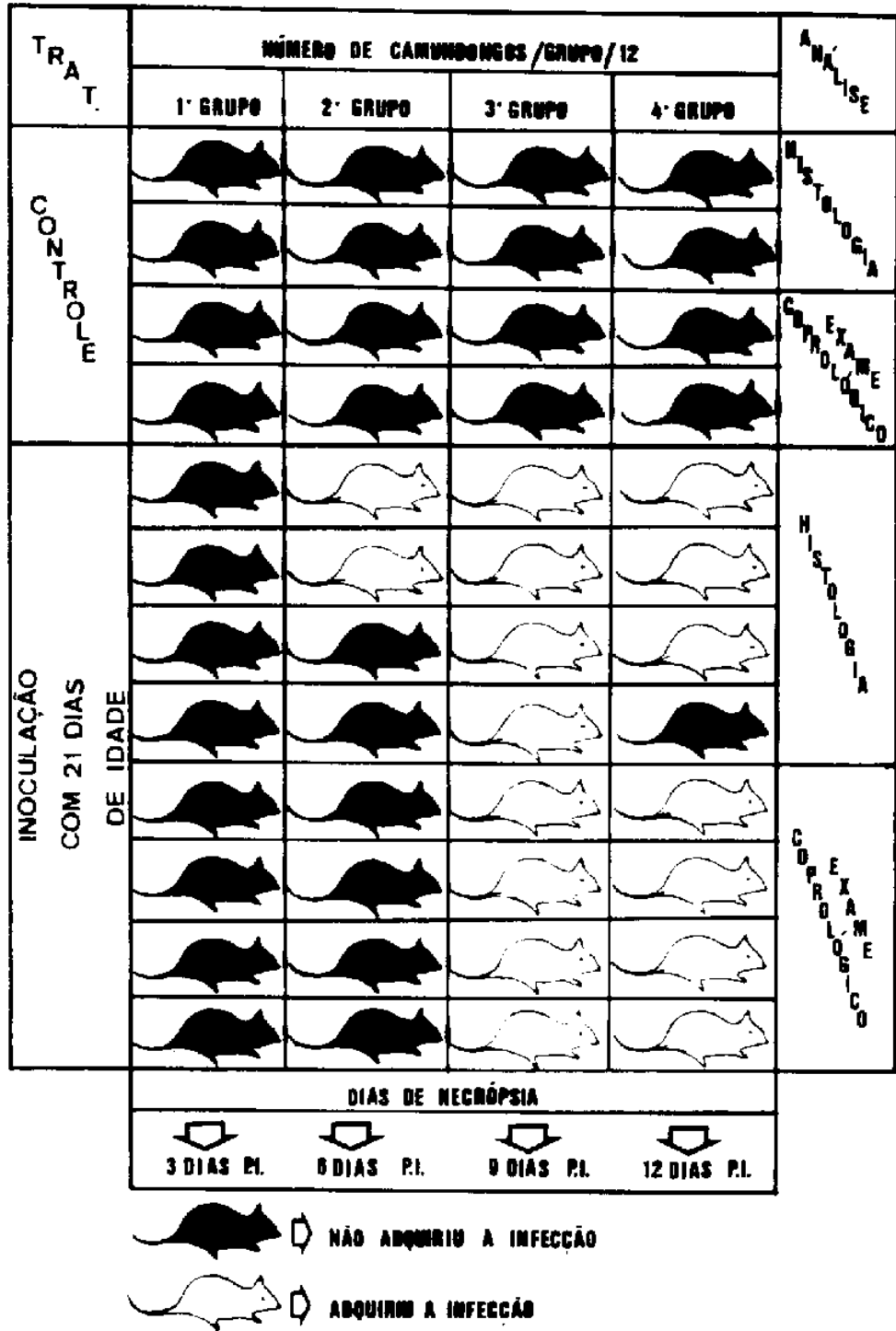


FIGURA 10. Fluxograma do resultado da infecção experimental em camundongos por *Cryptosporidium* sp., provenientes de suínos.



ma endógena do parasita foi observada na superfície das vilosidades intestinais.

No segundo grupo, necropsiado aos seis dias PI, dois dos camundongos apresentam formas endógenas do parasita na superfície das vilosidades do intestino, restringindo-se ao íleo, sendo observadas em Hematoxilina e Eosina (H.E.) (Figura 11), Giemsa (Figura 12 e 13), Toluidina (Figura 14) e Trichrômico de Mansson (Figura 15). Nenhum oocisto foi encontrado no conteúdo intestinal destes camundongos.

Decorridos nove dias PI, todos os camundongos inoculados e necropsiados foram positivos para *Cryptosporidium*. Os oocistos foram identificados nas fezes, pelas técnicas utilizadas neste trabalho e as formas endógenas foram observadas no duodeno e jejuno.

Nos camundongos inoculados e necropsiados aos 12 dias PI, apenas um camundongo não se observou formas endógenas do parasita, porém quando examinado seu conteúdo intestinal, constatou-se a presença de oocistos *Cryptosporidium*. Os estágios endógenos foram visualizados nas microvilosidades do jejuno.

Nenhum estágio endógeno ou mesmo oocistos no conteúdo intestinal, foram observados nos 16 animais controle.

Assim, dos 32 camundongos inoculados oralmente com oocistos provenientes de suínos, 53,12% adquiriram a infecção, entretanto, nenhum dos camundongos teve diarreia.

Os oocistos de *Cryptosporidium* observados nas fezes dos camundongos inoculados experimentalmente, tiveram como va-



FIGURA 11. *Cryptosporidium* sp. ( → ) - Corte histológico de intestino de camundongos infectados com oocistos provenientes de suínos. H.E., 1000 X.

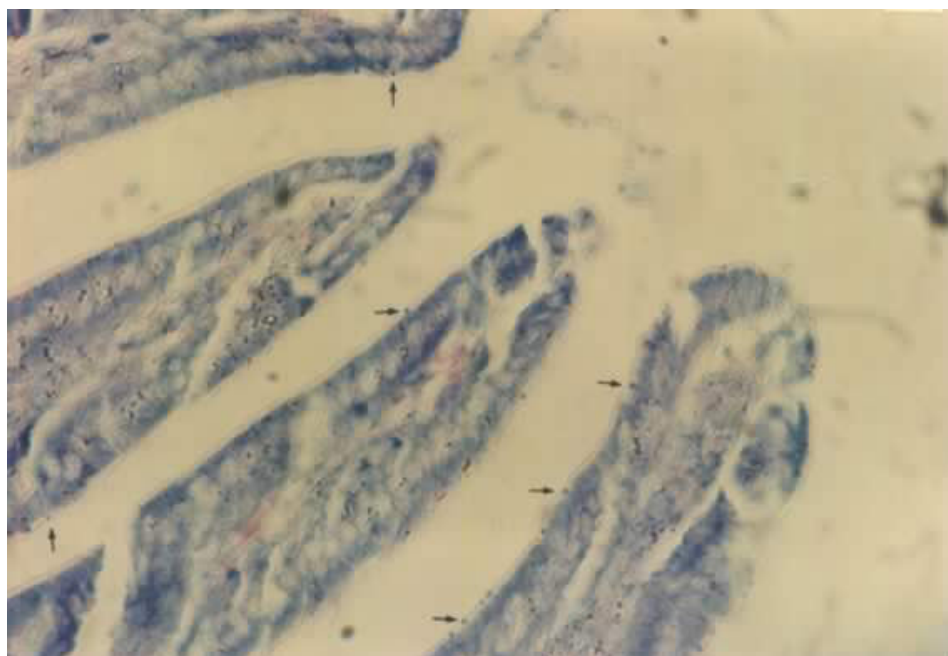


FIGURA 12. *Cryptosporidium* sp. ( → ) - Corte histológico de intestino de camundongos infectados com oocistos provenientes de suínos. Giemsa, 400 X.

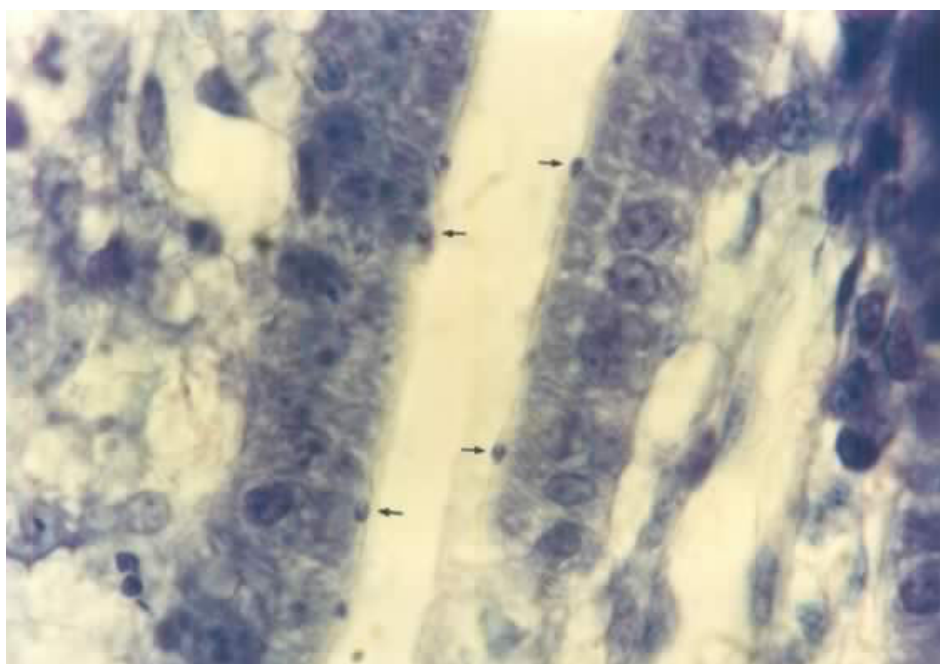


FIGURA 13. *Cryptosporidium* sp. ( → ) - Corte histológico de intestino de camundongos infectados com oocistos provenientes de suínos. Giemsa, 1000 X.

