

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

**Infecção natural por *Cryptosporidium* sp. em aves
domésticas comercializadas em mercados municipais no
Rio de Janeiro**

Raquel Saucier Gomes

2006



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**INFECÇÃO NATURAL POR *Cryptosporidium* sp. EM AVES DOMÉSTICAS
COMERCIALIZADAS EM MERCADOS MUNICIPAIS NO RIO DE
JANEIRO**

RAQUEL SAUCIER GOMES

Sob a Orientação da Professora
Teresa Cristina Bergamo do Bomfim

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Março de 2006

636.50896936

G633i

T

Gomes, Raquel Saucier, 1979-

Infecção natural por *Cryptosporidium* sp. em aves domésticas comercializadas em mercados municipais no Rio de Janeiro / Raquel Saucier Gomes. - 2006.

43 f. : il.

Orientador: Teresa Cristina Bergamo do Bomfim.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária.

Bibliografia: f. 36-42.

1. Aves domésticas - Parasito - Rio de Janeiro (RJ) - Teses. 2. *Cryptosporidium* - Rio de Janeiro (RJ) - Teses. 3. Criptosporidiose - Rio de Janeiro (RJ) - Teses. 4. Aves domésticas - Comercialização - Teses. 5. Higiene veterinária - Rio de Janeiro (RJ) - Teses. I. Bomfim, Teresa Cristina Bergamo do. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

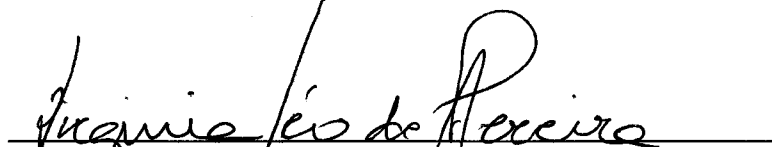
RAQUEL SAUCIER GOMES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Parasitologia Veterinária.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 09/03/2006


Teresa Cristina Bergamo Bomfim (Ph. D). UFRRJ


José Luis Fernando Luque Alejos (Ph. D). UFRRJ


Virginia Léo Almeida Pereira (Dra.). UFF

A Deus, que com seu amor incondicional, sempre me proporcionou uma vida de alegrias e de conquistas, a Ele ofereço mais essa.

Aos meus pais, Paulo Gomes e Lena Saucier, quem eu amo muito e sem eles nada na minha vida seria possível.

Ao meu irmão, Daniel, que é, e será sempre meu maior companheiro.

AGRADECIMENTOS

À Professora Teresa Cristina Bergamo do Bomfim pela grande amiga que foi durante todos esses anos, dedicando seu tempo, paciência e permitiu que eu pudesse fazer parte da sua vida profissional, sempre com muita atenção, carinho e amizade.

A amiga Franziska Huber, por ter me ensinado dentre muitas lições que a vida é baseada na troca constante de conhecimento e amizade.

Aos meus avós, Walter Saucier e Raymunda Motta Saucier, que sempre acreditaram em mim e acima de tudo me amam.

A meu avô Walter Oliveira Gomes (*in memoriam*), que tenho certeza se orgulha de mim, e a minha avó Alda Soares Gomes, pelo carinho.

Ao meu melhor amigo e namorado, Felipe Marques Teixeira, que com sua amizade incondicional, durante os anos mais complicados da minha vida, sempre esteve presente me apoiando e fazendo parte da minha missão mais difícil: a descoberta do meu caminho, e a Vera Lucia Marques Teixeira (*in memoriam*), a quem serei grata e admirarei por toda minha vida, tentando seguir sempre seu lindo exemplo de vida.

Ao zootecnista, e meu amigo, Wyslaine Costa da Cruz, pela grande ajuda nos trabalhos laboratoriais e nos sentimentais.

Aos professores do Curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias, em especial ao Dr. José Luis Fernando Luque Alejos, por todos os seus ensinamentos e conselhos.

Agradeço também aos grandes amigos Rodrigo Neves, Elaine Bandeira, Renata Scarlato e Vanessa Santana Caetano pelos anos de convivência e união.

Aos zootecnistas, meus amigos, Nayla Lopes Moraes, Rodrigo Pereira Brum e Melissa Carvalho Machado do Couto, que me ajudaram muito com sua grande amizade e companheirismo, tornando minha vida mais alegre.

Aos meus colegas Vanessa Doro Abdala e Rodney Kozlowisky, por seu grande companheirismo, incentivo e grande ajuda nas análises estatísticas desse trabalho.

Ao amigo, Fábio Silva de Souza, doutorando do curso, pela grande ajuda na confecção da dissertação.

Ao curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias pelo incentivo e auxílio financeiro para conclusão desse trabalho e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq) pela ajuda financeira através de bolsa de estudo.

RESUMO

GOMES, Raquel Saucier. **Infecção natural por *Cryptosporidium* sp. em aves domésticas comercializadas em mercados municipais no Rio de Janeiro.** 2006. 43 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

O presente trabalho teve como objetivo identificar a ocorrência da infecção pelo protozoário do gênero *Cryptosporidium* em aves domésticas comercializadas em dois mercados municipais situados no município do Rio de Janeiro - RJ, e associar possíveis fatores de risco relacionados à infecção. No total foram adquiridas 180 aves, sendo 60 patos (*Anas platyrhynchos*), 60 pintos (*Gallus gallus*) e 60 codornas (*Coturnix japonica*). As aves foram encaminhadas ao laboratório de Protozoologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e acondicionadas em gaiolas individuais. A ocorrência e dinâmica de *Cryptosporidium* sp. nessas aves foram estudadas através da técnica de centrífugo-flutuação. Mensurações do maior diâmetro e menor diâmetro dos oocistos foram realizadas e comparadas entre as aves dos mercados. No mercado de Madureira um total de 29 (96,7%) patos, 20 codornas (66,66%) e 30 pintos (100%) apresentaram infecção por *Cryptosporidium* sp. e no mercado de Campo Grande 17 (56,7%) patos, 13 codornas (43,33%) e 22 (73,33%) pintos estavam infectados. Diferenças estatisticamente significativas foram encontradas para a ocorrência da infecção entre os pintos e de patos dos dois mercados, porém não para codornas. O período pré-patente da infecção variou entre 2 e 8 dias e período patente entre 3 a 46 dias. Patos possuem uma maior resistência à aquisição da infecção por *Cryptosporidium* sp. que pintos e codornas, porém uma vez estabelecida a infecção, esta possui maior período patente, com altas concentrações de oocistos nas fezes, se comparado a pintos e codornas. Pode-se concluir que a infecção natural por *Cryptosporidium* é frequente nas aves estudadas. Patos, pintos e codornas podem ser disseminadores de criptosporidiose em mercados municipais, criações domésticas e/ ou de subsistência dentro do município do Rio de Janeiro, assim como podem constituir risco para infecção em humanos, como crianças, tratadores, comerciantes e frequentadores do local. Mais estudos serão feitos para a elucidação dos fatores de risco associados à infecção por *Cryptosporidium* sp., assim como estudos de caracterização molecular de isolados provenientes dos mercados municipais no Rio de Janeiro.

Palavras-chaves: *Cryptosporidium*, Aves domésticas, Mercado municipal

ABSTRACT

GOMES, Raquel Saucier. **Natural Infection by *Cryptosporidium* sp. in domestic birds commercialized in public markets of Rio de Janeiro.** 2006. 43 p. Dissertation (Master Science in Veterinary, Veterinary Parasitology). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

The aim of the present work was to identify the occurrence of natural *Cryptosporidium* infection in domestic birds, commercialized in two public markets, in the city of Rio de Janeiro. 180 birds were acquired, being 60 ducks (*Anas platyrhynchos*), 60 chicks (*Gallus gallus*) and 60 quails (*Coturnix japonica*). The birds were housed in individual cages at the Protozoology laboratory of the Federal Rural University of Rio de Janeiro. As diagnostic method for the occurrence and infection dynamics was used de centrifuge - fluctuation technique. Measurements of the major and minor oocyst diameters were realized and compared between the origins of the birds. From the market of Madureira, a total of 29 (96,7%) ducks, 20 (66,66%) quails and 30 (100%) chicks were infected with *Cryptosporidium* sp. At the market of Campo Grande 17 (56, 7%) ducks, 13 (43, 33%) quails and 22 (73, 33%) chicks were infected. Statistically significant differences between the origin of the birds and infection rate were encountered for the ducks and the chicks, but not for the quails. The pre-patent period of the infection varied between 2 and 8 days, and the patent period varied between 3-46 days. Ducks present major resistance to the infection, but once established they present a longer patent period, with higher oocyst shedding than do quails and chicks. Observing the presented results can be concluded that the natural infection with *Cryptosporidium* is frequent in the studied domestic birds commercialized in public markets. Ducks, chicks and quails may play an important part in the dissemination of cryptosporidiosis in public markets, possibly representing a risk for human infection in persons that work or does frequent the markets. More studies should be undertaken to clarify about the risk factors associated with cryptosporidiosis and molecular studies for the characterization of the *Cryptosporidium* species involved.

Key- words: *Cryptosporidium*, Domestic birds, Markets

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Histórico	3
2.2 Classificação taxonômica	3
2.3 Espécies consideradas como válidas	4
2.4 Diagnóstico	6
2.5 Genotipagem de <i>Cryptosporidium</i>	6
2.6 Características biológicas	7
2.7 Infecção por <i>Cryptosporidium</i>	7
2.7.1 Infecção em humanos	8
2.7.2 Infecção em aves	8
2.8 Epidemiologia	8
2.9 Fatores de risco	9
3 MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1 Animais utilizados no trabalho	10
3.2 Descrição dos mercados municipais	12
3.3 Avaliação do ambiente de comercialização e aspecto sanitário das aves	12
3.4 Alojamento das aves no laboratório	12
3.5 Coleta das amostras fecais	13
3.6 Procedimentos laboratoriais	13
3.7 Avaliação da ocorrência de <i>Cryptosporidium</i> sp. através de exame parasitológico de fezes	16
3.8 Acompanhamento do período pré-patente e patente	16
3.9 Morfometria	16
3.10 Análise estatística	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1 Ocorrência da infecção natural por <i>Cryptosporidium</i> sp. em patos(<i>Anas platyrhynchos</i>)de mercados municipais	18

4.1.1 Caracterização morfométrica	19
4.1.2 Período pré-patente	19
4.2 Ocorrência da infecção natural por <i>Cryptosporidium</i> sp. em codornas(<i>Coturnix japonica</i>) de mercados municipais	21
4.2.1 Caracterização morfométrica	23
4.2.2 Período pré-patente	24
4.3 Ocorrência da infecção natural por <i>Cryptosporidium</i> sp. em codornas (<i>Gallus gallus</i>) de mercados municipais	24
4.3.1 Caracterização morfométrica	26
4.3.1.1 Comparação morfométrica entre amostras provenientes do mercado de Madureira	26
4.3.1.2 Comparação morfométrica entre amostras provenientes do mercado de Madureira e Campo Grande	28
4.3.1.3 Período pré-patente	29
4.4 Biologia comparada da criptosporidiose nas três espécies de aves	29
4.4.1 Comparação da ocorrência de <i>Cryptosporidium</i> sp. em patos, pintos e codornas	31
4.4.2 Comparação morfométrica de <i>Cryptosporidium</i> sp de patos, pintos e codornas	31
4.4.3 Períodos pré-patente e patente de patos, pintos e codornas	34
5 CONCLUSÕES	35
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
7 ANEXOS	43
A-Avaliação das condições das lojas de comercialização de aves dos mercados municipais	43

1 INTRODUÇÃO

A domesticação de animais é uma prática realizada desde os primórdios da humanidade, pois o homem sempre teve a necessidade de ter animais ao seu lado, seja para sua subsistência ou apenas para companhia.

Assim no caso particular das aves, as primeiras espécies domesticadas, foram usadas para várias finalidades, tais como, produção de ovos e carne, para fins ornamentais e até mesmo a criação de aves para o abastecimento do mercado de animais de estimação em todo o mundo.

Muitas das espécies de aves, tanto as domésticas quanto as silvestres, atualmente estão sendo colocadas como animais de estimação e esta íntima relação que vem sendo observada está gerando riscos a infecção por vários patógenos com potencial zoonótico.

Dentre esses patógenos, tem sido destacado o protozoário do gênero *Cryptosporidium*, que apresenta grande importância em saúde coletiva. Este pequeno coccídio que é reconhecido como um significativo patógeno para humanos e muitas outras espécies de vertebrados é também uma das mais prevalentes infecções em aves domesticadas e silvestres (SRÉTER; VARGA, 2000).

As espécies do gênero *Cryptosporidium* apresentam uma grande capacidade de reprodução e disseminação, de modo que formas infectantes eliminadas através das fezes representam uma grande capacidade de contaminação ambiental.

Autores sugerem que o papel das aves como reservatório do protozoário para humanos deve ser revisto, uma vez que as espécies que infectam aves podem também infectar humano, sendo assim de importância para saúde coletiva (XIAO et al., 2002).

Apesar da industrialização da avicultura, existem regiões no Estado do Rio de Janeiro denominadas de subúrbios, onde é comum a criação de aves de fundo de quintal para o uso familiar ou até mesmo criações voltadas para o abastecimento de pequenos aviários que mantêm animais vivos para abate na hora da venda. Pequenas criações particulares no sítio ou de fundo de quintal de suas casas, mostram ser um hábito antigo de criação de subsistência que ainda perduram em locais interioranos ou periféricos das grandes cidades.

No município do Rio de Janeiro, é comum encontrarmos locais chamados de mercados populares, oferecendo produtos a preços acessíveis a um grande contingente da população. Esses mercados inicialmente possuíam um perfil agropecuário, porém com seu crescimento, os produtos oferecidos se tornaram diversificados, incluindo artigos para festas, roupas, brinquedos e artigos religiosos. Com grande importância econômica, esses mercados já se tornaram distribuidores de alimentos da zona suburbana e são umas das mais autênticas instituições cariocas.

Podemos encontrar também a venda de animais vivos, como aves, pequenos mamíferos como coelhos, cobaia e hamsters, caprinos, animais silvestres e muitos outros. Eles são adquiridos para várias finalidades como criação de fundo de quintal, abate de animais, animais de estimação e para fins religiosos.

Partindo-se dessas finalidades, há a possibilidade de levar animais infectados para o domicílio, expondo ao risco de infecção, principalmente crianças, idosos e eventualmente pessoas com alguma imunodeficiência.

Os animais introduzidos nesses ambientes podem infectar várias outras espécies de animais que são criados freqüentemente em associação, e com isto, gerar uma maior disseminação de formas infectantes no meio ambiente.

Como a forma infectante desse protozoário possui uma ampla capacidade de dispersão ambiental, a presença de possíveis portadores nos locais de comercialização, pode constituir um risco para a população que consome esses os produtos, bem como para os freqüentadores dos locais.