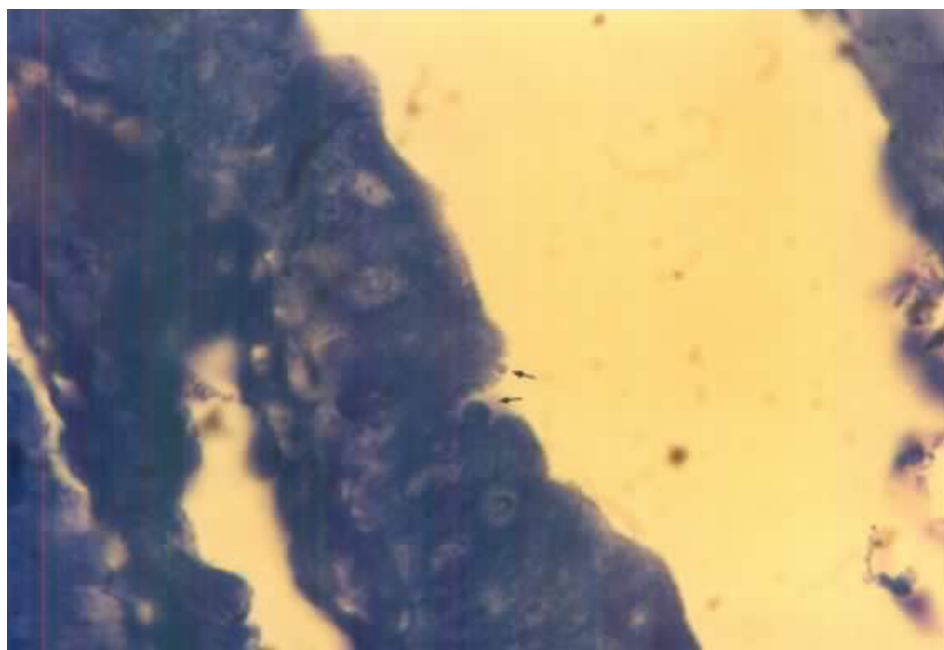


FIGURA 14. *Cryptosporidium* sp. ( → ) - Corte histológico de intestino de camundongos infectados com oocistos provenientes de suínos.. Toluidina, 1000 X.

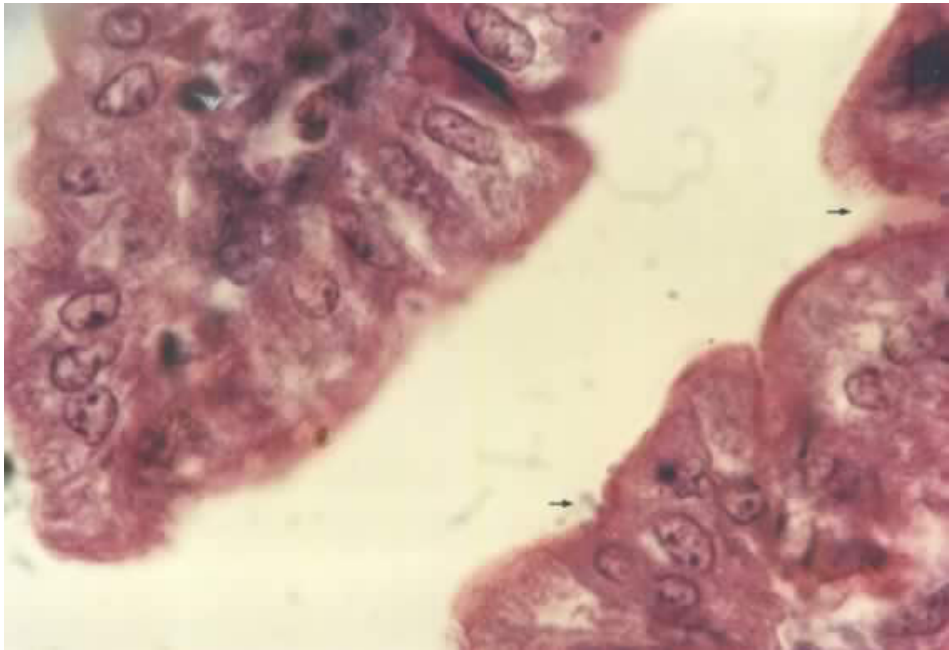


FIGURA 15. *Cryptosporidium* sp. ( → ) - Corte histológico de intestino de camundongos infectados com oocistos provenientes de suínos. T. masson, 1000 X.

lores de diâmetro equatorial  $5,97 \pm 0,89 \mu\text{m}$  e de diâmetro polar  $5,84 \pm 0,87 \mu\text{m}$ , quando observados e medidos ao contraste de fase, com índice morfométrico de  $0,98 \pm 0,02$ .

A análise gráfica da forma do oocisto se encontra na Figura 16.

Poucas formas endógenas do parasito foram observadas nas vilosidades dos animais que adquiriram a infecção. Isto pode ser explicado por SHERWOOD et al. (1982), que afirmaram que camundongos com 21 dias de idade, apresentaram pouca susceptibilidade à infecção por *Cryptosporidium*.

Comparando-se as quatro diferentes colorações histológicas, ou seja, H.E., Giemsa, Toluidina e T. masson, as formas endógenas foram identificadas e o parasita teve penetração adequada do corante, afirmativa esta assinalada por KIRKPATRICK & FARRAL (1984). No tecido corado com H.E., o parasita não apresentou grande contraste ao ser observado, muitas vezes dificultando sua visualização quando observado em menor aumento. Já o tecido corado pelo Giemsa, apresentou o parasita bem visível e de fácil identificação nas microvilosidades. As colorações por Toluidina e Trichrômico de Masson também apresentavam boa identificação do parasita.

#### **4.5. Identificação de oocistos de *Cryptosporidium* em *Rattus rattus***

Seis *Rattus rattus* que foram capturados no depósito de ração da criação de suínos, onde a sua presença era constante.

Estes permaneceram por 2 dias em gaiola, recebendo água e ração *ad libitum*. Após dois dias foram necropsiados e o conteúdo intestinal recolhido para exame. Nas fezes coradas com ZN-M, S-AM, Giemsa e CF-CF, constatou-se a presença de oocistos de *Cryptosporidium*. Os oocistos encontrados nas fezes destes roedores tinham o diâmetro equatorial de  $6,02 \pm 0,93 \mu\text{m}$  e de diâmetro polar  $5,77 \pm 0,96 \mu\text{m}$ , com índice morfométrico  $0,95 \pm 0,02$ .

#### **4.6. Aspectos comparativos dos oocistos de *Cryptosporidium* procedentes de suínos, camundongos e ratos**

A morfologia dos oocistos não diferiu da observada para os oocistos eliminados nas fezes de suínos, ratos e dos camundongos inoculados experimentalmente. Da mesma maneira, variaram de esféricos a sub-esféricos. Mesmo quando se considerou cada uma das quatro técnicas de coloração do protozoário, ficou demonstrado que houve diferença no tamanho dos oocistos na relação dos diâmetros polar e equatorial (Tabela 2).

Comparando-se o presente trabalho com outros (Tabela 3), nota-se que as médias observadas foram semelhantes as de *Cryptosporidium muris*, sendo que a observação de um certo grau de pleomorfismo intra-específico foi assinalada anteriormente por JOYNER (1982) em espécies do gênero *Eimeria* em aves, e por PEREIRA (1986) em *H. heydorni* quando comparou os oocistos provenientes do cão e do cachorro do mato.

Quando se comparou as retas de regressão dos oocistos



TABELA 2.

Aspecto comparativo dos oocistos  
do gênero *Cryptosporidium* provenientes de diferentes  
hospedeiros<sup>a</sup>, utilizando-se o método de contraste de fase

Hospedeiros	Medidas <sup>b</sup>	
	Diâmetro polar ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro equatorial ( $\mu\text{m}$ )
Suínos	6,22 $\pm$ 0,56 a	6,39 $\pm$ 0,56 a
Camundongos*	5,84 $\pm$ 0,87 b	5,97 $\pm$ 0,89 b
Ratos**	5,77 $\pm$ 0,96 b	6,02 $\pm$ 0,93 b

<sup>a</sup> Os dados são referentes a medidas de 100 oocistos para cada hospedeiro e os valores expressos em  $\bar{X}$  e  $S(\bar{X})$ .

<sup>b</sup> Letras iguais não diferem significativamente à nível de 5% pelo teste de D.M.S.

\* *Mus musculus*.

\*\* *Rattus rattus*.

TABELA 3.

Espécies do gênero *Cryptosporidium* parasita de mamíferos

Hospedeiro	Espécie	Valores ( $\mu\text{m}$ )		Autores
		Diâmetro equatorial	Diâmetro polar	
Camundongos	<i>C. muris</i>	7,0	5,0 - 6,0	TYZZER, 1910
Camundongos	<i>C. parvum</i>	4,0 - 4,5	3,0 - 3,3	TYZZER, 1912
Gatos	<i>Cryptosporidium</i> sp.	5,0	4,5	ISEKI, 1979
Humanos	<i>Cryptosporidium</i> sp.	5,0	4,0	CURREN <i>et al.</i> , 1983
Bovinos	<i>C. muris</i>	7,4 (6,6 - 7,9)	5,6 (5,3 - 6,5)	UPTON & CURRENT, 1985
Bovinos	<i>C. parvum</i>	5,0 (4,5 - 5,4)	4,5 (4,2 - 5,0)	UPTON & CURRENT, 1985
Ratos*	<i>C. muris</i>	8,4 (7,5 - 9,8)	6,3 (5,5 - 7,0)	ISEKI, 1986
Ratos*	<i>C. parvum</i>	5,3 (5,0 - 6,0)	4,8 (4,0 - 5,5)	ISEKI, 1986
Suínos	<i>C. muris</i>	6,39 $\pm$ 0,56	6,22 $\pm$ 0,56	Presente trabalho
Camundongos	<i>C. muris</i>	5,97 $\pm$ 0,89	5,84 $\pm$ 0,87	Presente trabalho
Ratos**	<i>C. muris</i>	6,02 $\pm$ 0,93	5,77 $\pm$ 0,96	Presente trabalho

\* *Rattus norvegicus*.\*\* *Rattus rattus*.

provenientes dos suínos, camundongos e ratos (Figuras 9, 16 e 17), medidas com auxílio do contraste de fase, verificou-se que havia pontos em comum, sugerindo tratar-se da mesma espécie, porém, em hospedeiros diferentes. As retas de regressão demonstraram a regularidade da distribuição espacial dos pontos de confronto entre os diâmetros polar e equatorial, para os oocistos de *Cryptosporidium* obtidos de amostras da suinocultura analisada.

#### **4.7. Aspectos gerais sobre o manejo da criação de suínos**

O resultado das análises de fezes de suínos por categoria, está representado na Tabela 4. Os animais desta criação, na fase de recria, apresentaram-se positivos para *Cryptosporidium* (Tabela 5), quando se utilizavam-se as técnicas de Z-N/M, Giemsa, Safranina-AM e centrífugo flutuação em contraste de fase. Estes animais apresentavam-se com diarréia aquosa e fética. Da mesma maneira, LINKS (1982), TZIPORI *et al.* (1982), TZIPORI *et al.* (1981), MOON & BEMRICK (1981), SANFORD (1987), BELCHEV *et al.* (1984), CABRERA (1985), AYENI *et al.* (1985) e TOCAL (1987), também encontraram oocistos do gênero *Cryptosporidium* em fezes de suínos, sem contudo definirem a que espécie o parasita pertencia.

Os animais positivos para o gênero *Cryptosporidium* encontravam-se na fase de recria. Antes de irem para esta fase, estes animais passavam por mudança de instalação, separação da mãe e mudança de alimentação, dando oportunidade para que o pa-

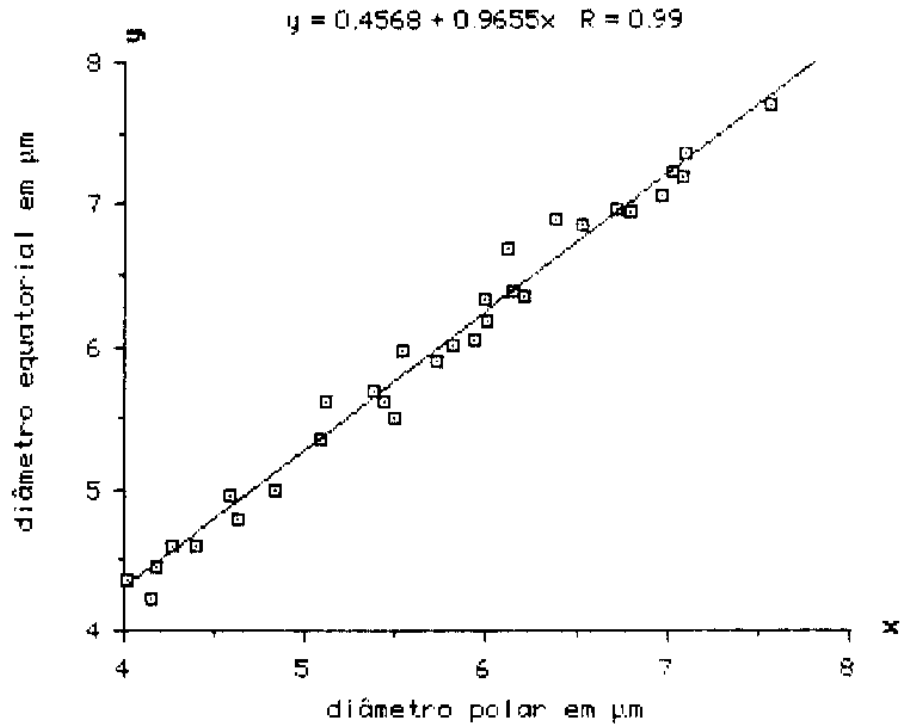


FIGURA 16. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, em contraste de fase, provenientes da infecção experimental de camundongos com oocistos de suínos.

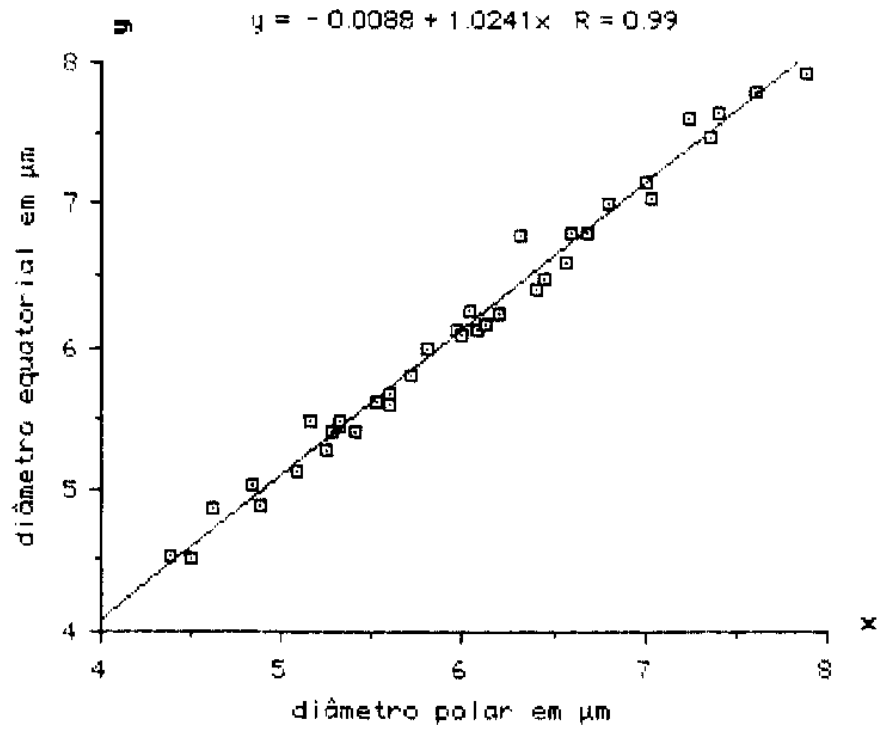


FIGURA 17. Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, em contraste de fase, provenientes de *Rattus rattus*.

TABELA 4.

Parasitismo observado nas diversas categorias de uma criação de suínos

Categorias de animais	Parasitas				Total (%)
	<i>Strongyloides</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Ascaris suum</i>	<i>Trichuris suis</i>	
	<i>ransonii</i> OPG	spp. OPG	OPG	OPG	
Porcas em descanso	300	-	-	-	3,45
Porcas em gestação	-	500	-	-	5,75
Porcas em aleitamento	1500	1000	-	-	28,73
Animais em amamentação	1000	-	-	-	11,49
Recria	800	500	-	-	14,94
Terminação	-	600	-	-	6,90
Reprodutores	-	1500	700	300	28,73

TABELA 5.

Técnicas utilizadas  
para o diagnóstico do gênero  
*Cryptosporidium* nas diversas categorias da criação de suínos<sup>a</sup>

Categoria de animais	Técnicas			
	Z/N(modificado)	Giemsa	Safranina	Cont. fase
Porcas em descanso	-	-	-	-
Porcas em gestação	-	-	-	-
Porcas em aleitamento	-	-	-	-
Animais em amamentação	-	-	-	-
Recria	+	+	+	+
Terminação	-	-	-	-
Reprodutores	-	-	-	-

+ = Presença.

- = Ausência.

<sup>a</sup> Foram utilizados 10% do total de animais por categoria.

parasita se manifestasse nos animais. Semelhante observação foi colocada por SANFORD (1987), que relacionou imunossupressão causada por "stress", criando oportunidade à proliferação deste parasita.

Mudanças na prática de manejo desta criação, tais como uma pré-adaptação à ração de recria dada aos animais antes do processo de desmame, a ida dos leitões à nova instalação para a fase de recria, com a mãe e permanecendo esta com os leitões por uma semana, trouxeram uma melhora com relação à diarreia dos animais e não houve casos de morte de leitões, como ocorriam antes deste procedimento sendo raros os casos com *Cryptosporidium*.

Nesta propriedade foi observado estreita relação entre os suínos, independentes das fases da criação, e os ratos (*R. rattus*) que se alimentavam nas pocilgas e no depósito de ração deste local, facilitando com isso a disseminação desta protozoose na criação (Figura 18).