O presente trabalho teve como objetivo diagnosticar a presença de *Cryptosporidium* sp. em patos, pintos e codornas, comercializadas em mercados municipais no Estado do Rio de Janeiro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

A primeira descrição de um protozoário que infectava as células epiteliais do estômago de camundongos foi feita por TYZZER em 1907, que denominou o parasito de *Cryptosporidium muris*, em 1910. A família Cryptosporidiidae foi estabelecida somente em 1911 por LÉGER e em 1912, TYZZER descreveu uma outra espécie do mesmo gênero, que parasitava as células intestinais de camundongos, denominando-a *C. parvum*.

Em 1929, TYZZER descreveu *Cryptosporidium* sp. em cecos de frangos e nomeou de *C. parvum*, o que mais tarde foi considerado como sinonímia de *C. baileyi* (CURRENT et al., 1986), sendo a primeira descrição do protozoário em aves. Em 1955, SLAVIN relatou um protozoário estruturalmente similar em perus, nomeando de *C. meleagridis*, atribuindo ao protozoário a causa de mortalidade em perus jovens de uma criação comercial. Mais tarde em 1971 o primeiro caso de infecção de um bezerro foi descrito (PANCIERA et al., 1971), como causa de diarreia.

A significância do gênero foi inicialmente reconhecida pelo fato de ser um patógeno oportunista em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (NANNINI; OKHUYSEN, 2002) assim, em 1976, a comunidade médica começou a interessar-se pelo protozoário, após os relatos da criptosporidiose em pacientes imunocompetentes e em pacientes com imunodepressão (MEISEL et al., 1976; NIME et al., 1976).

Atualmente, a criptosporidiose é uma doença bem estudada e relatada, principalmente como causa de diarreia severa em pessoas imunocomprometidas, como ocorre em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV).

Em aves de criação comercial, principalmente em frangos, perus e codornas a infecção por *Cryptosporidium* tem sido associada a surtos acompanhados por mortalidade, onde geralmente aves jovens parecem ser mais suscetíveis à infecção clínica. A criptosporidiose em aves pode ocorrer como doença entérica ou respiratória, sendo que raramente ambas as condições ocorram simultaneamente (O'DONOGHUE, 1995).

2.2 Classificação Taxonômica

O gênero *Cryptosporidium* tem sido classificado junto com outros coccídios entéricos na ordem Eucoccidiorida com base em muitas similaridades de suas características morfológicas e ciclos de vida (O'DONOGHUE, 1995).

Baseado na proposta de classificação em 1985, por Levine, esse protozoário pertence ao Filo Apicomplexa, caracterizado por apresentar complexo apical e todos os seus representantes serem parasitas; Classe Sporozoasida apresenta reprodução assexuada e sexuada com a produção de oocisto; Subclasse Coccidiasina com ciclo de vida que envolve merogonia, gametogonia e esporogonia; Ordem Eucoccidiorida no seu ciclo biológico desenvolve a merogonia ou esquizogonia; Subordem Eimeriona com o desenvolvimento independente de macrogamonte e microgamontes e não há zigoto móvel e Família Cryptosporidiidae que apresenta oocisto contendo quatro esporozoítas e esporocisto ausente com todos os estágios endógenos isoladamente se desenvolvem em vacúolo parasitóforo na superfície das células parasitadas e sendo essencialmente monoxenos.

Desde as primeiras descrições, diversas espécies foram nomeadas em função dos hospedeiros nos quais foram encontradas. Os critérios para designar espécies válidas incluíam a

especificidade por hospedeiro, morfologia dos oocistos e local de infecção. Contudo para espécies pertencentes ao gênero *Cryptosporidium*, somente esses critérios não são adequados para nomeação de novas espécies.

Os oocistos das diferentes espécies são idênticos morfologicamente e existe similaridade de morfometria com muitas delas. Essas similaridades na estrutura têm causado confusão na nomenclatura de várias espécies de *Cryptosporidium* (PEDRAZA-DIAZ et al., 2000), além da baixa especificidade por hospedeiro, não sustentando uma classificação segura (GASSER; O'DONOGHUE, 1999).

Existe uma diversidade relacionada à amplitude morfométrica do oocisto, fazendo com que vários isolados sejam idênticos, além disso, o gênero *Cryptosporidium* apresenta baixa especificidade por hospedeiro e há um polimorfismo genético (XIAO et al., 2004). Estudos genéticos têm descoberto a existência de uma grande diversidade dentro do gênero (FAYER et al., 2000). É observado que, para o protozoário, em seu estágio sexuado pode ocorrer recombinações intra-específicas, isto tem sido demonstrada com *C.parvum* (MALLON et al., 2003).

Porém outros pesquisadores afirmam que há grandes números de parasitas similares geneticamente, e como resultado *Cryptosporidium* tem um grande número de população clonal, como é demonstrado por análise de multilocus (SULAIMAN et al., 2001).

Atualmente, morfologia, especialmente morfometria dos oocistos, representa o alicerce para taxonomia dos protozoários pertencentes ao Filo Apicomplexa, onde a estrutura de oocistos é usualmente uma das exigências para estabelecimento de novas espécies (XIAO et al., 2004), além da caracterização molecular que tem ajudado a clarificar a compreensão na taxonomia desse gênero e a validade das espécies existentes que infectam a classe dos vertebrados (EYGED et al., 2003).

A proposta de classificação das espécies do gênero *Cryptosporidium* teve um direcionamento para a caracterização polifásica que envolve a investigação de aspectos como: morfologia (diferenças no tamanho e formato do oocisto); biologia (especificidade em relação ao hospedeiro, órgão de localização, patogenicidade, períodos patente e pré-patente, intensidade de eliminação de oocistos) e genética (diferenças na seqüência de nucleotídeos de genes como SSU rRna, HSP70 e COWP) (EYGED et al., 2003), o estabelecimento da caracterização polifásica poderia ajudar no entendimento da taxonomia e sustentaria uma classificação segura para novas espécies do gênero.

2.3 Espécies consideradas como válidas

Até o momento são consideradas 15 espécies como válidas (Tabela 1). O gênero *Cryptosporidium* já foi diagnosticado em aproximadamente 125 espécies de animais vertebrados e invertebrados em várias partes do mundo (FAYER et al., 2000).

Três espécies de *Cryptosporidium* são consideradas válidas para aves domésticas e silvestres, sendo elas *C. baileyi* (CURRENT et al., 1986), *C. meleagridis* (SLAVIN, 1955) e *C. galli* (RYAN et al., 2003). A espécie *C. meleagridis* foi originalmente descrita parasitando intestino de perus, *C. baileyi* foi descrito parasitando a bursa de Fabricius, cloaca e trato respiratório de frangos, já *C.galli* foi assinalada parasitando proventrículo de pássaros (XIAO et al., 2004).

Tabela 1. Espécies consideradas como válidas do gênero *Cryptosporidium* e morfometria dos seus respectivos oocistos.

ESPÉCIE	DIÂMETRO MAIOR (µm)	DIÂMETRO MENOR (µm)	ÍNDICE MORFOMÉTRICO	REFERÊNCIAS
<i>C. andersoni</i>	6.0 – 8.1	5.0 – 6.5	1.07 – 1.50	Lindsay et al., 2000
<i>C. baileyi</i>	5.6 – 6.3	4.5 – 4.8	1.2 – 1.4	Arrowood, 1997
<i>C. bovis</i>	4.76-5.35	4.17-4.76	1.06	Fayer et al., 2005
<i>C. cannis</i>	4.6 – 5.6	4.2 – 4.6	1.04 – 1.2	Fayer et al., 2000
<i>C. felis</i>	4.2 – 4.9	4.6 – 5.6	—	Mtambo et al., 1991
<i>C. galli</i>	8.0 – 8.5	6.2 – 6.4	1.30	Ryan et al., 2003
<i>C. hominis</i>	4.4 – 5.9	4.4 – 5.4	1.0 – 1.09	Ryan et al., 2002
<i>C. meleagridis</i>	4.5 – 6.0	4.2 – 5.3	1.0 -1.3	Arrowood, 1997
<i>C. molnari</i>	3.23 – 5.45	3.02 – 5.04	1.0 – 1.17	Alvarez-Pellitero Sitjá-Bobadilla, 2002
<i>C. muris</i>	6.6 – 7.9	5.3 – 6.5	1.1 – 1.5	Arrowood, 1997
<i>C. parvum</i>	4.5 – 5.4	4.2 – 5.0	1.0 – 1.3	Arrowood, 1997
<i>C. saurophilum</i>	4.4 – 5.6	4.2 – 5.2	1.04 – 1.12	Koudela Modry, 1998
<i>C. serpentis</i>	5.6 – 6.6	4.8 – 5.6	1.0 – 1.3	Arrowood, 1997
<i>C. suis</i>	4.9-4.4	4.0-4.3	1.1	Ryan et al., 2004
<i>C. wrairi</i>	4.8 – 5.6	4.0 – 5.0	1.04 – 1.33	Fayer et al.,1997

2.4 Diagnóstico

Diversos métodos podem ser empregados dependendo da especificidade do diagnóstico. Existem métodos indiretos de diagnóstico como ELISA, porém testes sorológicos ou imunológicos não são eficazes para saber se há uma infecção no paciente, uma vez que os anticorpos podem permanecer presentes após a cura da infecção (KOULDA; NOHYNKOVÁ, 1995).

Dentre as técnicas de coloração utilizadas, está a da modificação da técnica de Ziehl-Nielsen, ou coloração pelo método safranina-azul de metileno, que é o método mais utilizado (XIAO et al. 1994). Nesta técnica, os oocistos de *Cryptosporidium* aparecem como corpos sub-esféricos róseos brilhantes, variando em seu diâmetro conforme a espécie visualizada, com um fundo contracorado de azul escuro.

Porém em métodos desse tipo possuem uma baixa especificidade e sensibilidade apresentada. Somente de três a 13 % dos oocistos se coram com a safranina. Alguns fungos e leveduras também podem adquirir a coloração do *Cryptosporidium* sendo que a especificidade da coloração ácida é de apenas 52 % (ARROWOOD; STERLING, 1989).

Os esfregaços de fezes podem ser corados ainda através de métodos para imunofluorescência, onde os oocistos aparecem como um corpo esferoidal verde brilhante, enquanto os fungos se coram em amarelo ou vermelho. A especificidade de anticorpos monoclonais contra *Cryptosporidium* aumenta consideravelmente a sensibilidade ao método de imunofluorescência direta. Ele pode ser até 10 vezes mais sensível que o da coloração rápida ácida (CURRENT; GARCIA, 1991).

A concentração das fezes aumenta muitas as chances de encontrar o protozoário, podendo se utilizar técnicas comuns de flutuação em solução saturada de açúcar, sal ou sulfato de zinco.

A pesquisa pelo oocisto pode ser realizada também pelo método de flutuação em solução supersaturada de açúcar (HUBER, 2003). Os oocistos aparecem como corpos esféricos róseos, em microscopia de contraste de fase, com um a quatro grânulos em seu interior. O pronto exame também se faz necessário, devido ao colapso e perda de sua forma esférica quando o material é deixado em solução saturada de açúcar por mais de 15 minutos. A excreção dos oocistos é intermitente em indivíduos sintomáticos e assintomáticos. Desta maneira, várias amostras de fezes devem ser analisadas, antes de um diagnóstico negativo (CURRENT; GARCIA, 1991) Porém para determinação da espécie envolvida na infecção por *Cryptosporidium* é necessária a utilização de métodos mais sensíveis, como a reação de cadeia em polimerase (PCR).

2.5 Genotipagem de *Cryptosporidium*

Estudos moleculares são muito importantes para a correta identificação das espécies envolvidas em surtos, podendo delinear melhor os ciclos de transmissão e possíveis fontes de infecção (XIAO et al., 2000).

Acreditava-se que *Cryptosporidium parvum* era a principal espécie envolvida na patogenia humana, estando bem estabelecido que existiam dois diferentes genótipos dessa espécie, o genótipo I ou H, de origem exclusivamente de humanos, e o genótipo II ou C, proveniente de bovinos. Existiam relatos de transmissão de animal para homem (zoonose), mas não de homem para animal (antropozoonose) (GUYOT et al., 2002; WARD et al., 2002). Hoje já se sabe que o genótipo I, considerado restrito a infecção humana se trata de uma nova espécie, denominada *C. hominis* e já foi relatado infectando ovelhas e animais marinhos (MORGAN et al., 2001).

Baseados em estudos moleculares e biológicos, autores sugerem que existem outras espécies de *Cryptosporidium* capazes de infectar aves (XIAO et al., 2002; MORGAN et al., 2001).

Várias outras possíveis novas espécies têm sido encontradas em aves através da análise de caracterização molecular, e novos genótipos têm sido encontrados, sugerindo ser de novas espécies. Estudos de genotipagem de oocistos provenientes de patos negros e do ganso do Canadá, que apresentavam criptosporidiose intestinal, revelaram que esses animais não continham as espécies descritas até o presente momento capazes de infectar aves. Nesse estudo de genotipagem, foi caracterizado como *Cryptosporidium* sp. (MORGAN et al., 2001). Em codornas, é sugerido que uma nova espécie de *Cryptosporidium* pode habitar essas aves. Essa espécie tem oocistos similares a *C. meleagridis* e não existe um local de predileção no trato gastrintestinal (GUYOT et al., 2002).

Outra possível espécie presente em avestruzes, apresentou oocisto similar a *Cryptosporidium meleagridis*, este isolado não demonstrou efetividade de infecção para outras espécies de aves como, pintos, perus e codornas (GAJADHAR, 1994).

2.6 Características biológicas

2.6.1 Estágios de desenvolvimento

Os estágios morfológicos de *Cryptosporidium* e a seqüência de desenvolvimento se assemelham a de outros coccídios, pertencentes à subordem Eimeriona. Oocistos esporulados são liberados de hospedeiros infectados através das fezes, ou diretamente do trato respiratório (CURRENT; GARCIA, 1991).

A morfologia do gênero *Cryptosporidium* varia de acordo com os estágios evolutivos, que são os oocistos, esporozoítas, merozoítas, microgamontes e macrogamontes.

O oocisto esporulado contém quatro esporozoítas e não apresenta esporocisto, que é uma característica do gênero, apresenta um resíduo. Oocistos de diferentes espécies apresentam variações no seu tamanho e forma (UPTON; CURRENT, 1985).

A parede do oocisto é delgada com duas camadas, uma interna e outra externa. Em uma das extremidades do oocisto, no ato do desencistamento, possui uma sutura, por onde os esporozoítas são liberados (FAYER et al. 1997).

Algumas características ultraestruturais dos esporozoítas e merozoítas são similares a dos outros coccídios. Os esporozoítas são circundados por uma película de três camadas e contem um complexo apical, consistido de 2-3 anéis apicais, micronemas, grânulos densos, núcleo, roptrias, ribossomos, microtúbulos. Porém outras estruturas estão ausentes como anéis polares, mitocôndria, microporos e conóide (O'DONOGHUE, 1995).