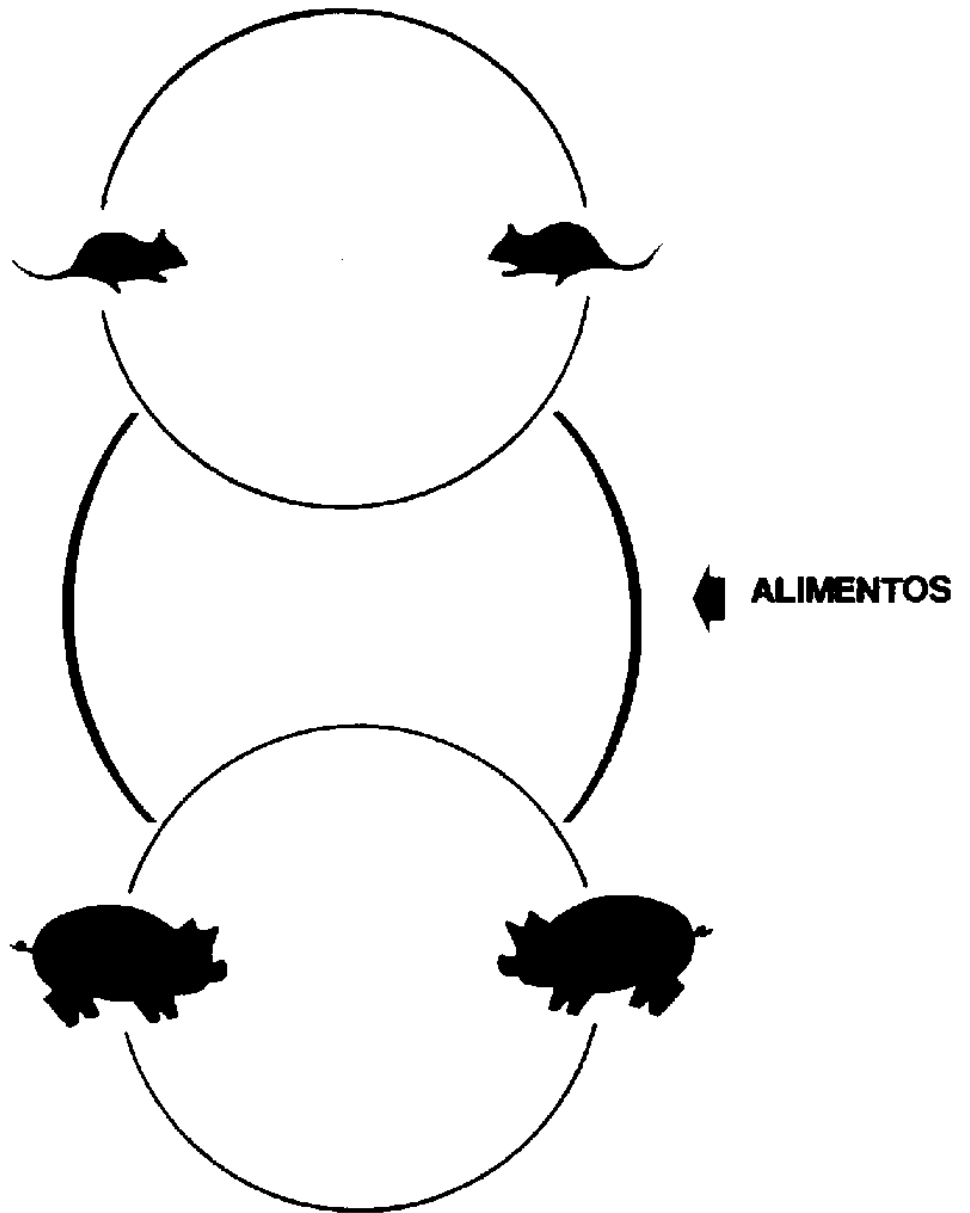


FIGURA 18. Fluxograma da possível disseminação da criptosporidiose na suinocultura estudada.

## 5. CONCLUSÕES

1. O protozoário encontrado nas fezes dos suínos e ratos em condições naturais e experimental em camundongos, é *Cryptosporidium muris*.

2. Os fatos de os oocistos de *C. muris* da mesma amostra de fezes de suínos terem dimensões médias significativamente diferentes quando corados por Safranina-AM, Giemsa, Ziehl-Neelsen/modificado e os que foram diagnosticados por contraste de fase, demonstrou o quanto cada uma das técnicas é capaz de interferir no tamanho destas formas.

3. A inoculação experimental de oocistos de *C. muris* procedentes de suínos em camundongos, é capaz de determinar a infecção, com seis dias de período pré-patente.

4. As medidas dos oocistos procedentes de suínos e ratos da mesma suinocultura e as obtidas da inoculação experimental de camundongos, são semelhantes às observadas para *C. muris*

em contraste de fase.

5. Observou-se na propriedade estreita relação entre suínos e ratos, estes se alimentando nas pocilgas e no depósito de ração, com isto facilitando a disseminação desta protozoose na criação.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, B.C. Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. J. Am. Vet. Med. Assoc., 178:982-984, 1981.
- ANDERSON, B.C. Cryptosporidiosis in Idaho lambs: natural and experimental infections. J. Am. Vet. Med. Assoc., 181:151-153, 1982.
- ANDERSON, B.C. Cryptosporidiosis. Lab. Med., 14:55-56, 1983.
- ANDERSON, B.C.; DONNDELINGER, T.; WILKINS, R.M. & SMITH, J. Cryptosporidiosis in a Veterinary student. J. Am. Vet. Med. Assoc., 180:408-409, 1982.
- ANGUS, K.W. Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds: a review. J. R. Soc. Med., 76:62-70, 1983.

- ANGUS, K.W.; APPLEYARD, W.T.; MENZIES, J.D.; CAMPBELL, I. & SHERWOOD, D. An outbreak of diarrhea associated with cryptosporidiosis in naturally reared lambs. *Vet. Rec.*, 110: 129-30, 1982.
- ANGUS, K.W.; CAMPBELL, I.; GRAY, E.W. & SHERWOOD, D. Staining of faecal yeasts and *Cryptosporidium* oocysts. *Vet. Rec.*, 108:173, 1981.
- ANMAN, L.R. & YAKEUCHI, A. Spontaneous cryptosporidiosis in an adult female rabbit. *Vet. Pathol.*, 19:67-78, 1979.
- AUGUSTIN-BICHI, G.; BOCH, J. & HENKEL, G. *Cryptosporidium* infections in dogs and cats. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 97:179-181, 1984.
- AYENI, A.O. ; OLUBUNHI, P.A. & ABE, J.O. The occurrence and effect of *Cryptosporidium* species on livestock in Ile-Ife, Nigeria. *Trop. Vet.*, 3:96-100, 1985.
- BARKER, I.K. & CARBONELL, P.L. *Cryptosporidium aqni* sp. n. from lambs and *Cryptosporidium bovis* sp. n. from a calf with observations on the oocyst. *Z. Parasitenk.*, 44:289-298, 1974.

- BAXBY, D.; BUUNDELL, N. & HART, C.A. The development and performance of a simple sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. J. Hyg., 93:317-323, 1984.
- BAXBY, D.; HART, C.A. & TAYLOR, C. Human cryptosporidiosis: a possible case of hospital cross infection. Br. Med. J., 287:1760-1761, 1983.
- BELCHEV, L.; ARNAUDOV, D.; IGNATOV, G. & BOYADZHIEV, S. Infection in neonate pigs with diarrhea. Biologiya, 22:177-182, 1984.
- BELCHEV, L.; ARNAUDOV, D.; IGNATOV, G. & BOYADZHIEV, S. Mixed infection with *E. coli*, rotavirus and *Cryptosporidium* in newborn piglets. Veterinarnomeditsinsk Nanki, 24:3-8, 1987.
- BERG, I.E.; PETERSON, A.C. & FREEMAN, T.P. Ovine cryptosporidiosis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 173:1586-1587, 1978.
- BERGELAND, M.E. Necrotic enteritis in nursing piglets. Am. Assoc. Vet. Lab. Diag., 20:151-158, 1977.
- BIRD, R.G. & SMITH, M.D. Cryptosporidiosis in man: parasite life cycle and fine structural pathology. J. Pathol., 132:217-233, 1980.

BOCH, J.; GOBEL, E.; HEINE, J.; BRÄNDLER, J. & SCHLOEMER, L.  
Kryptosporidien - Infektion bei Haustieren. Berl. Münch.  
Tierärztl. Wschr., 95:361-367, 1982.

BRANDLER, U. Inaugural - Dissertation zur Erlangung der Tier-  
medizinischen Doktorwunde der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians -Universität München, München, pp. 34-  
39, 1982.

BROWNSTEIN, D.G.; STRNADBERG, J.D.; MONTALI, R.J.; BUSH, M. &  
FORTNER, J. *Cryptosporidium* in snakes with hypertrophic  
gastritis. Vet. Pathol., 14:606-617, 1977.

CABRERA, J.F. & GARCIA, M.G. Intestinal cryptosporidiosis of  
diarrheic piglets in our environment. Rev. Cub. Cien.  
Vet., 16:259-264, 1985.

CAMPBELL, I.; TZIPORI, S.; HUTCHISON, G. & ANGUS, K.W. Effect  
of desintectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts.  
Vet. Rec., 111:414-415, 1982.

CARSON, B.L. & NIELSEN, S.W. Cryptosporidiosis in raccon. J.  
Am. Vet. Med. Assoc., 181:1405-1406, 1982.