Os oocistos estão ligados às células epiteliais englobados pelas microvilosidades, formando um vacúolo parasitóforo. Ocorre a formação da organela de fixação ou nutrição por parte do parasito e da célula parasitada (FAYER et al., 1997).

Microgamontes são freqüentemente menos encontrados que as outras formas. Eles medem 4-5 µm, são similares a esquizontes em formato e podem conter 14 – 16 microgametas e possuem um corpo residual (GOEBEL; BRAENDLER, 1982).

O macrogameta é encontrado dentro do vacúolo parasitóforo, tem um grande núcleo, situado no centro, um vacúolo lipídico envolto por uma camada de membrana, normalmente encontrado perto do núcleo. Os macrogametas contem no citoplasma um grande número de

grânulos polissacarídeos, corpos maduros, corpos de formação e retículo endoplasmático (TZIPORI, 1988).

2.6.2 Ciclo biológico

O início da infecção ocorre através da ingestão de alimentos e água contaminados por oocistos, ou através da inalação dos mesmos. Após o desencistamento, que pode ocorrer por vários fatores, incluindo redução de condições de dióxido de carbono, temperatura, enzimas pancreáticas e sais biliares (CAMPBELL et al., 1993), há liberação dos esporozoítas, pela sutura da parede do oocisto, desta forma penetram na superfície das células epiteliais do trato gastrointestinal ou respiratório (FAYER; UNGAR, 1986).

As espécies do gênero *Cryptosporidium* apresentam um ciclo monoxênico. Esporozoítas livres penetram na superfície das células epiteliais, onde se tornam inclusos dentro do vacúolo parasitóforo e desenvolvem-se em trofozoítas. Esses então sofrem reprodução assexuada por merogonia (também chamada esquizogonia). A divisão das células ocorre por endopoligenia, onde múltiplas células filhas são formadas por célula tipo merontes. O meronte do tipo I, contendo oito merozoítas, são liberados dos vacúolos parasitóforos quando desenvolvidos. Os merozoítas de primeira geração, então, invadem outras novas células epiteliais e desenvolvem em meronte tipo II, esses com quatro esporozoítas, que após a liberação, os merozoítas se diferenciam para progressão da fase reprodutiva denominada de gametogonia dos gamontes (O'DONOGHUE, 1995). Porém, uma única geração de meronte tem sido mencionada para *Cryptosporidium meleagridis* de perus (SLAVIN, 1955) e três gerações foram descritas para *C. baileyi* (CURRENT et al., 1986).

Na gametogonia, ocorre a produção de macrogametas, que é a célula reprodutora feminina, e microgameta, que é a célula reprodutora masculina. Após a fertilização do macrogametócito pelo microgametócito, o oocisto se desenvolve. Dois tipos de oocistos são descritos: um oocisto de parede fina e um de parede densa. Nos dois tipos de oocistos a esporulação ocorrerá dentro do hospedeiro. Oocistos de parede fina são circundados por única membrana e se desencistam com facilidade e iniciam a auto-infecção, permitindo que um pequeno número de oocistos ingeridos, possa desenvolver uma infecção severa. Oocistos de paredes densas são circundados por múltiplas camadas, altamente resistentes às adversidades ambientais, levando a transmissão da infecção aos outros hospedeiros (SRÉTER; VARGA, 2000).

2.7 Infecção por *Cryptosporidium*

2.7.1 Infecção em humanos

Cryptosporidium é reconhecido como um patógeno que é a mais comum causa de diarreia mundialmente (TZIPORI; WIDMER, 2000). Em pacientes imunocompetentes as infecções levam a invasão e destruição do epitélio intestinal, causando distúrbio de absorção de nutrientes. Nas manifestações clínicas destacam-se as dores abdominais, diarreia, vômito e perda de peso, porém o paciente pode apresentar-se assintomático (THOMPSON et al., 2000).

Indivíduos imunodeficientes, principalmente naqueles portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), desenvolvem diarreias crônicas, causando perda de peso acentuada podendo levar a morte (O'DONOGHUE, 1995).

A transmissão de *Cryptosporidium* de animais domésticos para humanos tem sido observada por vários autores, havendo muitos relatos de humanos que adquiriram a protozoose após a exposição a animais infectados (O'DONOGHUE, 1995).

Várias espécies e genótipos podem infectar humanos. Até o presente momento as espécies que apresentam potencial zoonótico são: *Cryptosporidium baileyi*, *C.felis*, *C.meleagridis*, *C.muris* e *C. hominis* (XIAO et al., 2004).

Atualmente a atenção dos pesquisadores tem se voltado para a capacidade de *Cryptosporidium meleagridis* infectar o homem. A infecção foi relatada em sete crianças em Lima no Peru. Nesse estudo uma investigação de causas de diarreia, foi observado que em três casos ocorreu a infecção por *Cryptosporidium meleagridis* que clinicamente estavam associados à diarreia (XIAO et al., 2001).

Cama et al. (2003) estudaram as espécies de *Cryptosporidium* em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e constataram que a infecção por *C. hominis* ocorreu em 67,5% dos pacientes, seguido por *C. meleagridis* presente em 12,6% das amostras fecais examinadas.

2.7.2 Infecção em aves

Em aves, a criptosporidiose manifesta-se em duas formas clínicas, podendo causar tanto doença gastrintestinal quanto a respiratória (MORGAN et al. 2001).

Das três espécies que infectam aves, somente *Cryptosporidium baileyi* causa doença respiratória e é provavelmente a espécie mais comum encontrada em aves, como pintos, perus, codornas e avestruzes (LINDSAY et al., 1990; MORGAN et al., 2001).

Rhee et al. (1997), estudando a infecção por *Cryptosporidium baileyi* em pintinhos, relataram que o parasitismo pode causar bursites difusas, crônicas, superficiais e purulentas com uma moderada depleção de linfócitos e folículos linfóides.

Em estudos sobre a influência do parasitismo sobre a capacidade imunológica de pintinhos com dois dias de idade, os pesquisadores constataram que a criptosporidiose apresenta um efeito imunossupressivo nos animais expostos a outros tipos de infecções, como a doença de Newcastle e a bronquite infecciosa, e que este distúrbio imunológico é gerado pelas alterações morfofisiológicas da bursa de Fabrício, impostas pela presença e a reprodução do *Cryptosporidium baileyi*, sendo que boas medidas de manejo sanitário nas criações comerciais devem ser empregadas para controle da criptosporidiose, como medida de prevenção a doenças infecciosas (RHEE et al., 1998).

Recentes estudos indicam que *Cryptosporidium baileyi* tem um importante papel na patogenia de doença respiratória com perdas na produção, causando alta mortalidade e morbidade por infecções respiratórias, especialmente em pintos de corte (LINDSAY et al., 1990). A presença de sinais clínicos, caracterizados por espirros e ronqueira, em aves inoculadas por via intratraqueal, sugere que *Cryptosporidium baileyi* pode ser considerado um dos agentes etiológicos do complexo respiratório de aves (MEIRELES et al. 1998).

Espécies do gênero *Cryptosporidium* podem invadir glândulas esofágicas e salivares, proventrículo, intestino delgado, ceco, cólon e bursa de Fabrício em aves. Pode gerar, letargia, decréscimo de peso, menor pigmentação e diarreias, sendo estes, os mais comuns sinais clínicos observados nesses animais (SRÉTER; VARGA, 2000).

A infecção de aves por *Cryptosporidium meleagridis* geralmente é assintomática. As infecções entéricas têm sido associadas à moderada diarreia, podendo chegar à diarreia severa, desidratação, depressão, perda de peso e fraqueza. Como alterações histopatológicas têm sido

relatadas atrofia e fusão das microvilosidades, hiperplasia e hipertrofia epitelial, hiperplasia das criptas intestinais, atrofia dos folículos da bursa de Fabrício e moderado infiltrado celular na lâmina própria (O'DONOGHUE, 1995).

2.8 Epidemiologia

O protozoário do gênero *Cryptosporidium* têm sido detectado em vários reservatórios de abastecimento de água, através de vários casos de surto da doença encontrada mundialmente.

Vários fatores são responsáveis pela distribuição e disseminação do protozoário, que pode ser explicada pelo grande número de oocistos eliminados pelos seus hospedeiros. Pequenas quantidades de oocistos para estabelecer uma infecção, baixa especificidade por hospedeiro, grande diversidade de hospedeiros, o pequeno tamanho dos oocistos, resistência dos oocistos no ambiente e aos tratamentos de água convencionais, causando uma maior dispersão epidemiológica (XIAO et al., 2004).

Todas essas características do gênero *Cryptosporidium* podem afetar sua epidemiologia. A capacidade das espécies do gênero de infectar uma ampla variedade de animais vertebrados, incluindo o homem, se tornou um dos patógenos mais importantes causadores da doença nessa classe (EYGED et al., 2003).

As rotas de transmissão podem ser de pessoa para pessoa, através do contato direto ou indireto, de animal para animal e, possivelmente, através de atividades sexuais. Podem ser disseminados através da água, alimentos e aerossóis (FAYER et al., 2000).

Apesar da criptosporidiose ser um dos maiores problemas em saúde pública, tanto em países desenvolvidos, quanto em países em desenvolvimento, pesquisas tem demonstrado maior prevalência da infecção em países mais pobres que em países industrializados (XIAO et al., 2004).

Nos países menos industrializados, dessas populações encontramos grupos específicos de maior risco para a infecção, incluindo crianças, indivíduos com deficiências nutricionais, imunocomprometidos incluindo aqueles com HIV, pacientes fazendo uso de drogas imunossupressoras prolongadamente, pacientes recebendo quimioterapia e com infecções imunossupressivas (FAYER et al., 2000); por ser um patógeno oportunista, o estado imunológico do hospedeiro determina a evolução da infecção (O'DONOGHUE et al., 1995).

Aves selvagens podem ter um papel muito importante na epidemiologia de criptosporidioses. *Cryptosporidium* em aves selvagens está entre um dos patógenos mais disseminados pelo ganso do Canadá (*Branta canadensis*) (GRACZYK et al., 1998; ZHOU et al., 2004), por serem aves migratórias, podem contaminar outros ambientes aquáticos e consequentemente outras espécies de aves.

A maioria das infecções em aves tem sido detectada em aves domésticas, e muitos poucos estudos tem examinado a ocorrência de *Cryptosporidium* em populações de aves silvestres durante a migração (KUHN et al., 2002).

2.9 Fatores de Risco

Muitos estudos tem sido conduzidos para a elucidação dos fatores de risco para a infecção por *Cryptosporidium* em vertebrados, principalmente para ruminantes domésticos (NORDEEN et al., 2001; CAUSAPÉ et al., 2002; HOAR et al., 2001), com destaque para fatores como idade do hospedeiro e tipos de manejo fornecido a esses animais, porém para aves poucos são os trabalhos

desenvolvidos em relação à associação de fatores de risco para a infecção por *Cryptosporidium* sp.

Alguns trabalhos relatam que a idade é um dos fatores mais importantes para aquisição da infecção pelo protozoário, já que esse é um patógeno oportunista e assim animais mais jovens se apresentam mais susceptíveis à infecção, devido à inabilidade do sistema imunológico pela sua imaturidade (MEIRELES et al., 1995; MEIRELES et al., 1998; HORNOK et al., 1998a; TUMOVÁ et al., 2002).

Em estudos de infecção experimental em frangos, animais mais velhos mostraram maior resistência ao protozoário, pelo fato de terem apresentado maior período pré-patente, ou seja, maior resistência à exposição ao agente etiológico, e um período patente menor. Este fato é explicado por esses animais apresentarem o sistema imunológico mais desenvolvido, capazes de combater a infecção comparando-se com os animais mais jovens, que apresentaram períodos mais longos de eliminação de oocistos (TUMOVÁ et al., 2002).

Os fatores de risco para a infecção estão intimamente relacionados à facilidade de dispersão epidemiológica dos oocistos de *Cryptosporidium*.

Fatores relacionados à higiene estão entre os fatores de risco para a infecção (JOACHIN, 2004), assim podemos associar que limpezas periódicas de gaiolas e bebedouros diminuem a infecção pelo protozoário, conseqüentemente diminuindo o tempo de exposição a possíveis oocistos em fezes contaminada nesses ambientes.

Como animais são principais fontes de eliminação de oocistos no ambiente, a diminuição da contaminação ambiental promovida por limpeza da área, reduz o risco da infecção por *Cryptosporidium* sp. (CAUSAPÉ et al., 2002).

Garber et al. (1994) relataram que a aglomeração de animais pode constituir um risco a ocorrência de doenças infecciosas, pois o intenso contato entre eles facilitaria a infecção.

Assim para *Cryptosporidium* em aves, esse risco é aumentado, já que geralmente são criadas com um número alto de animais por área física, com isto facilitando a infecção. Além disso, as fezes desses animais ressecam com facilidade, promovendo aerossóis que aumenta a probabilidade dos oocistos serem ingeridos ou inalados.

O grande número de espécies de animais de várias classes de vertebrados, também pode ser considerado um fator de risco para os animais.

Dentro de uma mesma propriedade, muitos animais, de diferentes classes e espécies podem eliminar oocistos de *Cryptosporidium* e assim conseqüentemente, pela baixa especificidade do parasita por hospedeiro, acaba sendo um risco muito importante para criptosporidiose aviária (XIAO et al. 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais utilizados no trabalho e a sua origem

Foram utilizados 180 animais, obtidos em dois mercados municipais do Rio de Janeiro, para verificação da ocorrência de infecção natural por *Cryptosporidium* sp. em patos (*Anas platyrhynchos*), pintos (*Gallus gallus*) e codornas (*Coturnix japonica*).

Os mercados foram escolhidos por conveniência, e estavam situadas nos bairros de Madureira, zonas Norte, e de Campo Grande, na zona Oeste, ambos no município do Rio de Janeiro. De cada mercado foram analisados um total de 90 animais, sendo 30 de cada espécie. Os patos e pintos com menos de uma semana de idade e codornas com mais de 30 dias.

3.2 Descrição dos mercados Municipais

A estrutura de comercialização dos dois mercados se assemelhava. A movimentação de pessoas e alimentos nos mercados era sempre intensa e ligeiramente congestionada, devido ao restrito espaço destinado à circulação dos consumidores e das pessoas que ali trabalham. Nesses mercados, além de aves para consumo com destino a abate e produção de fundo de quintal, eram comercializados também outros animais com a finalidade de estimação e para fins religiosos. Podemos observar que ao lado dessas lojas, que vendiam animais vivos, havia lojas que comercializam verduras, carnes e peixes, além de alimentos industrializados.

O mercado municipal situado no bairro de Madureira, subúrbio do município do Rio de Janeiro, é um dos maiores centros de consumo do município. Era provido de instalações que comportavam grandes quantidades de lojas, exibindo uma diversidade de materiais para consumo, encontrando qualquer tipo de produto. O mercado possuía dois andares, um era o subsolo, que se encontrava produtos desde verduras, frutas, carnes, laticínios, máquinas, brinquedos e animais vivos. Dessas lojas cinco vendiam animais vivos.

Todas elas possuíam a mesma organização. A higienização da loja era feita uma vez ao dia e os animais eram alojados em gaiolas de arames galvanizados do tipo bateria, somente separados por bandejas com fundo gradeado recoberto por jornal, onde eram acumuladas as fezes. Nessas baterias podíamos encontrar tanto aves (patos, pintos, codornas, periquitos e pombos) quanto pequenos mamíferos (cobaio, porquinhos da Índia e coelhos), e além desses, caprinos que eram colocados em instalações improvisadas.

Os bebedouros e comedouros ficavam na parte interna da gaiola e continham fezes devido ao hábito de alguns animais de ciscando próximo a estes equipamentos. Todas as gaiolas continham uma alta densidade de animais e era muito comum a visualização desses pisoteados ou cambaleando, e até mesmo mortos, sendo que não eram retirados ou separados desses locais. Nas proximidades dessas lojas podíamos encontrar comercialização de verduras, carnes, laticínios e uma loja de ração para animal.

O acesso às lojas era também muito difícil, pois sempre tinha uma ampla movimentação de pessoas comprando esses animais, às vezes até mesmo formavam-se filas. Também era muito comum a presença de crianças acariciando animais através da tela, principalmente os patos e os pintinhos, isto possivelmente por serem animais sensíveis e delicados e que chamam a atenção nessa faixa etária e que muitas das vezes eram adquiridos para serem encaminhados para o domicílio como animais de estimação. O mercado municipal de Campo Grande, situado na zona oeste do Rio de Janeiro se diferenciava do anterior, principalmente na sua área física, sendo bem

menor, possuindo um único andar. Da mesma forma que o anterior, possuía uma grande diversidade de produtos para serem comercializados, tanto *in natura* quanto industrializados, além de animais vivos, incluindo pequenos mamíferos e aves, tanto domésticas quanto silvestres. Observava-se também que as aves domésticas eram adquiridas tanto para consumo também para produção de fundo de quintal, ou como animais de companhia. Nas Figuras 1 e 2, tem-se uma visão do interior dos mercados, principalmente das lojas onde foram adquiridos os animais. Este mercado possuía somente duas lojas para comercialização de animais, onde eram alojados em gaiolas com superpopulação da mesma forma que o mercado anterior. A limpeza e higiene das instalações também eram semelhantes.

3.3 Avaliação do ambiente de comercialização e aspecto sanitário das aves

As condições de higiene de venda dos animais foram avaliadas, englobando aspectos da criação, o contato com outras espécies de animais e com humanos. As condições de manutenção das aves nas gaiolas, proximidade dessas com outras lojas que comercializavam produtos alimentícios. O estado sanitário dos animais expostos à venda.

Foi anotada em ficha (Anexo A) onde continha essas informações, observando-se a presença de aves arrepiadas, isoladas ou apáticas, bem como sinais de tosse, secreções nas narinas ou boca, e presença de diarreia. Foram ainda anotadas às características fenotípicas dos animais que chamavam a atenção dos consumidores, principalmente das crianças.

3.4 Alojamento das aves no laboratório

As aves adquiridas foram encaminhadas ao laboratório de protozoologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Foram acondicionadas em gaiolas individuais, com fundos gradeados, recebendo água e ração, específica para a espécie, à vontade como mostra Figura 3.

3.5 Coleta das amostras fecais

Foram realizadas coletas diárias das fezes destes animais, para acompanhamento da dinâmica da infecção natural por *Cryptosporidium* sp.

Os animais que foram adquiridos e que possuíam resultados coproparasitológico negativos, por sete vezes seguidas, no espaço de uma semana, foram liberados para doação a pessoas interessadas em criá-los para consumo de ovos ou de carne.

As aves que chegaram ao laboratório já eliminando oocistos ou que começaram a eliminar oocistos de *Cryptosporidium* sp., durante a semana da aquisição, foram acompanhadas diariamente, até cessar a eliminação de oocistos. Depois de efetuado um acompanhamento coproparasitológico semanal por um período de um mês, quando não observada a reincidência da eliminação de oocistos, os animais foram doados, seguindo os mesmos critérios acima descritos. Os animais que apresentaram reincidência da eliminação de oocistos ficaram em observação por mais um mês e só foram liberados quando não houve mais a liberação de oocistos no material fecal.

3.6 Procedimentos laboratoriais

As fezes coletadas eram pesadas (4g), depois homogeneizadas com água destilada (14 mL) e filtradas em tamis de plástico descartáveis contendo uma gaze. O material fecal filtrado foi



Figura 1 Visão geral dos mercados (A e B) com a disposição das gaiolas com as diversas espécies de animais comercializados.



Figura 2 Visão mais detalhada das várias espécies de animais dispostos nas gaiolas (A); criança que comumente é vista observando os animais (B).



Figura 3 Disposição dos animais no laboratório em gaiolas individuais, com água e ração à vontade; pato (A), codorna (B) e pinto (C).

acondicionado em tubos de ensaio cônicos e centrifugados a 408 x g por 10 minutos. Após este procedimento, o sobrenadante foi desprezado e ao sedimento adicionou-se solução saturada de açúcar (d=1,33) que foi homogeneizada, e centrifugada a 402,8 x g por 5 minutos. Posteriormente, o tubo foi completado com solução de açúcar e coberto com uma lamínula, ficando em repouso por três minutos. A lamínula foi montada sobre uma lâmina de vidro e examinada em microscópio óptico com e sem contraste de fase, em objetiva de 40x e de 100x. Para a montagem de lâminas permanentes foi realizada a técnica da safranina a quente segundo De CARLI (2000), onde o esfregaço do sedimento fecal, após a secagem ao ar livre, foi fixado em ácido-álcool por cinco minutos. Em seguida a lâmina foi lavada em água corrente e posteriormente coberta com solução de safranina 1% e aquecida sobre uma chama durante um minuto, contados a partir da emissão de vapores. Logo após, a lâmina foi lavada em água corrente e corada com azul de metileno a 3% durante dois minutos para novamente lavada. Após a secagem foi montada, sobre o esfregaço, uma lamínula com bálsamo do Canadá sintético.

3.7 Avaliação da ocorrência de *Cryptosporidium* sp. através de exame parasitológico de fezes.

Para verificar a ocorrência de *Cryptosporidium* sp. foram realizados exames copro-parasitológicos nas amostras provenientes dos 180 animais adquiridos nos dois mercados pela visualização em microscópio óptico com e sem contraste de fase, com objetiva de 40x e de 100x.

3.8 Acompanhamento dos períodos Pré-patente e Patente

Para verificar a dinâmica da infecção natural por *Cryptosporidium* sp. nas aves foi feita a quantificação dos oocistos eliminados. Foram utilizados oito patos, oito pintos e seis codornas. A metodologia utilizada foi a de quantificação dos oocistos por contagem direta em lâminas segundo McLaughlin et al. (1999). Foram contados oocistos presentes em pelo menos 30 campos da microscopia, no aumento de 40x. Após a contagem foi realizada uma estimativa de oocistos por campo, e foram classificados seguindo a Tabela 2.

3.9 Morfometria

Para a realização da morfometria dos oocistos foi utilizada uma ocular morfométrica PZO com aumento de 15x e um microscópio Olympus CH 20, sem contraste de fase. Das amostras fecais, positivas para *Cryptosporidium* sp., foi realizada a morfometria de 50 oocistos que foram analisados os diâmetros maior e menor, assim como também, foi calculado o índice morfométrico.

3.10 Análise estatística

Para a análise estatística dos dados quantitativos obtidos, foi utilizados o teste Qui-quadrado e o Fisher exato, quando recomendado. Para comparação entre os mercados municipais foi utilizado o programa estatístico Statcalc do Epiinfo, programa de análises epidemiológicas do Center of Disease Control and Prevention (DEAN et al., 2000) e teste t de student para morfometrias.

Tabela 2 - Quantificação de oocistos de *Cryptosporidium* sp. por campo de microscopia (obj. 40 x).

OOCISTOS/CAMPO	CONTAGEM
0-1 / CAMPO	+
2-5 / CAMPO	++
6-10 / CAMPO	+++
> 11 /CAMPO	++++
> 30 /CAMPO	+++++

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ocorrência da infecção natural por *Cryptosporidium* sp. em patos (*Anas platyrhynchos*) de mercados municipais

Para a avaliação da ocorrência da infecção natural por *Cryptosporidium* sp. foram coletadas amostras fecais diárias de 60 patos, sendo 30 do mercado municipal de Madureira e 30 do mercado municipal de Campo Grande. Dos animais oriundos do mercado de Madureira, 29 (96,7%) eliminavam oocistos de *Cryptosporidium* sp. e no mercado municipal de Campo Grande, 17 patos (56,7%) apresentaram oocistos nas fezes.

De acordo com estes resultados, o mercado de Madureira apresentou um maior número de animais infectados do que o mercado de Campo Grande, ocorrendo uma diferença estatisticamente significativa na ocorrência de *Cryptosporidium* sp. entre os dois mercados ($p < 0,01$), como mostra a Tabela 3.

Tabela 3 - Ocorrência de *Cryptosporidium* sp. em patos (*Anas platyrhynchos*) nos mercados municipais do Rio de Janeiro.

Localidade	%Animais Positivos (n=30)	Animais Positivos (n=30)	*p
Madureira	96,7	29	< 0,01
Campo Grande	56,7	17	

* Significativo pelo teste Qui-quadrado.

As taxas de *Cryptosporidium* infectando patos encontrados no presente trabalho foram semelhantes às encontradas na literatura. Em um estudo de infecção experimental em patos (*Anas platyrhynchos*), 100% eliminavam oocistos de *Cryptosporidium* após a inoculação, demonstrando a susceptibilidade ao parasita, nessa espécie de ave (GRACZYK et al. 1996).

Kuhn et al. (2002), observaram que patos silvestres no Novo México estavam infectados naturalmente por protozoários do gênero *Cryptosporidium*, apresentando 49 % dos animais estudados infectados, porém a maioria das infecções de aves tem sido detectada em aves domésticas.

As condições sanitárias observadas nos dois mercados não eram satisfatórias, ambos apresentando eles pouca higiene, não havendo limpeza periódica das gaiolas, sem a troca e a limpeza adequadas dos bebedouros, que ficavam dentro das gaiolas, além de não serem feitas as retiradas de fezes ou de animais mortos, aumentando o risco para aquisição da infecção.

Também foi notado que nos dois mercados ocorria a aglomeração das aves, sendo estes mantidos juntos com muitas outras espécies de animais, possíveis hospedeiras para protozoários do gênero.

Devido à diferença significativa entre os dois mercados, podem salientar que o mercado de Madureira em relação ao de Campo Grande possuía uma maior comercialização, maior

movimentação, mais aviários, tendo assim um número maior de animais, possivelmente infectados e assim conseqüentemente mais animais, possivelmente contaminando o local e assim uma maior dispersão desse protozoário pela ampla movimentação, facilitando a infecção, além da grande aglomeração, nas gaiolas, de aves e outros animais.

4.1.1 Caracterização morfométrica

Comparando-se os oocistos mensurados provenientes dos patos de Madureira e os de Campo Grande, não foram encontradas diferenças significativas nos diâmetros maiores ($p=0,09$) e menores ($p=0,16$). O índice morfométrico calculado também não apresentou diferenças significativas ($p=0,36$). Na Figura 4 (A,B,C), podem ser observados oocistos de *Cryptosporidium* provenientes de patos.

As medidas de diâmetro maior e de diâmetro menor (média e desvio-padrão) dos oocistos estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 – Dados morfométricos (média e desvio-padrão) dos oocistos de *Cryptosporidium* sp. provenientes dos Mercados Municipais do Rio de Janeiro.

Medidas	Média dos oocistos Madureira (n=50)	Média dos oocistos Campo Grande (n=50)	* p	t
Diâmetro Maior	6,1 ± 0,4	5,9 ± 0,5	0,09	1,72
Diâmetro Menor	4,5 ± 0,3	4,4 ± 0,4	0,16	1,43
Índice Morfométrico	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	0,71	0,36

* Não significativos pelo teste “t” de Student.

Esses valores são semelhantes aos limites descritos para as espécies *Cryptosporidium baileyi* na literatura, onde Current et al. (1986) demonstraram que oocistos mensurados dessa espécie mediam 6.2 x 4.6 µm (SRETER; VARGA, 2000; XIAO et al. 2004).

Assim é sugerido que uma mesma espécie de *Cryptosporidium* poderia estar infectando patos nos dois mercados municipais estudados, mas para resultados mais confiáveis, seria necessária a caracterização molecular dos isolados provenientes dessas aves, devido à alta variação dentro de uma mesma espécie e também pela igualdade morfométrica entre algumas espécies de *Cryptosporidium* (XIAO et al. 2004; EYGED et al. 2003).

4.1.2 Período pré-patente e patente

Foram selecionados oito patos que apresentaram a infecção no segundo e oitavo dias pós-

aquisição e período patente de 26 - 46 dias, picos de eliminação foram dois, 6° - 10° dias e o no 26° dia. A dinâmica está mais detalhada na Figura 5.

Esses resultados estão compatíveis com os encontrados por Graczyk et al. (1996) e Lindsay et al. (1989), onde o período pré-patente foi de dois dias, porém Rhee et al. (1995), encontraram o período pré-patente de 3-4 dias e patente de 4 –21 dias. O pico de eliminação começou no dia 14° e no 21° dias, após isso não apresentou mais oocistos nas fezes, cessando assim a infecção.

Essa variação de indivíduo para indivíduo na dinâmica da eliminação de oocistos de *Cryptosporidium* já foi relatada por Graczyk et al. (1995), já que animais infectados naturalmente, geralmente não apresentam uma padronização da infecção, como é mostrado em muitos trabalhos com infecção experimental. Em animais infectados experimentalmente há exposição a uma única dose de inoculo, porém animais infectados naturalmente podem ingerir oocistos de *Cryptosporidium* continuamente ou intermitentemente e assim conseqüentemente sua eliminação pode variar do padrão observado em resultados de trabalhos com infecção experimental.

4.2 Ocorrência da infecção natural por *Cryptosporidium* sp. em codornas (*Coturnix japonica*) domésticas comercializados em mercados municipais

Para a avaliação da ocorrência da infecção natural por *Cryptosporidium* sp. foram coletadas amostras fecais diárias de 60 codornas, 30 do mercado de Madureira e 30 do mercado de Campo Grande. Das aves oriundas do mercado de Madureira 20 animais (66,66%) eliminavam oocistos de *Cryptosporidium* sp., já do mercado municipal de Campo Grande, 13 animais (43,33%) apresentaram oocistos de *Cryptosporidium* sp. nas fezes.

Achados da infecção em codornas já foram documentados na literatura. Morgan et al. (2001), em estudos moleculares encontraram positividade para *Cryptosporidium* em isolados de codornas, comprovando a susceptibilidade dessas aves ao protozoário.

No caso particular das codornas, não houve uma diferença estatisticamente significativa na ocorrência de *Cryptosporidium* sp. entre os dois mercados (p=0,069) como pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5 – Ocorrência de *Cryptosporidium* sp. em codornas (*Coturnix japonica*) nos mercados municipais do Rio de Janeiro.