- CASEMORE, D.P.; ARMSTRONG, M. & SANDS, R.L. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J. Clin. Pathol.*, 38:1337-1341, 1985.
- CLARKE, J.J. A study of coccidia met with in mice. *Q.J. Microx. Sci.*, 37:277-302, 1895.
- CURRENT, W.L. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis, p. 355-375. In: GOTTLEIB, M.S. & GROOPMAN, J.D. Acquired immune deficiency syndrome. *Alan. R. Liss.*, 545, 1984.
- CURRENT, W.L. Cryptosporidiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 187: 1334-1338, 1985.
- CURRENT, W.L. & HAYNES, T.B. Complete development of *Cryptosporidium* in cell cultures. *Science*, 224:603-605, 1984.
- CURRENT, W.L.; REESE, N.C.; ERNST, J.V.; BAILEY, W.S.; HEYMAN, M.B. & WEINSTEIN, W.M. Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons. Studies of an outbreak and experimental transmission. *New Engl. J. Med.*, 308: 1252-1257, 1983.
- CURRENT, W.L.; UPTON, S.J. & HAYNES, T.B. The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) in infecting chickens. *J. Protozool.*, 33:289-296, 1986.



- DAN, S.; CRISTESCU, P. & NAEGOE, V. Identification of *Cryptosporidium* in Romania. Rev. Crest. Anim., 33:42-44, 1983.
- DILLON, A.S.; THACKER, H.L.; DIETZEL, A.V. & WINTERFIELD, R.W. Respiratory cryptosporidiosis in broiler chickens. Avian Dis., 25:747-751, 1981.
- DOSTER, A.R.; MAHAFFEY, E.A. & McCLEAREN, J.R. *Cryptosporidium* in the cloacal coprodeum of red-lored parrots (*Amazona autumnalis*). Avian Dis., 23:654-661, 1985.
- DUCATELLE, R.; MAENHOUT, D.; CHARLIER, G.; MIRY, C.; COUSSEMENT, W. & HOORENS, J. Cryptosporidiosis in goats and in Mouflon sheep. Vlaams Diergeneesk. Tijdschr., 52:7-17, 1983.
- ERNEST, J.A.; BLAGBURN, B.L.; LINDSAY, D.S. & CURRENT, W.L. Infection dynamics of *C. parvum* (Apicomplexa: Cryptosporiidae) in neonatal mice (*Mus musculus*). J. Parasitol., 72:796-798, 1986.
- FAYER, R. & LEEK, R.G. The effects of reducing conditions, medium, pH, temperature, and time on in vitro excystation of *Cryptosporidium*. J. Protozool., 31:567-569, 1984.
- FAYER, R. & UNGAR, B.L.P. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. Microbiol. Reviews, 50:458-483, 1986.

FIGUEIREDO, P.C. de. Espécies do gênero *Sarcocystis* Lankester, 1882 (Apicomplexa: *Sarcocystidae*) parasitos de ruminantes domésticos que têm o cão como hospedeiro definitivo: Morfologia, Biologia e Diagnóstico. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, RJ. 124 p. 1989.

FLETCHER, O.J.; MUNNELL, J.F. & PAGE, R.K. Cryptosporidiosis of the bursa de Fabricius of chickens. *Avian Dis.*, 19:630-639, 1985.

FUKUSHIMA, K. & HELMAN, R.G. Cryptosporidiosis in a pup with distemper. *Vet. Pathol.*, 21:247-248, 1984.

GAJADHAR, A.A.; CARON, J.P. & ALLEN, J.R. Cryptosporidiosis in two foals. *Can. Vet. J.*, 26:132-134, 1985.

GARCIA, L.S.; BRUCKNER, D.A.; BREWER, T.C. & SHIMIZU, R.Y. Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 18:185-190, 1983.

GARDINER, C.H. & IMES, G.D. *Cryptosporidium* sp. in the kidney of a black-throated finch. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 185:1401-1402, 1984.

- GARZA, D.; HOPFER, P.L.; EICHELBERGER, C.; EISENBACH, S. & FAINSTEIN, V. Faecal staining methods for screening *Cryptosporidium* oocysts. J. Med. Technol., 1:560-563, 1984.
- GIALLETTI, L.; GRELLONI, V.; ROSSANIGO, E.C. & FIORONI, A. Cryptosporidiosis in some herds in central Italy. Atti. Soc. Ital. Sc. Vet., 39:751-753, 1986.
- GIBSON, J.A.; GILL, M.W.M. & HUBER, M.J. Cryptosporidiosis in Arabian foals with severe combined immunodeficiency. Aust. Vet. J., 60:378-379, 1983.
- GLISSON, J.R.; BROWN, T.P.; BRUGH, M.; PAGE, R.K.; KLOVEN, S.H. & DAVIS, R.B. Sinusitis in turkeys associated with respiratory *Cryptosporidiosis*. Avian Dis., 28:783-790, 1984.
- GÖEBEL, E. & BRÄENDER, U. Ultrastructure of microgametogenesis, microgametes and gametogamy of *Cryptosporidium* sp. in the small intestine of mice. Protistologica, 18: 331-344, 1982.
- GOMEZ, E.; ALONSO, M.; BLANDINO, T.; FRIAS, M.T. & MERINO, N. *Cryptosporidium* spp. en terneros de una recría de la provincia Habana. Rev. Salud. Anim., 4:65-67, 1982.

GORDON, H.M. & WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. J. Council. Scient. Indust. Res. Aust., 12:50-52, 1939.

HAMPTON, J.C. & ROSARIO, B. The attachment of Protozoan parasites to intestinal epithelial cells of the mouse. J. Parasitol., 52:939-949, 1966.

HEINE, J. Eine einfache nachweismethode für Kryptosporidien im kat. Zbl. Vet. Med. B., 29:324-327, 1982.

HEINE, J.; MOON, H.W.; WOODMANSEE, D.B. & POHLENZ, J.F.L. Experimental tracheal and conjunctival infections with *Cryptosporidium* in pigs. Vet. Parasitol., 17:17-25, 1984.

HENRICKSEN, S.A. & KROGH, H.V. A note on bovine infections with cryptosporidia in Denmark. Nord. Ver. Med., 32:501, 1980.

HENRICKSEN, S.A. & POHLENZ, J.F.L. Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. Acta Vet. Scand., 22:594-596, 1981.

HIEPE, T.; JUNGSMANN, R.; HATH, H. & SHUSTER, R. Untersuchungen über Verkommen-Nachweis und Krankheitsbild der Kryptosporidian-infection neugeborener schaf-flammer. Monatsh. Veterinärmed., 40:524-527, 1985.

- HOER, F.J.; CURRENT, W.L. & HAYNES, T.B. Fatal cryptosporidiosis in quail. *Avian Dis.*, 30:421-425, 1986.
- HOERR, F.J.; RANCK, F.M. & HASTINGS. Respiratory Cryptosporidiosis in turkey. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 173:1591-1593, 1978.
- HOOVER, D.M.; HOERR, F.J.; CARLTON, W.W.; HINSMAN, E.J. & FERGUSON, M.W. Enteric cryptosporidiosis in an naso tang, *Naso lituratus* block and sheteder. *J. Fisch. Dis.*, 4:425-528, 1981.
- ISEKI, M. *Cryptosporidium felis* sp. n. (Protozoa: Eimeriorina) from the domestic cat. *Japan J. Parasitol.*, 28:285-307, 1979.
- ISEKI, M. Two species of *Cryptosporidium* naturally infecting house rats, *Rattus norvegicus*. *Japan. J. Parasitol.*, 35:521-526, 1986.
- ITAKURA, C.; GORYO, M. & UEMURA, T. Cryptosporidial infection in chickens. *Avian Pathol.*, 13:487-499, 1984.
- ITAKURA, C.; NAKAMURA, H.; UEMURA, T. & GORYO, M. Ultrastructure of cryptosporidial life cycle in chicken host cells. *Avian Pathol.*, 14:237-249, 1985.
- JERRETT, I.V. & SNODGRASS, D.R. Cryptosporidia associated with outbreaks of neonatal calf diarrhea. *Aust. Vet. J.*, 57:434-435, 1981.

- JERVIS, H.R.; MERRIL, T.G. & SPRINZ, H. Coccidiosis in the guinea pig small intestine due to a *Cryptosporidium*. Am. J. Vet. Res., 27:408-414, 1966.
- JOKIPPI, A.; HEMILA, M. & JOKIPPI, L. Prospective study of acquisition of *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia*, and gastrointestinal illness. Lancet II:487-489, 1985.
- JOYNER, L.P. Coccidiosis in pigs. Bristol Veterinary Annual, 22 ed. Bristol, England, John Wright and Sons, 140-144, 1982. In: LOMAX, L.G.; LINDSAY, D.S. & LYNN, B.B. Coccidiosis caused by *Eimeria scabra* in a finishing hog. J. Am. Vet. Med. Assoc., 186:981-983, 1985.
- JOYNER, L.P. Host and site specificity. In: LONG, P.L. The Biology of coccidia. Univ. Park Press. Baltimore. 35-63p. 1982.
- JUNGMANN, R. & HIEPE, T. Occurrence and diagnosis of cryptosporidiosis in newborn calves. Monatsh. Veterinaermed., 38: 299-300, 1983.
- KENNEDY, G.A.; KREITNER, G.L. & STRAFUS, A.C. Cryptosporidiosis in three pigs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 170:348-350, 1977.