Localidade	%Animais Positivos (n= 30)	Animais Positivos (n= 30)	* p
Madureira	66,66	20	0,069
Campo Grande	43,33	13	

* Não significativo pelo teste Qui-quadrado

Isso pode ter ocorrido pelo fato de codornas serem comercializadas com uma idade maior que pintos e patos. Pintos e patos são comercializados no máximo com uma semana de idade,

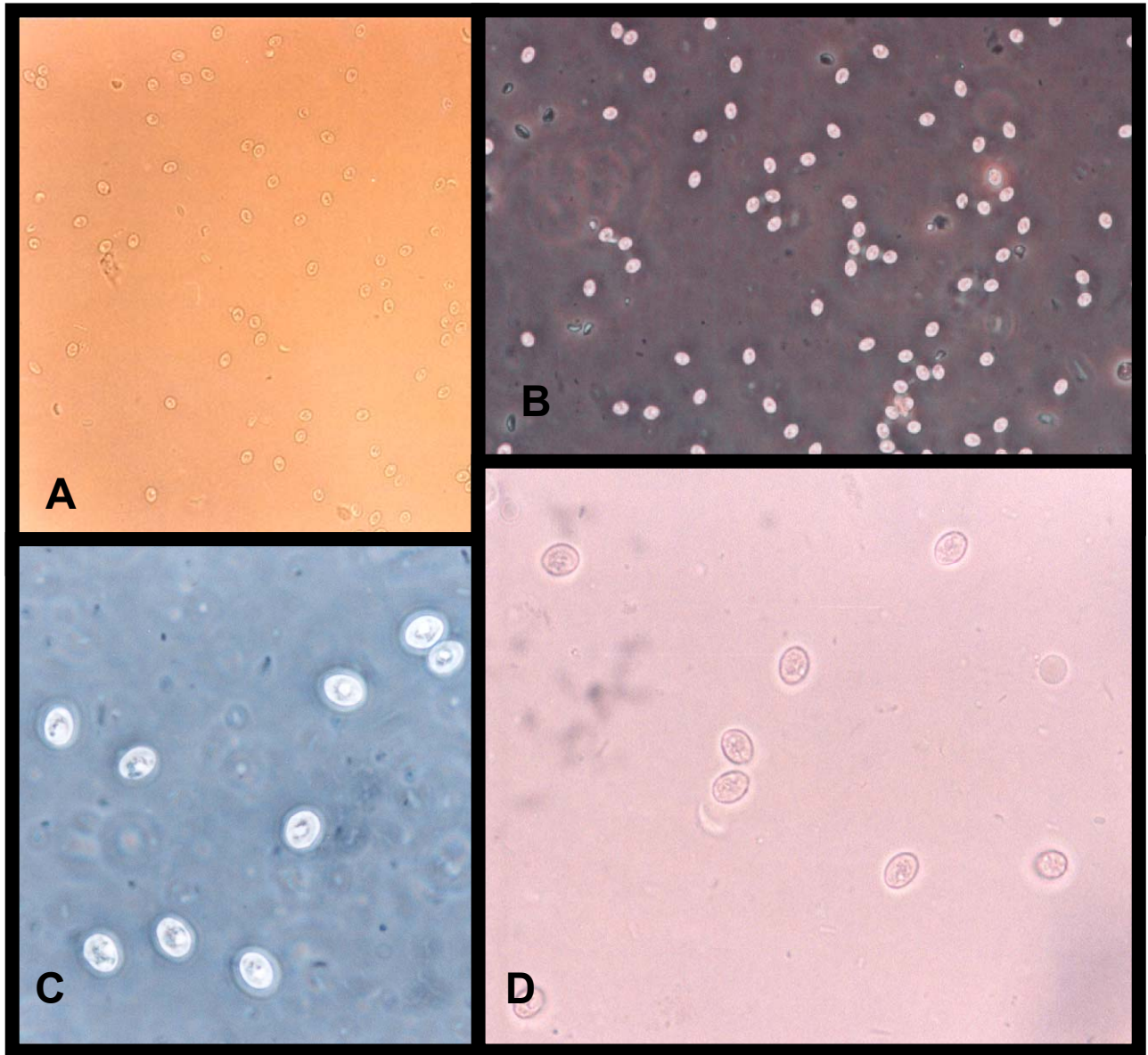


Figura 4 Oocistos de *Cryptosporidium* sp. provenientes de patos observados em solução saturada de açúcar, em microscopia óptica sem contraste (A); com contraste de fase (B) (40 x); em contraste de fase (C) (100x); oocistos de *Cryptosporidium* sp. provenientes de codornas observados em contraste de fase (D) ; oocistos de *Cryptosporidium* sp. provenientes de codornas observados em campo claro (100 x).

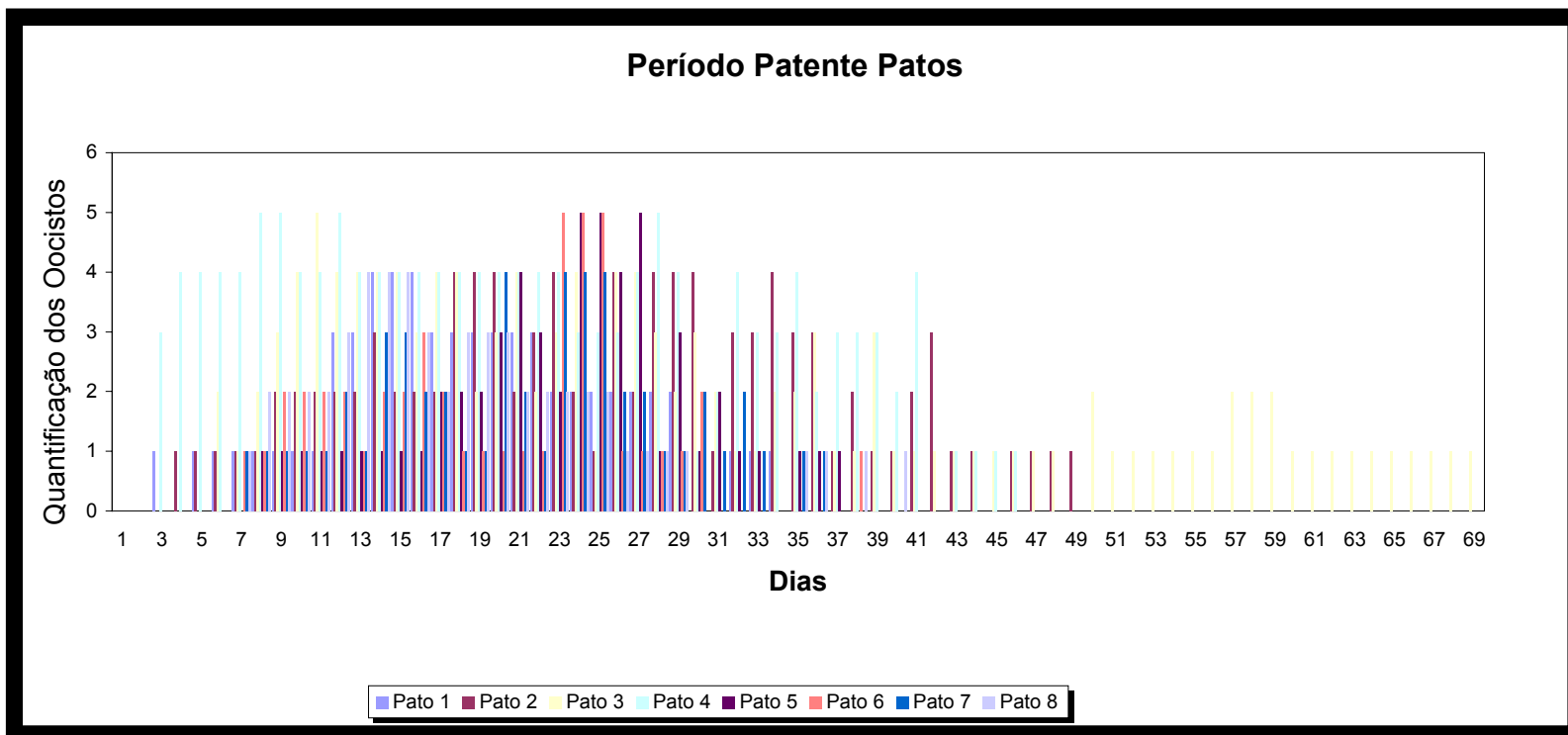


Figura 5 Dinâmica da infecção por *Cryptosporidium* sp. observada em oito patos dos mercado municipais estudados

porém codornas somente após 30 dias, já que é muito comum a alta mortalidade dessas com idade inferior. Assim pode ter ocorrido a infecção provavelmente nos locais de criação de origem, sendo que, a maioria das codornas pesquisadas, já haviam passado pelo período patente, não eliminando mais oocistos ou estando aptas a combater novas infecção devido a sua resposta imune.

Assim as taxas de infecção já não retratam mais apenas a influência dos locais de comercialização das aves, mas sim a influência da idade e a capacidade da codorna resistir à infecção, gerando uma certa uniformização da ocorrência.

4.2.1 Caracterização morfométrica

Os oocistos mensurados provenientes das codornas de Madureira e de Campo Grande não mostraram diferenças significativas no diâmetro maior ($p=0,25$), porém as medidas de diâmetro e índice morfométrico calculado apresentaram diferenças significativas ($p < 0,01$). Oocistos provenientes de codornas podem ser observados na Figura 4-D.

As medidas de diâmetro maior e de diâmetro menor (média e desvio-padrão) dos oocistos encontrados em codornas estão descritas na Tabela 6.

Tabela 6 - Dados morfométricos (média e desvio-padrão) dos oocistos de *Cryptosporidium* sp. de codornas (*Coturnix japonica*) provenientes de mercados Municipais do Rio de Janeiro.

Medida	Média dos oocistos Madureira (n=50)	Média dos oocistos Campo Grande (n=50)	p	t
Diâmetro Maior	6,0 ± 0,5	6,2 ± 0,4	0,29 ¹	-1,16
Diâmetro Menor	5,1 ± 0,6	4,6 ± 0,3	0,01 ²	3,62
Índice Morfométrico	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,1	0,01 ²	-4,24

¹ Não significativo pelo teste “t” de Student.

² Significativos pelo teste “t” de Student.

As diferenças observadas poderiam estar relacionadas ao fato proposto por Mallon et al., 2003, que sugerem que o protozoário é capaz de recombinações intra-específicas, em seu estágio sexuado, fazendo com que vários subtipos provenientes de uma mesma espécie apareçam nessas aves, assim as medidas poderiam ser diferentes, porém se trataria de subtipos de uma mesma espécie.

Apesar das diferenças observadas estatisticamente para medidas de diâmetro maior e menor, esses valores são semelhantes aos encontrados por Current et al. (1986) e Fayer et al. (2000) para *Cryptosporidium baileyi*.

Análises de sequenciamento do gene 18SrDNA revelaram que isolados de *Cryptosporidium* provenientes de codornas foram 100% idênticas a *C. baileyi* (6.2 x 4.5 µm),

sendo que os oocistos mensurados no presente trabalho também se aproximam às medidas desses isolados (MORGAN et al.,2001).

4.2.2 Período Pré-patente e patente

Foram selecionadas seis codornas, sendo que duas eliminavam oocistos no primeiro dia da aquisição e duas no terceiro dia pós-aquisição. O período de eliminação foi do 12° ao 13° dias o que se refere ao período patente da infecção. O pico de eliminação foi no 10° e 12° dias. A dinâmica da infecção está mais bem detalhada na Figura 6.

Esses achados são semelhantes aos encontrados na literatura para frangos, sendo que variavam de 2-3 dias para período pré-patente e de 4°-18° dias período patente. O pico de eliminação ocorrendo entre o 9°-12° dias (MEIRELES et al. 1995; MEIRELES et al. 1998; RHEE et al. 1996).

4.3 Ocorrência da infecção natural por *Cryptosporidium* sp. em pintos (*Gallus gallus*) de mercados municipais

Foram coletadas amostras fecais diárias de 60 pintos, sendo 30 do mercado de Madureira e 30 do mercado de Campo Grande. No mercado de Madureira, 30 animais (100%) eliminavam oocistos de *Cryptosporidium* sp, já no mercado municipal de Campo Grande, 22 animais (73,33%) apresentaram oocistos de *Cryptosporidium* sp. nas fezes.

Assim como foi demonstrado em patos, o mercado de Madureira apresentou um número maior de pintos infectados do que o mercado de Campo Grande, tendo uma diferença estatisticamente significativa na ocorrência de *Cryptosporidium* sp. entre os dois mercados ($p < 0,01$), como mostra a Tabela 7.

Tabela 7- Ocorrência de *Cryptosporidium* sp. em pintos nos mercados municipais do Rio de Janeiro.

Localidade	% Animais Positivos (n=30)	Animais Positivos (n=30)	* p
Madureira	100	30	0,01
Campo Grande	73,33	22	

* Significativo pelo teste Qui-quadrado

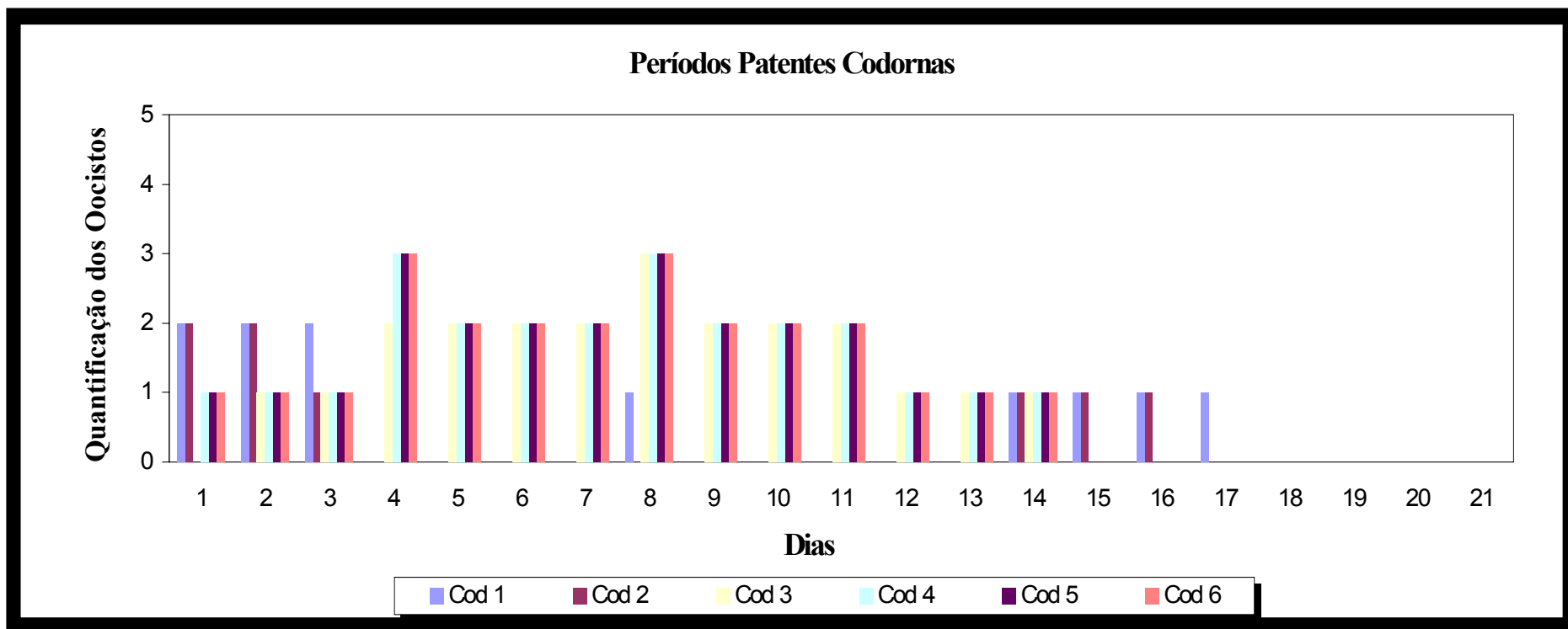


Figura 6 Dinâmica da infecção por *Cryptosporidium* sp. em pintos provenientes de mercados municipais do Rio de Janeiro.