- KIRKPATRICK, C.E. & FARREL, J.P. Cryptosporidiosis. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 6:5154-5164, 1984.
- KLESZIUS, P.H.; HAYNES, T.B. & MALU, L.K. Infectivity of *Cryptosporidium* sp. isolated from wild mice for calves and mice. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 189:192-193, 1986.
- KOCH, K.L.; SHANKEY, T.V.; WEINSTEIN, G.S.; DYE, R.E.; ABT, A. B.; CURRENT, W.J. & EYSTER, M.E. Cryptosporidiosis in a patient with hemophilia, common variable hypogammaglobulinemia and acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Intern. Med.*, 99:337-340, 1983.
- KOUDELA, B.; VITOVEC, J.; DAT, D.T. & LAN, P.D. Preliminary communication on cryptosporidiosis of pigs in Viet-Nam. *Folia Parasitol.*, 33:301-304, 1986.
- KOVATCH, R.M. & WHITE, J.D. Cryptosporidiosis in two juvenile rhesus monkeys. *Vet. Pathol.*, 9:426-440, 1972.
- LASSER, K.H.; LEWIN, K.J. & RYNING, F.W. Cryptosporidial enteritis in a patient with congenital hypogammaglobulinemia. *Hum. Pathol.*, 10:234-240, 1979.

- LEFKOWITCH, J.H.; KRUMHOLZ, S.; FENG-CHEN, K.C.; GRIFFIN, P.;  
DESPOMMIER, D. & BRASITUS, T.A. Cryptosporidiosis of the  
human small intestine a light and electron microscopic study.  
Hum. Pathol., 15:746-752, 1984.
- LEVINE, N.D. Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa)  
nomenclature. J. Parasitol., 66:830-834, 1980.
- LEVINE, N.D. Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium*  
(Protozoa, Apicomplexa). J. Protozool., 31:94-98, 1984.
- LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; SUNDERMANN, C.A.; HOERR, F.J.  
& ERNEST, J.A. Experimental *Cryptosporidium* infections in  
chickens: oocyst structure and tissue specificity. J. Am. Vet. Res.,  
47:876-879, 1986.
- LINKS, I.J. Cryptosporidial infections of piglets. Aust. Vet. J.,  
58:60-62, 1982.
- MA, P. & SOAVE, R. Three-step stool examination for cryptosporidiosis  
in ten homosexual men with protracted watery diarrhea. J. Infect. Dis.,  
147:824-828, 1983.



- MARCIAL, M.A. & MADARA, J.L. *Cryptosporidium*: cellular localization, structural analysis of absorptive cell-parasite membrane - membrane interactions in guinea pigs, and suggestion of protozoan transport by M cells. *Gastroenterology*, 90: 583-594, 1986.
- MASON, R.W. & HARTLEY, W.J. Respiratory cryptosporidiosis in a peacock chick. *Avian Dis.*, 24:771-776, 1980.
- MASON, R.W.; HARTLEY, W.G. & TILF, L. Intestinal cryptosporidiosis in kid goat. *Aust. Vet. J.*, 57:386-388, 1981.
- MATHAN, M.M.; VENKATESAN, S.; GEORGE, R.; MATHEW, M. & MATHAN, V.J. *Cryptosporidium* and diarrhea in Southern Indian children. *Lancet* II:1172-1175, 1985.
- McNABB, S.J.N.; HENSEL, D.M.; WELCH, D.F.; HAIJBEL, H.; McKEE, G.L. & INSTRE, G.R. Comparison of sedimentation and flotation techniques for identification of *Cryptosporidium* sp. oocysts in a large outbreak of human diarrhea. *J. Clin. Microbiol.*, 22:587-589, 1985.
- MEISEL, J.L.; PERERA, D.R.; MELIGRO, C. & RUBIN, C.E. Overwhelming watery diarrhea associated with *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology*, 70:1156-1160, 1976.

- MILÁČEK, P. & VITOVEC, J. Differential staining of cryptosporidia by aniline-carbolmethyl violet and tartazine in smears from feces and scrapings of intestinal mucosa. *Folia Parasitol.*, 32:50, 1985.
- MOON, H.W. & BEMRICK, W.J. Fecal transmission of calf cryptosporidia between calves and pigs. *Vet. Pathol.*, 18:248-255, 1981.
- MOON, H.W.; WOOD, G.N. & AHRENS, F.A. Attempted chemoprophylaxis of cryptosporidiosis in calves. *Vet. Rec.*, 110:181, 1982.
- MORIN, M.; LARIVIERE, S. & LALLIER, R. Pahtological and microbiological observations made on spontaneous cases of acute neonatal calf diarrhea. *Can. J. Comp. Med.*, 40:228-240, 1976.
- MORTEO, G.; ESTRELA, G. & ALUJA, A.S. Cryptosporidiosis in unweaned calves: histopathology and electron microscopy. *Vet. Mex.*, 14:12-22, 1983.
- MYERS, L.L.; FIREHAMMER, B.D.; BORDER, M.M. & SHOOP, D.S. Prevalence of enteric pathogens in the feces of healtly beef calves. *Am. J. Vet. Res.*, 45:1544-1548, 1984.
- NAGY, B.; ANTAL, A. & RATZ, F. Ocurrence of bovine cryptosporidiosis in Hungary. *Magy. Allatorv. Lapja.*, 34:585-588, 1979.

- NAGY, B. & POHLENZ, J. Die Cryptosporidiose: Diagnose and Therapie. Tierärztl. Praxis, 10:163-172, 1982.
- NIME, F.A.; BUREK, J.D.; PAGE, D.L.; HOLSCHER, M.A. & YARDLEY, J.H. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*, 70:592-598, 1976.
- NOBEL, T.A.; KUTTIN, E.; YAKOBSON, B. & PER, L. First diagnosis of bovine cryptosporidiosis in Israel. *Refu. Vet.*, 39:10-15, 1982.
- PANCIERA, R.J.; THOMASSEN, R.W. & GARNER, F.M. Cryptosporidial infection in a calf. *Vet. Pathol.*, 8:479-484, 1971.
- PAVLÁSEK, I. Dynamics of the release of oocysts of *Cryptosporidium* sp. in spontaneously infected calves. *Folia Parasitol.*, 29:295-296, 1982.
- PAVLÁSEK, I. *Cryptosporidium* sp. in *Cyprinus carpio* Linne, 1758 em Czechoslovakia. *Folia Parasitol.*, 30:248, 1983.
- PAVLÁSEK, I. First record of developmental stages of *Cryptosporidium* sp. in various organs of experimentally infected mice of spontaneously infected calves. *Folia Parasitol.*, 31:191-192, 1984.

- PAVLÁSEK, I. First occurrence of natural cryptosporidiosis in the domestic cat in Czechoslovakia. *Veterinarstvi*, 35: 125-126, 1985.
- PAYNE, P.; LANCASTER, L.A.; HEINZMAN, M. & McCUTCHAN, J.A. Identification of *Cryptosporidium* in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *N. Engl. J. Med.*, 309:613-614, 1984.
- PEARSON, G.R. & LOGAN, E.F. Demonstration of Cryptosporidia in the small intestine of a calf by light, transmission electron and scanning electron microscopy. *Vet. Rec.*, 103: 212-213, 1978.
- PEETERS, J.E.; Van OPDENBOSCH, E. & GLORIEUX, B. Demonstration of Cryptosporidia in calf faeces: a comparative study. *Vlaams Diergeneesk. Tydschr.*, 51:513-523, 1982.
- PEREIRA, M.J.S. Aspectos Biomorfológicos de *Hammondia heydorni* (Tadros & Laarmann, 1976) Dubey, 1977 (Apicomplexa: sarcocystidae). Tese de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, RJ. 83 p. 1987.
- POHJOLA, S. Survey of cryptosporidiosis in faeces of normal healthy dogs. *Nordisk. Vet. Med.*, 36:189-190, 1984.

- POHJOLA, S. & LINDBERG, L.A. Experimental cryptosporidiosis in mice, calves and chicken. Acta Vet. Scand., 27:80-90, 1986.
- POHLENZ, J.; BEMRICK, W.J.; MOON, H.W. & CHEVILLE, N.F. Bovine cryptosporidiosis: a transmission and scanning electron microscope study of some stages in the life cycle and of the host parasite relationship. Vet. Pathol., 15:417-427, 1978.
- POHLENZ, J.; MOON, H.W.; CHEVILLE, N.F. & BEMRICK, W.J. Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. J. Am. Vet. Med. Assoc., 172:452-457, 1978.
- PROCTOR, S.J. & KEMP, R.L. *Cryptosporidium anserinum* sp. n. (Sporozoa) in domestic goose Anser L. from Yowa. J. Protozool., 21:664-666, 1974.
- RAHAMAN, A.S.M.H.; SANYAL, S.C.; AL-MAHMUD, K.A.; SOBHAN, A.; HOSSAIN, K.S. & ANDERSON, B.C. Cryptosporidiosis in calves and their handlers in Bangladesh. Lancet II:221, 1984.
- RANDALL, C.J. Cryptosporidiosis of the bursa de Fabricius and trachea in broilers. Avian Pathol., 11:15-10, 1982.
- REESSE, N.C.; CURRENT, W.L.; ERNEST, J.V. & BAILEY, W.S. Cryptosporidiosis of man and calf: a case report and results of experimental infections in mice and rats. Am. J. Trop. Med. Hyg., 31:226-229, 1982.