Como em patos, as causas epidemiológicas para esses resultados podem estar associadas à deficiência nas condições sanitárias desses animais no local de aquisição dos mesmos.

Em ambos os mercados a aglomeração dos animais era visível, além da mistura de várias espécies de hospedeiros susceptíveis à infecção pelo *Cryptosporidium* que eram acondicionadas juntas na mesma gaiola ou em gaiolas diferentes.

As fezes provenientes de uma gaiola, facilmente caíam para a outra. Sendo que no mercado de Madureira esses fatores estavam bem mais acentuados, podendo assim sugerir que o aumento da porcentagem da infecção pode ter sido provavelmente pelo aumento da exposição aos fatores de risco presentes nesse mercado.

4.3.1 Caracterização morfométrica

4.3.1.1 Comparação morfométrica entre oocistos de *Cryptosporidium* em amostras provenientes do mercado de Madureira

Na análise morfológica, foi observada diferença no tamanho de oocistos provenientes dos pintos do mercado municipal de Madureira. Para confirmação dessa diferença foi feita a análise morfométrica. Essa por sua vez também apresentou diferenças que foram confirmadas estatisticamente. Os oocistos mensurados provenientes dos pintos de Madureira mostraram diferenças significativas no diâmetro maior, menor e no índice morfométrico calculado. Oocistos de *Cryptosporidium* provenientes de pintos de Madureira podem ser observados na Figura 7- A, B e C.

As medidas dos diâmetros maiores e menores (média e desvio-padrão) dos oocistos estão descritas na Tabela 8.

As medidas encontradas nesse trabalho, podem ser comparadas aos oocistos mensurados por Arrowood, (1997), que encontrou 5.2 x 4.3 µm e índice morfométrico de 1.0-1.3 caracterizando como oocistos de *Cryptosporidium meleagridis*. Outras mensurações foram encontradas por Current et al. (1986) que teve semelhanças as medidas para *C. baileyi* (6.2 x 4.5 µm).

Tabela 8 - Dados morfométricos (média e desvio-padrão) dos oocistos de *Cryptosporidium* sp. de pintos (*Gallus gallus*) provenientes do Mercado Municipal de Madureira, Rio de Janeiro.

Medidas	Média dos oocistos Tamanho grande (n=50)	Média dos oocistos Tamanho pequeno (n=50)	* p	t
Diâmetro Maior	5,8 ± 0,7	4,8 ± 0,6	0,00	6,37
Diâmetro Menor	4,6 ± 0,4	3,4 ± 0,8	0,00	8,47
Índice Morfométrico	1,3 ± 0,2	1,5 ± 0,4	0,00	-4,04

* Não significativos pelo teste “t” de Student.

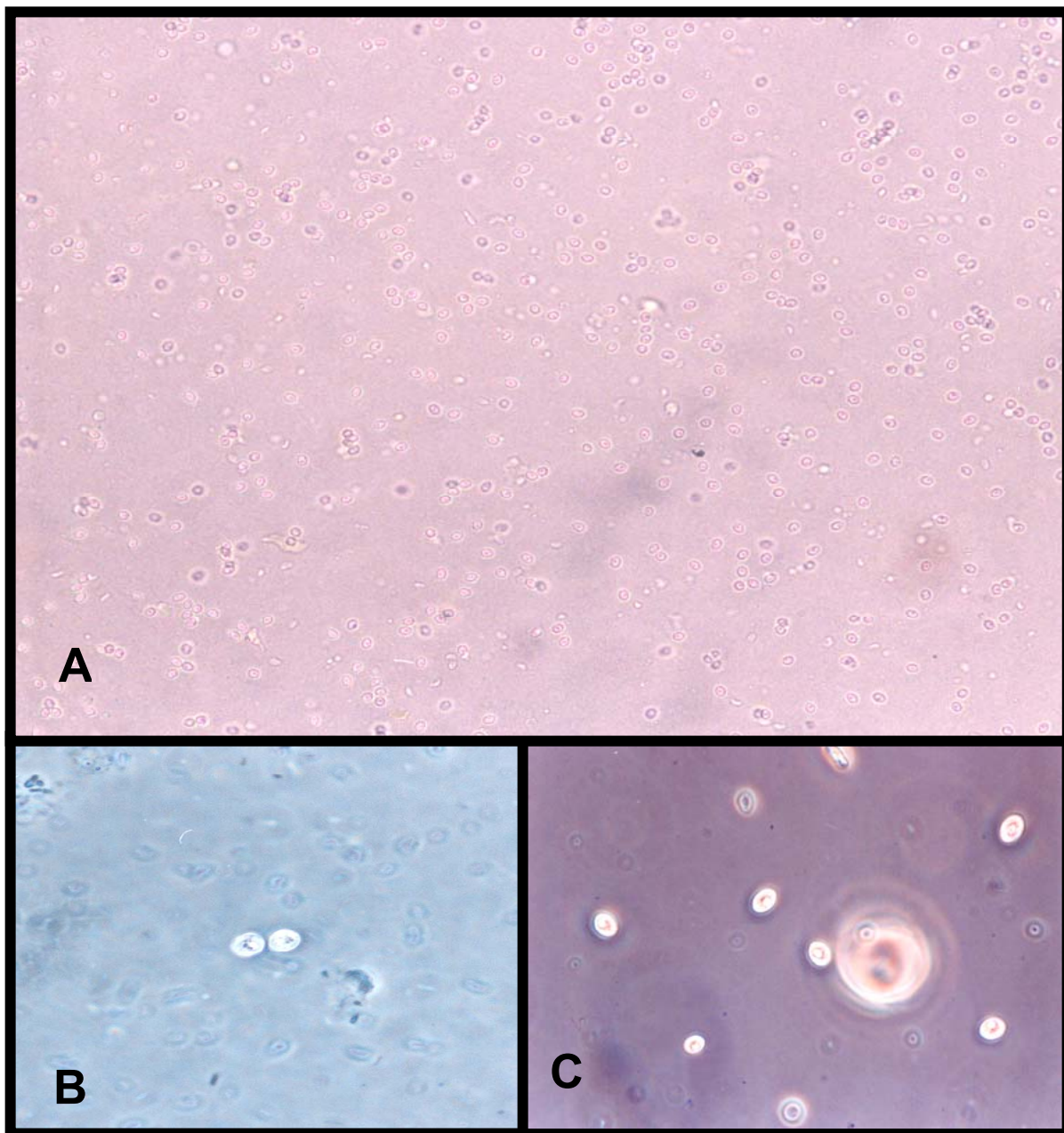


Figura 7 Oocistos de *Cryptosporidium* sp. provenientes de pintos observados em solução saturada de açúcar, em microscopia sem contraste (A) (40X) e com contraste de fase (B e C) (100X).

Apesar de Sréter e Varga (2000) documentar que oocistos de *Cryptosporidium baileyi* e *C. meleagridis* possam ser distinguidos com base na morfometria, não podemos determinar a espécie somente se baseando na morfometria, mas também deve ser feita a caracterização das espécies pela biologia molecular (EYGED et al. 2003).

4.3.1.2 Comparação morfométrica entre amostras provenientes do mercado de Madureira e Campo Grande

As medidas dos oocistos provenientes dos pintos do mercado de Campo Grande e Madureira foram comparadas. Para a comparação da morfometria, oocistos foram denominados em grandes e pequenos. Supostamente, os grandes se assemelhavam à espécie *Cryptosporidium baileyi*, encontrados em pintos de Madureira e não houve diferença significativa (Tabela 9). Porém para a morfometria dos oocistos ditos pequenos, supostamente se assemelharam as espécies *C. meleagridis* e foram encontradas diferenças estatisticamente significativas (Tabela 10) entre essas duas localidades e com relação ao tamanho.

Assim, morfometricamente a espécie de *Cryptosporidium* que acometia pintos no mercado de Campo Grande se assemelha mais a descrita por Current et al. (1986), medindo 6.2 x 4.5 µm, caracterizada como *C. baileyi*. Assim como também, não se devem comparar somente médias e sim as medidas individuais dos oocistos. Porém para confirmação definitiva de espécie, serão necessários mais estudos, baseados na biologia molecular, de isolados provenientes dos mercados.

Tabela 9 - Dados morfométricos (média e desvio-padrão) dos oocistos considerados como grandes de *Cryptosporidium* sp. de pintos (*Gallus gallus*), provenientes do mercado municipal de Madureira e do mercado municipal de Campo Grande, Rio de Janeiro.

Medidas	Média oocistos Madureira (n=50)	Média oocistos Campo Grande (n=50)	* p	t
Diâmetro Maior	5,8 ± 0,7	5,8 ± 0,7	0,95	0,58
Diâmetro Menor	4,8 ± 0,4	4,7 ± 0,5	0,79	-0,26
Índice Morfométrico	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,1	0,71	0,37

* Não significativos pelo teste “t” de Student.

Tabela 10– Dados morfométricos (média e desvio-padrão) dos oocistos pequenos de *Cryptosporidium* sp. de pintos (*Gallus gallus*) provenientes do mercado municipal de Madureira e do mercado municipal de Campo Grande, Rio de Janeiro.

Medidas	Média dos oocistos Madureira (n=50)	Média dos oocistos Campo Grande (n=50)	* p	t
Diâmetro Maior	4,8 ± 0,6	5,8 ± 0,7	0,00	-6,39
Diâmetro Menor	3,4 ± 0,8	4,7 ± 0,5	0,00	-8,33
Índice Morfométrico	1,5 ± 0,4	1,3 ± 0,1	0,00	4,43

* Significativos pelo teste “t” de Student.

4.3.1.3 Período Pré-patente e patente

Os oito pintos observados apresentaram período pré-patente de dois a três dias. O período patente durou do 12° ao 14° dias. Ocorreram dois picos de eliminação, um no terceiro dia e outro do 9° ao 11° dia. A dinâmica da eliminação dos oocistos encontra-se bem detalhada na Figura 8.

Esses achados são semelhantes aos encontrados na literatura, que variaram de 2-3 dias para o período pré-patente e de 4°-18° dias para o período patente. O pico de eliminação descrito foi de 9°-12° dias (MEIRELES et al. 1995; MEIRELES et al. 1998; RHEE et al. 1996).

4.4 Biologia comparada da criptosporidiose nas três espécies de aves: patos (*Anas platyrhynchos*), codornas (*Coturnix japonica*) e pintos (*Gallus gallus*)

4.4.1 Comparação da ocorrência de *Cryptosporidium* sp. em patos (*Anas platyrhynchos*), codornas (*Coturnix japonica*) e pintos (*Gallus gallus*)

Na comparação da ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* sp. por ave infectada dos mercados municipais do Rio de Janeiro, foram encontrados diferenças na ocorrência entre patos, codornas e pintos, sendo que estes últimos o número de animais parasitados foi maior. Os resultados estão descritos na Tabela 11. De acordo com esses resultados, pintos se mostraram mais susceptíveis quando comparados às outras espécies de aves estudadas e codornas se mostraram menos susceptíveis. Na comparação da ocorrência da infecção entre patos e pintos observamos resultados semelhantes aos encontrados por Lindsay et al. (1989), que observaram, em estudos de infecção experimental, que pintos foram mais susceptíveis a infecção por *Cryptosporidium* sp. do que patos.

A variação intraespecífica é bem relatada na literatura, onde muitos autores afirmam que cada indivíduo possuiu uma imunidade específica e reage à infecção de formas diferentes (HORNOK et al., 1998b).

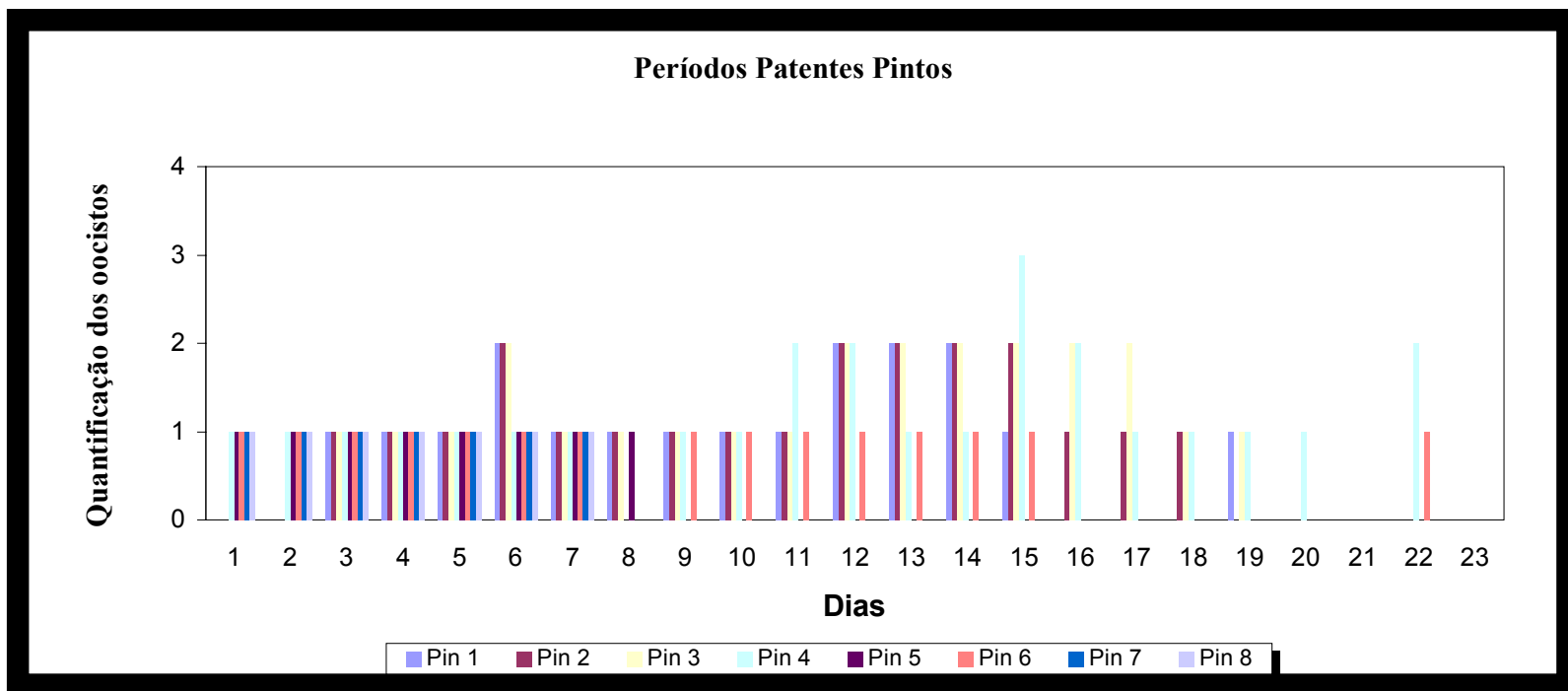


Figura 8 Dinâmica da infecção por *Cryptosporidium* sp. em pintos provenientes de mercados municipais do Rio de Janeiro

Tabela 11 – Comparação da ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* em patos, codornas e pintos adquiridos de mercados municipais no Rio de Janeiro.

Animais	Animais positivos	% Animais positivos
Patos	47	78,3%
Codornas	33	55%
Pintos	52	86,6%

Porém, a variação interespecífica, pode ser observada em indivíduos de espécies diferentes, já que cada espécie de ave pode reagir de forma diferente, apresentando maior ou menor susceptibilidade à infecção por diferentes patógenos, assim como foi apresentado nos resultados do presente trabalho, possivelmente pode ter ocorrido o mesmo.

Em relação à diferença entre a ocorrência para codornas, que apresentou a menor taxa de infecção, pode-se sugerir que a causa desse resultado foi a variação de idade entre essas espécies, onde codornas são comercializadas mais velhas comparando-se as outras espécies de aves e conseqüentemente, apresentam sistema imunológico mais desenvolvido, assim se apresentam mais resistentes à infecção por *Cryptosporidium* sp. que os outros animais. Esse fato também foi observado por Tumová et al. (2002), onde animais mais velhos apresentaram maior resistência à infecção, pois possuem sistema imunológico competente.

4.4.2 Comparação das morfometrias de *Cryptosporidium* sp. de patos (*Anas platyrhynchos*), codornas (*Coturnix japonica*) e pintos (*Gallus gallus*)

De acordo com os dados de morfometria dos oocistos, encontrou-se em todas as espécies de aves desse estudo, oocistos que poderíamos denominar *Cryptosporidium baileyi*. Já que todas as três espécies de aves estudadas apresentaram esses oocistos que são morfologicamente idênticos. Foram realizadas análises estatísticas das medidas morfométricas, com a finalidade de verificar alguma variação de tamanho dos oocistos provenientes das diferentes espécies hospedeiras. A comparação entre as morfometrias está detalhada nas Tabelas 12, 13 e 14.

Na comparação entre morfometrias de patos e pintos podem ser observadas diferenças, que podem ser vistas na Tabela 12. Houve diferenças estatísticas entre as mensurações feitas para os oocistos de *Cryptosporidium* encontradas em patos e pintos dos mercados municipais do Rio de Janeiro. Medidas dos diâmetros maiores e menores apresentaram diferenças ($p < 0,01$ e $0,016$ respectivamente), assim como para o índice morfométrico calculado ($p < 0,01$). Já para comparação entre morfometrias de patos e codornas, foram encontradas diferenças entre medidas.

Tabela 12 - Comparação morfométrica entre amostras provenientes de patos (*Anas platyrhynchos*) e pintos (*Gallus gallus*) dos mercados municipais.

Comparação das medidas (n=100)	t	* p
Diâmetro Maior	6,35	<0,01
Diâmetro Menor	-2,44	0,016
Índice Morfométrico	4,29	<0,01

* Significativos pelo teste “t” de Student.

Tabela 13 - Comparação morfométrica entre amostras provenientes de patos (*Anas platyrhynchos*) e codornas (*Coturnix japonica*) dos mercados municipais.

Comparação das medidas (n=100)	t	* p
Diâmetro Maior	-1,57	0,12 ¹
Diâmetro Menor	-5,01	< 0,01 ²
Índice Morfométrico	2,89	< 0,01 ²

¹ Não significativo pelo teste “t” de Student.

² Significativos pelo teste “t” de Student.

Tabela 14 - Comparação morfométrica entre amostras provenientes de pintos (*Gallus gallus*) e codornas (*Coturnix japonica*) dos mercados municipais.

Comparação das medidas (n=100)	t	* p
Diâmetro Maior	-1,64	0,11
Diâmetro Menor	-1,81	0,07
Índice Morfométrico	0,99	0,32

* Não significativo pelo teste “t” de Student.

Na Tabela 13, podemos observar que para as medidas do diâmetro maior não houve diferenças estatísticas ($p=0,12$), porém para as medidas de diâmetro menor e índice morfométrico calculado, houve diferenças significativas ($p<0,01$).

As causas para essa diferença poderiam ser as mesmas encontradas em estudos de morfometria em oocistos de espécies do gênero *Eimeria*. O trabalho de Joyner (1982) relatou uma variação individual de medidas de oocistos entre uma mesma espécie de *Eimeria* em diferentes indivíduos hospedeiros. Ele afirma que há uma alta tendência dos oocistos apresentarem diferenças de tamanho (Diâmetro maior e menor), o que é atribuído ao fato de diversos mecanismos imunes do próprio hospedeiro que causam deformações nos oocistos, que conseqüentemente não teriam medidas constantes e sim poderiam diferir no tamanho de suas medidas, porém não na forma (índice morfométrico).

Assim para as diferentes espécies de aves estudadas essas diferenças entre as medidas poderiam ter sido geradas pelo sistema imune de cada uma delas para tentar controlar a infecção por *Cryptosporidium* sp.

Para comparações entre pintos e codornas não foram observadas diferenças entre as mensurações. Na Tabela 14, podemos observar que para as medidas de diâmetro maior não houve diferenças estatísticas ($p=0,12$), assim como também para o diâmetro menor e índice morfométrico ($p<0,01$).

Nesse trabalho, fica um questionamento: será que não poderia ocorrer esta variação individual que modificaria o tamanho do oocisto de *Cryptosporidium*? Fato este observado por Joyner (1982) em oocistos de *Eimeria*.

O fato de Joyner (1982) ter encontrado essas diferenças nas medidas de mesmas espécies em diferentes hospedeiros poderia está relacionada a variação imunológica individual de cada espécie. Nesse estudo, observou-se que as medidas comparativas entre patos (Anseriformes), pintos e codornas (Galliformes) mostraram diferenças significativas quando comparados somente a patos, entre espécies pertencente a uma mesma ordem não houve diferenças. Assim, poderíamos sugerir que espécies de hospedeiros pertencentes a diferentes ordens, poderiam possuir resposta imunológica diferente e espécies pertencentes a uma mesma ordem, semelhança na ação do sistema imunológico.

4.4.3 Período pré-patente e patente

Para o período pré-patente não foi verificada uma diferença marcante entre as diferentes espécies hospedeiras de aves, que apresentaram períodos semelhantes, ou seja, de 2-3 dias.

Para comparação dos períodos patentes de infecção entre as espécies hospedeiras estudadas, foi observado que patos apresentaram um maior período patente, chegando a eliminar oocistos nas fezes por até 46 dias e ainda mostraram um pico de eliminação de oocistos com maior concentração de oocistos por campo, na contagem direta por lâmina, havendo dois picos de eliminação. Esse fato poderia tornar essa espécie de ave uma alta fonte de contaminação ambiental, no caso particular do estudo, contaminação de mercados municipais e criações de fundo de quintal, bem como o domicílio, gerando risco de infecção a outros animais e até mesmo ao próprio homem.

Para codornas e pintos, pode-se observar uma eliminação semelhante, não havendo muita diferença entre as concentrações de eliminação e o período de eliminação dos oocistos, sugerindo que pintos e codornas podem apresentar períodos patente e níveis de oocistos nas fezes equivalentes, porém, também são fontes de contaminação ambiental, tanto em mercados municipais quanto em criações de fundo de quintal e gerando risco para infecção por *Cryptosporidium* sp. em humanos, devido ao fato de serem também adquiridos para servirem como animais de estimação, principalmente pintos.

5 CONCLUSÕES

- 1- A infecção natural por protozoários do gênero *Cryptosporidium* ocorreu em aves domésticas, patos, pintos e codornas, comercializadas em dois mercados municipais no Rio de Janeiro. As aves comercializadas no mercado de Madureira apresentaram mais freqüentemente infectadas que aquelas do mercado de Campo Grande.
- 2- Fatores de risco associados à infecção por *Cryptosporidium* sp. estavam presentes nos dois mercados estudados.
- 3- Patos, pintos e codornas podem ser disseminadores de criptosporidiose em mercados municipais, criações domésticas e/ ou subsistência dentro do município do Rio de Janeiro, assim como também podem constituir risco para infecção de humanos principalmente para crianças, tratadores, comerciantes e freqüentadores do local.
- 4- A infecção por *Cryptosporidium* sp. em patos apresentou um maior período patente, com altas concentrações de oocistos nas fezes, comparado a pintos e codornas, sendo um possível importante disseminador de criptosporidiose em mercados municipais.
- 5- Houve diferenças entre as medidas provenientes dos diferentes hospedeiros para infecção de *Cryptosporidium* sp. que podem estar relacionada a modificação imposta pelo sistema imune de cada grupo de aves, variando assim a biometria dos oocistos.
- 6- Mais estudos devem ser realizados para elucidação de fatores de risco associados a infecção por *Cryptosporidium* sp., assim como também estudos de caracterização molecular dos diferentes isolados para a identificação de espécie (s) envolvida (s) nesses ambientes de comercialização.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ-PELLITERO, P., SITJA-BOBADILLA, A. *Cryptosporidium molnari* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting two marine fish species, *Sparus aurata* L. and *Dicentrarchus labrax* L. *International Journal for Parasitology*, v. 32, n. 8, p. 1007-1721, 2002.

ARROWOOD, M. J. Diagnosis. IN : FAYER, R. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. CRC Press: Washington, p. 43-60, 1997.

ARROWOOD, M.J.; STERLING, C. R. Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibodies-based methods for *Cryptosporidium* oocyst detection. *Journal of Clinical Microbiology*, v.27, p. 1490-1495, 1989.

CAMA, V.A.; BERN, C.; GIMAN, R.H.; TICONA, E.; VIVAR, A.; KAWAI, V.; VARGAS, D.; XIAO, L. *Cryptosporidium* species and genotypes in HIV-positive patients in Lima, Peru. *Journal of Eucaryotic Microbiology*, v.50, suppl., p.531-533. 2003.

CAMPBELL, A.T.; ROBERTSON, L.J.; SMITH, H.V. Detection of oocysts of *Cryptosporidium* by enhance chemiluminescence. *Journal of Microbiological Methods*, v. 17, n.9, p.297-303, 1993.

CAUSAPÉ, A.C.; QUILEZ, J.; SANCHEZ-ACEDO, C.; DEL CACHO, E.; LOPEZ-BENAD, F. Prevalence and analysis of potencial risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (Northeastern Spain). *Veterinary Parasitology*, v. 104, n. 4, p.357-362, 2002.

CURRENT, W.L.; UPTON, S.J.; HAYNES, T.B. The life cycle of *Cryptosporidium baileyi*, n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting chickens. *Journal of Protozoology*, v.33, n.2, p.289, 1986.

CURRENT, W.L.; GARCIA, L.S. Cryptosporidiosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 4, n. 3, p.325-358, 1991.

DEAN, A. G.; ARNER, T. G.; SANGAN, S.; SUNKI, G. G.; FRIEDMAN, R.; LANTINGA, M.; ZUBIETA, J.C.; SULLIVAN, K. M.; SMITH, D. C. EpiInfo 2000, a database and statistics program for public health professionals for use on Windows 94, 98, NT and 2000 Computers. Atlanta: Center for Disease Control and Prevention, 2000.

EYGED, Z.; SRÉTER, T.; SZÉLL, Z.; VARGA, I. Characterization of *Cryptosporidium* spp. – recent developments and future needs. *Veterinary Parasitology*, v. 111, p.103-114, 2003.

FAYER, R. UNGAR, B.L.P. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 50, n. 2-3, p.458-485, 1986.

FAYER, R. *Cryptosporidium spp. and cryptosporidiosis*. Boca raton, Florida : CRC Press, 1997, 251p.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S.J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: Transmission, detection and indetification. *International Journal for Parasitology*, v.30, n. 1-2, p.1305-1322, 2000

FAYER, R., TROUT, J.M.; XIAO, L.; MORGAN, U.M., LAI, A.A.; DUBEY, J.P. *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. *Journal Parasitology*, v.87, n. 6, p. 1415-1422, 2001.

FAYER, R. *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*).*Journal Parasitology*, v.91, n. 3, .624-629, 2005.

GAJADHAR, A.A.. Host specificity studies and oocyst description of a *Cryptosporidium* sp. isolated from ostriches. *Parasitology Research*, v. 80, n.4, p.316-319, 1994.

GARBER, L.P.; SALMAN, M.D.; HUIRD, H.S.; KEEFE, T.; SCHLATER, J.L.; Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. *Journal Am Vet Med Assoc.*, v. 205, n.1, p.89-91, 1994.

GASSER, R.B.; O'DONOUGHUE, P. J. Isolation propagation and characterization of . *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*, v.29, n. 9, p.1379-1413, 1999.

GOBEL, E. BRANDLER, U. Ultrastruture of microgametogenesis microgametes and gametogony of *Cryptosporidium* sp. in the small intestine of mice. *Protistologica*, v.18, p.331-334, 1982.

GRACZYK, T.K.; CRANFIELD, M.R.; FAYER, R.; ANDERSON, M.S. Viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts are retained upon intestinal passage though a refratory avian host. *Applied and Enviromental Microbiology*, v.62, n. 9, p.3234-3237, 1996.

GRACZYK, T.K.; FAYER, R.; TROUT, J.M.; LEWIS, E.J.; FARLEY, C.A.; SULAIMAN, I.; LAL, ALTAF, A.A. *Giardia* so. Cysts and infections *Cryptosporidium parvum* oocysts in the feces of migratory Canada Geese (*Branta canadensis*). *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, n. 7, p.2736-2738, 1998.

GUYOT, K.; FOLLET-DUMOULIN, A.; RECOURT, C.; LELIEVE, E.; CAILLIEZ, J.C.; DEI-CAS, E. PCR-restriction fragment lenght polymorphism analysis of a diagnostic 452-base-pair DNA fragment discriminates between *Cryptosporidium parvum* and *C. meleagridis* and beteween *C. parvum* isolates of human and animal origin. *Appllied Enviromental Microbiology*, v.68, n. 4, p. 2017-2076, 2002.