- RITCHIE, L.S. An ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bull. U. S. Army. Med. Dep.*, 8:326, 1948.
- SANFORD, S.E. Enteric Cryptosporidial infection in pigs: 184 cases (1981-1985). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 190:695-689, 1987.
- SANFORD, S.E. & JOSEPHSON, G.K.A. Bovine cryptosporidiosis. Clinical and Pathological findings in forty-two scouring neonatal calves. *Can. Vet. J.*, 23:343-347, 1982.
- SHERWOOD, D.; ANGUS, K.W.; SNODGRASS, D.R. & TZIPORI, S. Experimental cryptosporidiosis in laboratory mice. *Infect. Immun.*, 38:471-475, 1982.
- SISK, D.B.; GOSSER, H.S. & STYER, E.L. Intestinal cryptosporidiosis in two pups. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 184: 835-836, 1984.
- SLAVIN, D. *Cryptosporidium meleagridis*. *J. Comp. Pathol.*, 65: 262-266, 1955.
- SLOPER, K.S.; DOURMASHKIN, R.R.; BIRD, R.B.; SLAVIN, G. & WEBSTER, A.D. Chronic malabsorption due to cryptosporidiosis in a child with immunoglobulin deficiency. *Gut.*, 23:80-82, 1982.
- SNODGRASS, D.R.; ANGUS, K.W. & GRAY, E.W. Experimental cryptosporidiosis in germ-free lambs. *J. Comp. Pathol.*, 94:141-152, 1984.

- SNODGRASS, D.R., ANGUS, K.W.; GARY, E.W.; KEIR, W.A. & CLERHEW, L.W. Cryptosporidia associated with Rotavirus in an outbreak of calf scour. *Vet. Rec.*, 106:458-459, 1980.
- SNYDER, S.P.; ENGLAND, J.J. & MCCHESENEY, A.E. Cryptosporidiosis in immunodeficient arabian foals. *Vet. Pathol.*, 15:12-17, 1978.
- SOULE, C.; PLATEAU, E.; PERRET, C.; CHERMETTE, R. & FETON, M.M. Observation de cryptosporidies chez le poulain. *Rev. Med. Vet.*, p. 719-720, 1983.
- STEMMERMANN, G.N.; NAYASHI, R.; GLOBER, G.A.; OISHI, M. & FRENKEL, R.I. Cryptosporidiosis: report of a fatal case complicated by disseminated toxoplasma. *Am. J. Med.*, 69:637-642, 1980.
- STERLING, C.R. & ARROWOOD, M.J. Detection of *Cryptosporidium* sp. using a direct immunofluorescent assay. *Pediatr. Infect. Dis.*, 5:5139-5142, 1986.
- STUART, B.P.; BEDELL, D.M. & LINDSAY, D.S. Coccidiosis in swine: search for extraintestinal stages of *Isospora suis*. *vet. Rec.*, 110:82-83, 1982.

- SUNDBERG, J.P.; HILL, D. & RYAN, M.J. Cryptosporidiosis in a gray squirrel. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 181:1420-1422, 1982.
- TADROS, W. & LAARMAN, J.J. *Sarcocystis* and related coccidium parasites: a brief general review, together with a discussion on some biological aspects of their life cycles and a new proposal for their classification. *Acta Leidensia*, 44:1-107, 1976.
- TARWID, J.N.; CAWTHORN, R.J. & RIDDELL, C. Cryptosporidiosis in the respiratory tract of turkeys in Saskatchewan. *Avian Dis.*, 29:528-532, 1985.
- TOCAL, J.V.; SOBIEH, M. & EL-AHRAF, A. *Cryptosporidium* in market pigs in southern California, USA. *Vet. Rec.*, 120:615-616, 1987.
- TRIFFIT, M.J. Observations on two new species of coccidia parasitic in snakes. *Protozoology*, 1:19-26, 1925.
- TYZZER, E.E. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 5:12-13, 1907.
- TYZZER, E.E. An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* of the gastric glands of the common mouse. *J. Med. Res.*, 23:487-516, 1910.



- TYZZER, E.E. *Cryptosporidium parvum*, a coccidium found in the small intestine of the common mouse. Arch. Protistenk., 26: 394-412, 1912.
- TYZZER, E.E. Coccidiosis in gallinaceous birds. Am. J. Hyg., 10:269-383, 1929.
- TZIPORI, S. The etiology and diagnosis of calf diarrhea. Vet. Rec., 108:510-514, 1981.
- TZIPORI, S. Cryptosporidiosis in animals and humans. Microbiol. Rev., 47:84-96, 1983.
- TZIPORI, S.; ANGUS, K.W.; CAMPBELL, I. & CLERIHEW, L.W. Diarrhea due to *Cryptosporidium* infection in artificially reared lambs. J. Clin. Microbiol., 14:100-105, 1981.
- TZIPORI, S.; ANGUS, K.W.; CAMPBELL, I. & GRAY, E.W. *Cryptosporidium*: evidence for a single species genus. Infect. Immun., 30:884-886, 1980a.
- TZIPORI, S.; ANGUS, K.W.; CAMPBELL, I. & SHERWOOD, D. Diarrhea in young red deer associated with infection with *Cryptosporidium*. J. Infect. Dis., 144:170-175, 1981.

- TZIPORI, S.; ANGUS, K.W.; GRAY, E.W. & CAMPBELL, I. Vomiting and diarrhea associated with cryptosporidial infection. *New Engl. J. Med.*, 303:818, 1980b.
- TZIPORI, S. & CAMPBELL, I. Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animal species. *J. Clin. Microbiol.*, 14: 455-456, 1981.
- TZIPORI, S.; CAMPBELL, I.; SHERWOOD, D.; SNODGRASS, D.R. & WHITELOW. An outbreak of calf diarrhea attributed to *Cryptosporidium* infection. *Vet. Rec.*, 107:579-580, 1980.
- TZIPORI, S.; LARSEN, J.; SMITH, M. & LEUFL, R. Diarrhea in goat kids attributed to *Cryptosporidium* infection. *Vet. Rec.*, 111:35-36, 1982.
- TZIPORI, S.; MCCARTNEY, E.; LAWSON, G.H.K. & ROWLAND, A.C. Experimental infection of piglets with *Cryptosporidium*. *Res. Vet. Sci.*, 31:358-368, 1981.
- TZIPORI, S.; SMITH, M.; BIRCH, C.; BARNES, G. & BISHOP, R. Cryptosporidiosis in hospital patients with gastroenteritis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 32:931-934, 1983.

- TZIPORI, S.; SMITH, M.; HALPIN, C.; ANGUS, K.W. & SHERWOOD, D. Experimental cryptosporidiosis infection in calves: clinical manifestations and pathological findings. *Vet. Rec.*, 112:116-120, 1983.
- TZIPORI, S.; SMITH, M.; MAKEN, T. & HALPIN, C. Enterocolitis in piglets caused by *Cryptosporidium* sp. purified from calf feces. *Vet. Parasitol.*, 11:1121-1126, 1982.
- UPTON, S.J. & CURRENT, W.L. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. *J. Parasitol.*, 71:625-629, 1985.
- VanWINKLE, T.J. Cryptosporidiosis in young artiodactyls. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 187:1170-1172, 1985.
- VETTERLING, J.M.; JERVIS, H.R.; MERIL, T.G. & SPRINZ, H. *Cryptosporidium wairi* sp. n. from the guinea pig *Cavia porcellus* with an emendation of the genus. *J. Protozool.*, 18:243-247, 1971.
- ZIERDT, W.S. Concentration and identification of *Cryptosporidium* sp. by use of a parasite concentrator. *J. Clin. Microbiol.*, 20:860-861, 1984.

WEINSTEIN, L.; EDELSTEIN, S.M.; MADARA, J.L.; FALCHUK, K.R.;  
McMANUS, B.M. & TRIER, J.S. Intestinal cryptosporidiosis  
complicated by disseminated cytomegalovirus infection. Gas-  
troenterology, 81:584-591, 1981.

WHITTINGTOW, R.J. & WILSON, J.M. Cryptosporidiosis of the res-  
piratory tract in a pheasant. Aust. Vet. J., 62:284, 1985.

WILLSON, P.J. & ACRES, S.D. A comparison of dichromate solu-  
tion flotation and fecal smears for diagnosis of cryptospor-  
ridiosis in calves. Can. Vet. J., 23:240-246, 1982.

WILLSON, D.W.; DAY, P.A. & BRUMMA, M.E.G. Diarrhea associated  
with *Cryptosporidium* spp. in juvenile macaques. Vet. Pa-  
thol., 21:447-450, 1984.

## 7. APÊNDICES

## APÊNDICE 1

**DIARRÉIA EM UM FELINO ASSOCIADA A INFECÇÃO POR *Cryptosporidium muris* TYZZER, 1910 (APICOMPLEXA: CRYPTOSPORIDIIDAE)**

**Diarrhoea in a feline associated to *Cryptosporidium muris* Tyzzer, 1910 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae)**

**Carlos Wilson G. Lopes <sup>1</sup>**

**Teresa Cristina B. do Bomfim <sup>2</sup>**

RESUMO - Um caso agudo de diarréia mucóide associada ao *Cryptosporidium muris* foi observado em um gato com alterações clínicas caracterizadas por inapetência, perda de peso, pelo arripiado e sem brilho. Os organismos observados nas fezes caracterizavam-se por formas circulares e ovóides com  $6,23 \pm 0,30$  por  $5,84 \pm 0,32$   $\mu\text{m}$  de diâmetro. Quando corados pela safranina tomavam tonalidade vermelho róseo.