HOAR, B.R.; ATWILL, E.R.; ELMI, C.; FARVER, T.B. Na examination of risk factors associated with beef cattle shedding pathogens of potential zoonotic concern. *Epidemiology Infections*, v.127, n.1 ,p.147-155, 2001.

- HOER, F.J.; CURRENT, W.L.; HAYNES, T.B. Fatal cryptosporidiosis in quail. *Avian Diseases*, v. 30, n.2, p.421-423, 1986.
- HORNOK, S.; BITAY, Z.; SZÉLL, Z.; VARGA, I. Assessment of maternal immunity to *Cryptosporidium baileyi* in chickens. *Veterinary Parasitology*, v.79, n.3, p.203-212, 1998a.
- HORNOK, S.; HEIJMANS, J.F.; BEKESI, L.; PEEK, H.W.; KOVACS, D.M.; DRÉN, C.; VARGA, I. Interection of chicken anaemia virus and *Cryptosporidium baileyi* in experimentally infected chickens. *Veterinary Parasitology*, v.76, n.1-2, p.43-55, 1998b.
- HUBER 2003, F. Comparação entre a infecção natural por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. em cães e gatos sob dois sistemas de criação, Seropédica, RJ: *Tese de Mestrado Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*. 2003. 53p.
- HUNTER, P.R.; THOMPSON, R.C.A. The a zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*, v.35, n. 11-12, p.1811-1190, 2005.
- JELLISON, K.L.; DISTEL, D.L.; HEMOND, H.F.; SCHAUER, D.B. Phylogenetic analisys of the hypervariable region of the 18S r RNA gene of *Cryptosporidium* oocysts in feces of Canada Geese (*Branta canadensis*): Evidence for five novel genotypes. *Applied Enviroumental Microbiology*, v. 70, n. 1, p.452-458, 2004.
- JOACHIM, A. Human Cryptosporidiosis : a update with special emphasis on the situation in Europe. *Journal Veterinary Medicine*, v.51, p.251-259, 2004.
- JOYNER, L.P. The Biology of Coccidia. Baltimore: Univ. Park Press, 1982, 502 p.
- KIM, Y.; HOWERT, E.W.; SHIN, N.S.; KNON, S.W.; TERRELL, S.P.; KIM, D.Y. Disseminated visceral coccidiosis and cloacal cryptosporidioseis in a Japanese white-naped crane (*Grus vipio*). *Journal for Parasitology*, v.91, n. 1, p.199-201, 2005.
- KOUDA, J. ; NOHYNKOVÁ, E. ,1995. *Giardia* in humans and animals. IN : KREIER, J.P. Parasitic protozoa. 2^a. Ed. v. 10. Academic press : san Diego, p. 225-422, 1995.
- KOUDELA, B., MODRY, D., VITOVEC J. Infectivity of *Cryptosporidium muris* isolated from cattle. *Veterinary Parasitology*, v.76, n.3 , p. 181-188, 1998.
- KUHN. R.C.; ROCK, C.M.; OSHIMA, K.H. Ocurrance of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild ducks alongs the Rio Grande River Valley in Southern New Mexico. *Applied and Evironmental Microbiology*, v. 68, n. 1, p.161-165, 2002.
- LÉGER, *Caryospora simplex*, Coocidie monosporeé et la classification des coccidies. *Archiv fur Protistenkunde*, n.22, p.71-88, 1911.

- LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; SUNDERMANN, C.A.; HOERR, F.J. Experimental infections in domestic ducks with *Cryptosporidium baileyi* isolated from chickens. *Avian diseases*, v. 33, n. 1, p. 60-73, 1989
- LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; HOERR, F.J.; SMITTH, P.C. Cryptosporidiosis in zoo and pet birds. *Journal Protozoology*, v.38, n. 6, p.180 S-1S, 1990
- LINDSAY, D.S.; UPTON, S.J.; OWENS, D.S.; MORGAN, U.M. *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. *Journal Eucariotic Microbiology*, v.47, n. 1, p.91-95, 2000.
- MALLON, M. ; MACLEOD, A.; WASTLING, J.; REILLY, B.; TAIT, A. *Journal Molecular Evolution*, v.56, n. 6, p.407-417, 2003.
- MCLAUCHLIN, J.; PEDRAZA-DÍAZ, S.; AMAR-HOETZENEDER, C.; NICHOLS, G.L. Genetic characterization of *Cryptosporidium* strains from 218 patients with diarrhea diagnosed as having sporadic cryptosporidiosis. *Journal Clinical Microbiology*, v.37, n. 10, p.3153-3158, 1999.
- McLAUCHLIN, J.; AMAR, C.; PEDRAZA-DIAZ, S.; NICHOLS, G.L. Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. in the United Kingdom : Results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1.705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. *Journal of Clinical Microbiology*, v.38, n. 11, p.3984-3990, 2000.
- MEIRELES, M.V.; PAULILO, A.C.; DA COSTA, A.J.; MORAES F.R.; ÁVILA, F.A.; SILVA, G.S. Correlação entre *Toxoplasma gondii* e *Cryptosporidium baileyi* em frangos de corte experimentalmente infectados. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.4, n.2, p.105-112, 1995.
- MEIRELES, M.V.; PAULILO, A.C.; SILVA, G.S.; COSTA, A.J.; JÚNIOR, L.D.; MACHADO, R.Z. Infecção Experimental por *Cryptosporidium baileyi* em aves de corte: I- aspectos clínicos, parasitológicos e zootécnicos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.7, n. 1, p.11-14, 1998.
- MEISEL, J.L.; PERERA, D.R.; MELIGRO, C.; RUBIN, C.E. Overhelimng watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in a imunossupressed patient. *Gastroenterology*, v.70, p.1156-1160, 1976.
- MORGAN, U.M.; MONIS, P.T.; XIAO, L.; LIMOR, J.; SULAIMAN, I.; RAIDAL, S.; O'DONOGHUE, P.; GASSER, R.; MURRAY, A., FAYER, R.; BLAGBURN, B.L.; LAL, A.A.; THOMPSON, A. Molecular phylogenetic characterization of *Cryptosporidium* from birds. *International Journal for Parasitology*, v. 31, n.3, p.289-296, 2001.
- MTAMBO, M.M.; NASH, A.S., BLEWETT, D.A., SMITH, H.V.; WRIGHT, S. *Cryptosporidium* infection in cats: prevalence of infection in domestic and feral cats in the Glasgow area. *Veterinary Research*, v. 129, n. 23, p.502-504, 1991.

NANNINI, E.C. OKHUYSEN, P.C. HIV-1 in the era of highly active antireoviral therapy. *Current Gastroenterology*, v.4, p.392-398, 2002.

NERNAD, F.; Prevalence and analisis of potencial risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeastern Spain). *Veterinary Parasitology*, v.104, n. 1, p.287-298, 2002.

NIME, F.A.; BUREK, J.D.; PAGE, D.L.; HOLSCHER, M.A.; YARDLEY, J.H. Acute enterocolitis in a human being with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*, v.70, n.4, p.592-598,1976.

NOORDEEN, F. FAIZAL, A.C.M.; RAJAPAKSE, R.P.V.J.; HORADAGODA, N.U.; ARULKANTHAN, A. Excretion of *Cryptosporidium* oocysts by goats in relation to age and season in the dry zone of Sri Lanka. *Veterinary Parasitology*, v.99, n. 1, p.79-85, 2001.

O'DONOGHUE, P.J. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *International Journal for Parasitology*, v.25, n. 2,p.139-195, 1995.

PANCIERA, R.J.; THOMASSEN, R.W.; GARNER, F.M. Cryptosporidial infection in a calf. *Veterinary Pathology*, v.8,p.479-484, 1971.

PEDRAZA-DÍAZ, S.; AMAR, C.; MC LAUHLIN, J. The identification and characterization of na usual genotype of *Cryptosporidium* from humam faeces as *Cryptosporidium meleagridis*. *FEMS Microbiology Letters*, v.189, p.189-194, 2000.

RHEE, J.K.; JANG, B.G.; PARK, B.K. Oocyst procuction and imugenity of *Cryptosporidium baileyi* in chickens and mallards. *The Korean journal of Parasitology*, v.33, n. 1, p.45-54, 1995.

RHEE, J.K.; KIM, H.C.; PARK,B.K. Chonologic change serum IgG antibody response on chickens reinfected with *Cryptosporidium baileyi*. *The Korean Journal of Parasitology*, v.34, n. 4, p.255-258, 1996.

RHEE, J.K.; KIM, H.C.; PARK, B.K. Effects of *Cryptosporidium baileyi* infection on the bursa of Fabricius in chickens. *Korean Journal of Parasitology*, v.35, n. 3, p.181-187, 1997.

RHEE, J. K.; KIM, H. C; LEE, S. B.; YOOK, S. Y. Immunosuppressive effect of *Cryptosporidium baileyi* infection on vaccination against New Castle Disease in chicks. *Korean Journal of Parasitology*, v. 36., n. 2, p.121-125, 1998.

RITTER, G.D.; LEY, D.H.; GUY, J.; BARNES, H.J. Intestinal cryptosporidiosis and reovirus isolation from bobwhite quail (*Colinus viginianus*) with enteritis. *Avian Diseases*, v. 30, n. 3, p. 603-608, 1986.

RYAN, U.M.; FALL, A.; WALL, L.A.; HIIJAWI, N.; SULAIMAN, I.; FAYER, R.; THOMPSON, R.C.; OLSON, M.; LALA.; XIAO, L. *Cryptosporidium hominis* n.sp.

- (Apicomplexa:Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. *Journal Eucaryotic Microbiology*, v.49, pn. 6, .433-440, 2002.
- RYAN, U.M.; XIAO,L.; READ, C.; SULAIMAN, I.M.; MONIS, P.; LAL, A.A.; FAYER, R.; PAVLASEK, I. A redescription of *Cryptosporidium galli* Pavlasek, 1999 (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) from birds. *Journal for Parasitology*, v.89. n. 4, p.809-913, 2003.
- RYAN, U.M.; MONIS, P.; ENEMARK, H.L.; SARAMASINGHE, B.; READ, C.; BUDDLE, R.; ROBERTSON, I.; ZHOU, L.; THOMPSON, R.C.A.; XIAO, L. *Cryptosporidium suis* N.SP. (Apicomplexa : CRYPTOSPORIDIIDAE) in pigs (*Sus scrofa*). *Journal for Parasitology*, v.90, n. 4, p. 769-773, 2004.
- SLAVIN, D. *Cryptosporidium meleagridis*. *Journal of Comparative pathology*, v.65, p. 262-266, 1955.
- SRÉTER, T.; VARGA, I.; BÉKESI, L. Effects of bursectomy and thymectomy on the developmet of resistance to *Cryptosporidium baileyi* in chickens. *Parasitology Research*, v.82, n. 2, p.174-177, 1996.
- SRÉTER, T.; VARGA, I. *Cryptosporidiosis* in birds – A review. *Veterinary Parasitology*, v.87, n. 4, p.261-279, 2000.
- SULAIMAN, I.M.; LAL, A.A.; XIAO, L. A population genetic study of the *Cryptosporidium parvum* humam genotype parasites. *Journal of Eucariotic Microbiology*, suppl., p.24S-25S, 2001.
- THOMPSON, R.C. Rediscovering parasites using molecular tools--towards revising the taxonomy of *Echinococcus*, *Giardia* and *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*, v.32, n. 5, p.493-496,2002.
- TUMOVÁ, E.; SKRIVAN, M.; MAROUNEK, M.; PAVLÁSEK, I.; LEDIVINKA, Z. Performance and oocyst shedding in broiler chickens orally infected with *Cryptosporidium baileyi* and *Cryptosporidium meleagridis*. *Avian diseases*, v. 46, n. 1, p.203-207, 2002.
- TYZZER, E.E. A sporozoon found in the peptic glands of common mouse. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, v.5, p.12-13, 1907.
- TYZZER, E.E. Coccidiosis in gallinaceous birds. *American Journal of Hygiene*, v.10, p.269-383, 1929.
- TYZZER, E.E.. *Archiv fur Protistenkunde*, v.26, p.394-412, 1912.
- TZIPORI, S. Cryptosporidiosis in perspective. *Advances in Parasitology*, v.27, p.66-123, 1988.
- UPTON, S.J.; CURRENT, W.L. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. *Journal of Parasitology*, v.71, p.625-629, 1985.

WARD, P.I.; DEPLAZES, P.; REGLI, W.; RINDER, H.; MATHIS, A. Detection of eight *Cryptosporidium* genotypes in surface and waste waters in Europe. *Parasitology*, v.124, n. 4, p.359-368, 2002.

XIAO, L.; MORGAN, U.M.; FAYER, R.; THOMPSON, R.C.; LAL, A.A.; *Cryptosporidium* systematics and implications for public health. *Parasitology Today*, v.16, n.1 , p.287-292, 2000.

XIAO, L.; BERN, C.; LIMOR, J.; SULAIMAN, I.; ROBERTS, J.; CHECKLEY, W.; CABRERA, L. GILMAN, R. H.; LAL, A. A. Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites en children in Lima, Peru. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 183, n. 7, p. 492-497, 2001.

XIAO, L.; SULAIMAN, I.; RYAN, U.M.; ZHOU, L.; ATWILL, E.R.; TISCHLER, M.L.; ZHANG, X.; FAYER, R.; LAL, A.A. Host adaptation and host-parasite co-evolution in *Cryptosporidium* : implications for a taxonomy and public health. *International Journal for Parasitology*, v.32, n. 14, p.1773-1785, 2002.

XIAO, L.; FAYER, R.; RYAN, U.; UPTON, S.J. *Cryptosporidium* taxonomy : recent advances and implications for public health. *Clinical Microbiology Review*, v.17, n. 1, p.72-97, 2004.

ZHOU, L.; KASSA, H.; TISCLER, L.; XIAO, L. Host-adapted *Cryptosporidium* spp. in Canada geese (*Branta canadensis*). *Applied and Evironmental Microbiology*, v.70, n. 7, p.4211-4215, 2004.

ANEXOS

Anexo A - Avaliação das condições das lojas de comercialização de aves dos mercados municipais utilizados no trabalho.

LOCAL COLETA:	DATA:
TIPOS DE ANIMAIS PARA VENDA:	
ANIMAL DA COLETA:	
NÚMERO ANIMAIS ACONDICIONADOS POR GAIOLAS:	
TIPOS DE GAIOLAS UTILIZADAS:	
CONDIÇÕES SANITÁRIAS DOS ANIMAIS:	
CONDIÇÕES SANITÁRIAS DO LOCAL DE COLETA:	
MANEJO DAS CRIAÇÕES:	
O QUE HÁ NAS PROXIMIDADES DO LOCAL DE COLETA DE MATERIAL:	
OBSERVAÇÕES:	