UNITERMOS - Felino, gato, diarréia, criptosporidiose

SUMMARY - A case of diarrhoea associated to *Cryptosporidium muris* in a cat was described. Clinical signs were characterized by anorexia, lost of weigh, rug hair coat and briteless, and

---

Trabalho realizado sob os auspícios do CNPq

1 Professor Adjunto e bolsista do CNPq, Departamento de Biologia Animal, IB, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23.851 Seropédica-ltaguai, Rio de Janeiro, Brasil.

2 Aluna de Pós-Graduação e Bolsista da CAPES do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária-Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

mucous diarrhoea. Organisms observed were characterized by having pleomorphic forms varied from rod shaped to round forms; but, when stained with safranin acquired a red-rose tonality. The diameter of the forms measured from  $6.23 \pm 0.30$  by  $5.84 \pm 0.32 \mu\text{m}$  in diameter.

UNITERMS - Feline, cat, diarrhoea, cryptosporidiosis

#### INTRODUÇÃO

Protozoários do género *Cryptosporidium* tem sido observados parasitando as microvilosidades das células do sistema digestivo ou observadas a presença de oocistos nas fezes de camundongos (TYZZER, 1910), cobaios (JERVIS et al., 1966), bovinos (SCHMITZ & SMITH, 1975), caprinos (TZIPORI et al., 1982), coelhos (REHG et al., 1979), felinos (DUBEY & PANDE, 1963; ISEKI, 1979; OGASSAWARA et al., 1986; POONACHA & PIPPIN, 1982), suínos (TZIPORI et al., 1981), eqüinos (SNYDER et al., 1978) e no homem (REESE et al., 1982; ANDERSON et al., 1982; WEIKEL et al., 1985).

Surtos de diarréia têm sido associados a este protozoário em diversas espécies de mamíferos (ANGUS, 1983), podendo ser observados em associação com outros agentes etiológicos (POHLENZ et al., 1978; CLERIHEW, 1980; STEMMERMANN et al., 1980) ou mesmo assinalados em hospedeiros imunossuprimidos (SNYDER et al., 1978).

Este trabalho tem como objetivo assinalar a presença de oocistos de *C. muris* nas fezes de um felino adulto, sem raça definida, cujos sinais clínicos foram caracterizados por inapetência, perda de peso, pelo arrepiado e sem brilho e com

diarréia do tipo mucóide. Este animal foi recolhido na rua e levado para domicílio humano onde foi cuidado e alimentado. A diarréia veio a desaparecer 3 dias após o animal ter sido recolhido na rua.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Fezes diarréicas do animal foram recolhidas em um frasco de plástico, onde adicionou-se formol a 10% 3 vezes mais ao volume das fezes.

Exame de fezes foram feitos para pesquisa de parasitos utilizando-se solução saturada de açúcar, contraste de fase em microscópio Wild M-20 e esfregaços das fezes corados em Giemsa e Safranina para pesquisa de protozoários.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

No material examinado foi observado estruturas circulares e ovóides medindo aproximadamente  $6,23 \pm 0,30$  por  $5,84 \pm 0,32$  um de diâmetro com auxílio de microscópio de contraste de fase ou quando as fezes foram coradas pela safranina. Nesta última, estes organismos coraram-se em vermelho róseo podendo ser observados isoladamente (Fig. 1) ou em grupos em pedaços de mucosa (Fig. 2). Grande também foi o número de bactérias, leveduriformes e alguns oocistos de *Cystoisospora rivolta* (Grassi, 1879) Frenkel, 1977.

Organismos como estes, já foram observados anteriormente associados ou não a processos diarréicos em diversas espécies (ANDERSON, 1982; ANGUS et al., 1982; POONACHA & PIPPIN, 1982;



ANGUS, 1983). Quanto aos aspectos morfométricos dos oocistos observados neste trabalho foram semelhantes aos descritos para *Cryptosporidium muris* por TYZZER, 1910 e UPTON & CURRENT (1985) (Tabela 1) apesar do proposto por LEVINE (1984) onde considera *C. muris* a única espécie válida encontrada em mamíferos.

#### BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, B.C. Cryptosporidiosis: A review. *J. Amer. Ver. Med. Ass.*, 180:1455-1457, 1982.
- ANDERSON, B.C.; DONNDELINGER, T.; WILKINS, R.H. & SMITH, J. Cryptosporidiosis en a Veterinary student. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 180:408-409, 1982.
- ANGUS, K.W. Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds: A review. *J. Royal Soc. Med.*, 76:62-70, 1983.
- ANGUS, K.W.; APPELYARD, W.T.; MENZIES, J.D.; CAMPBELL, I. & SHERWOOD, D. An outbreak of diarrhoea associated with cryptosporidiosis in naturally reared lambs. *Ver. Rec.*, 110:129-130, 1982.
- BARKER, I.K. & CARBONELL, P.L. *Cryptosporidium agni* sp. n. from lambs, and *Cryptosporidium bovis* sp. n. from a calf, with observations on the oocyst. *Z. Parasitenkd.*, 44:289-298, 1974.
- CLERHEW, L.W. Cryptosporidia associated with rota virus and an *Escherichia coli* in an outbreak of calf scour. *Vet. Rec.*, 106:458-460, 1980.

- DUBEY, J.P. & PANDE, B.P. Observations on the coccidian oocysts from indian jungle cats (*Felis chaus*). *Indian J. Microbiol.*, 3:103-108, 1963.
- ISEKI, M. *Cryptosporidium felis* sp. n. (Protozoa: Eimeriorina) from de domestic cat. *Japan J. Parasitol.*, 28:285-307, 1979.
- JERVIS, H.R.; MERRILL, T.G. & SPRINZ, H. Coccidiosis in the Guinea Pig small Intestine due to a *Cryptosporidium*. *Am. J. vet. Res.*, 27:408-414, 1965.
- LEVINE, N.D. Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa: Apicomplexa). *J. Protozool.*, 31:94-98, 1984.
- OGASSAWARA, S.; BENASI, S.; LARSSON, C.E. & HAGIWARA, M.R. *Cryptosporidium curyi* sp. n. in the feces of cais in the city of São paulo, Brazil. *Rev. Microbiol.*, 17:346-349, 1986.
- POHLENZ, J.; MOON, H.W.; CHEVILLE, N.F. & BEMRICK, W.J. Cryptosporidiosis as a problable factor in neonatal diarrhea of cafres. *J. Amer. Ver. Med. Ass.*, 172:452-457, 1978.
- POONACHA, K.B. & PIPPIN, C. Intestinal Cryptosporidiosis in a cat. *Vet. Pathol.*, 19:708-710, 1982.
- REHG, J.E.; LAWTON, G.W. & PAKES, S.P. *Cryptosporidium cuniculus* in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Lab. Anim. Sci.*, 29:656-660, 1979.
- REESE, N.C.; CURRENT, W.L.; ERNST, J.U. & BAILEY, W.S. Cryptosporidiosis of man and calf: a case report and results of experimental infections in mice and rats. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 31:226-229, 1982.

- SCHMITZ, J.A. & SMITH, D.H. *Cryptosporidium* infection in a calf. *J. Am. Ver. Med. Ass.*, 161:731-732, 1975.
- SNYDER, S.P.; ENGLAND, J.J. & MCCHESENEY, A.E. Cryptosporidiosis in immunodeficient Arabian foals. *Ver. Pathol.*, 15:12-17, 1978.
- STEMMERMANN, G.N.; HAYASHI, T.; GLOBER, G.A.; OISHI, N. & FRENKEL, R.I. Cryptosporidiosis: Report of a fatal case complicated by disseminated toxoplasmosis. *Am. J. Med.*, 69:637-642, 1980.
- TIZZER, E.E. An extracellular coccidium, *Cryptosporidim muris* (gen. et sp. nov.) of the gastric glands of the common mouse. *J. Med. Res.*, 23:487-509, 1910.
- TZIPORI, S.; MCCARTNEY, E.; LAWSON, G.H.R.; ROWLAND, A.C. & CAMPBELL, I. Experimental Infection of piglets with *Cryptosporidium*. *Res. Vet. Sci.*, 31:358-368, 1981.
- TZIPORI, S.; LARSEN, J.; SMITH, M. & LUEFI, R. Diarrhoea in goat kids attributed to *Cryptosporidium* infection. *Vet. Rec.*, 111:35-36, 1982.
- WEIKEL, C.S.; JOHNSTON, L.I.; SOUSA, M.A. de & GUERRANT, R. L. Cryptosporidiosis in Northeastern Brazil: Association with Sporadic Diarrhea. *J. Infec. Dis.*, 151:963-965, 1985.
- UPTON, S.J. & CURRENT, W.L. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. *J. Parasitol.*, 71:625-629, 1985.

TABELA 1. Espécies do gênero *Cryptosporidium* parasitas de mamíferos.

Espécie	Valores ( $\mu\text{m}$ )		Autores
	Diâmetro maior	Diâmetro menor	
<i>C. muris</i>	7,4 (6,6-7,9)	5,6 (5,3-6,5)	Apton & Current, 1985
<i>C. parvum</i>	5,0 (4,5-5,4)	4,5 (4,2-5,0)	Apton & Current, 1985
<i>C. muris</i>	$6,23 \pm 0,30$	$5,84 \pm 0,32$	Presente trabalho



FIGURA 1. *Cryptosporidium muris*. Oocisto (▶) observado isoladamente. Safranina, 1000 X.



FIGURA 2. *Cryptosporidium muris*. Numerosos oocistos de *C. muris* (▶) em um fragmento de mucosa. Safranina, 1000 X.