

BRUNA APARECIDA FELICIANO

Cryptosporidiosis in calves: implications as a zoonosis for human health

São Paulo
2022

BRUNA APARECIDA FELICIANO

Cryptosporidiosis in calves: implications as a zoonosis for human health

Versão Original

Monografia apresentada como Trabalho de Conclusão do Programa de Residência em Área Profissional da Saúde: Clínica e Cirurgia de Grandes Animais, ministrado pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Área de Concentração: Ruminantes

Preceptora: Profa. Dra. Viviani Gomes

São Paulo
2022

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: FELICIANO, Bruna Aparecida

Título: **Cryptosporidiosis in calves: implications as zoonosis in human health**

Monografia apresentada como Trabalho de Conclusão do Programa de Residência em Área Profissional da Saúde: Clínica e Cirurgia de Grandes Animais, ministrado pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Data: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por me ensinar a ter paciência e acreditar no meu potencial, Ele me mostrou que é no tempo Dele que tudo se cumpre, basta acreditar, pois mesmo após um ano de formada à procura de emprego eu consegui passar na Residência Multiprofissional da Universidade de São Paulo. Agradeço também a Nossa Senhora de Aparecida por guiar e abençoar os meus passos durante a residência e a confecção deste trabalho. Ela permaneceu ao meu lado e não deixou que eu me afastasse de Deus, até nos dias tristes.

Aos meus pais Gilson e Alessandra; e ao meu irmão Felipe, por me apoiar, ajudar e incentivar a seguir os meus passos e buscar um futuro profissional que sempre desejei. Sem eles não seria possível conquistar tudo que conquistei durante a residência, em especial ao estágio feito nos Estados Unidos.

Aos meus amigos e familiares, agradeço pela compreensão das ausências e pelo afastamento temporário, principalmente a minha amiga Laís.

Ao meu namorado Jean, que esteve presente em todos os momentos, principalmente os mais difíceis e compreendeu a minha ausência, distância e as minhas crises de ansiedade.

Aos professores da Universidade de São Paulo, que através dos seus ensinamentos permitiram que eu pudesse hoje estar concluindo a residência. Aos colegas residentes, por me ensinarem a trabalhar em equipe e ter um desenvolvimento pessoal e profissional.

A todos que ajudaram no desenvolvimento deste trabalho, principalmente as correções feitas pela Prof. Dra. Bianca Paola Santosa.

E por último, a minha orientadora Prof. Dra. Viviani Gomes, que antes mesmo de entrar na residência eu já tinha uma grande admiração profissional, e após esse período se tornou uma grande amiga e mãe. Obrigada pelos puxões de orelha, pelas correções, ensinamentos, conselhos, oportunidades e pelo meu desenvolvimento profissional, principalmente com a clínica de bezerros.

RESUMO

FELICIANO, B.A. **Criptosporidiose em bezerros:** implicações como zoonose na saúde humana. 2022. 49 f. Monografia apresentada como Trabalho de Conclusão do Programa de Residência em Área Profissional da Saúde: Clínica e Cirurgia de Grandes Animais, ministrado pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

A Criptosporidiose é uma doença zoonótica causada pelo protozoário *Cryptosporidium* spp., sendo um dos principais agentes causadores de diarreia em bezerros de leite no pré-desaleitamento. A relação animal e colaborador propicia a transmissão entre espécies, sendo a infecção manifestada por diarreia intermitente em indivíduos imunocomprometidos, ou diarreia aquosa profusa grave em indivíduos imunodeficientes ou imunossuprimidos. Geralmente o *Cryptosporidium* spp. é caracterizado por alta taxa de morbidade e baixa taxa de mortalidade, a depender de fatores complicadores ou infecções concomitantes por outros agentes etiológicos, como o Rotavírus. A principal via de transmissão é oral-fecal pela ingestão de oocistos infectantes eliminados nas fezes, por isso a importância higiênico-sanitária. Além disso, os oocistos infectantes são extremamente resistentes no ambiente úmido, aos desinfetantes químicos comerciais e aos tratamentos convencionais de água, o que dificulta a sua eliminação. Não possui tratamento efetivo, os métodos de controle e prevenção são questionáveis por alguns autores e o seu diagnóstico exige experiência do parasitologista, tornando essa doença um grande problema de saúde pública no mundo.

Palavras-chave: Criptosporidiose. Saúde pública. Bezerros. Diarreia.

ABSTRACT

FELICIANO, B.A. **Cryptosporidiosis in calves:** implications as a zoonosis in human health. 2022. 49 s. Monograph presented as Completion Work of the Residency Program in the Professional Area of Health: Clinic and Surgery of Large Animals, taught by the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics, University of São Paulo, São Paulo, 2022.

Cryptosporidiosis is a zoonotic disease caused by the protozoan *Cryptosporidium* spp., being one of the main causative agents of diarrhea in pre-weaning dairy calves. The animal-collaborator relationship favors interspecies transmission, with the infection manifested by intermittent diarrhea in immunocompromised individuals, or severe profuse watery diarrhea in immunodeficient or immunosuppressed individuals. Generally, *Cryptosporidium* spp. is characterized by a high morbidity rate and low mortality rate, depending on complicating factors or concomitant infections by other etiological agents, such as Rotavirus. The main route of transmission is fecal-oral by ingestion of infective oocysts eliminated in the feces, hence the hygienic-sanitary importance. In addition, infective oocysts are extremely resistant to a humid environment, to commercial chemical disinfectants and to conventional water treatments, which makes their elimination difficult. It has no effective treatment, control and prevention methods are questionable by some authors and its diagnosis requires parasitologist experience, making this disease a major public health problem in the world.

Keywords: Cryptosporidiosis. Public health. Calves. Diarrhea.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo Biológico do <i>Cryptosporidium</i> spp	15
Figura 2 - Ciclo de vida de <i>Cryptosporidium</i> spp	17
Figura 3 - Principais vias de transmissão de <i>Cryptosporidium</i> spp. entre bovinos e humanos.....	20
Figura 4 - Frequência (%) de (A) <i>Cryptosporidium</i> spp. e (B) rotavírus nas fezes de bezerros holandeses apresentando diarreia em Grupos ATB - e ATB+ no primeiro mês de vida	23
Figura 5 -Etiologia da diarreia neonatal em bezerros, destacando a prevalência do <i>Cryptosporidium</i>	23
Figura 6 - À esquerda: esporozoíto de <i>Cryptosporidium</i> invadindo as células epiteliais do hospedeiro. À direita: trofozoíto de <i>Cryptosporidium</i> dentro do vacúolo parasitóforo.	25
Figura 7 - Mucosa intestinal normal e infectada por <i>C. parvum</i> de um íleo de bezerro com aumento de 100x. (A) Mucosa ileal de bezerro normal. (B) e (C) Mucosa ileal de bezerro infectada experimentalmente com <i>C parvum</i>	26
Figura 8 - Detecção de <i>Cryptosporidium</i> (setas) pela técnica de flutuação em solução saturada de sacarose	31

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação taxonômica do gênero <i>Cryptosporidium</i>	13
Quadro 2 - Principais espécies de <i>Cryptosporidium</i> que acometem bovinos e humanos.....	14

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 AGENTE ETIOLÓGICO	13
2.2 CICLO BIOLÓGICO	15
2.3 TRANSMISSÃO	17
2.3.1 Via orofecal	17
2.3.2 Via fômite	19
2.3.3 Contato direto.....	19
2.4 FATORES DE RISCO	21
2.5 FISIOPATOLOGIA	24
2.6 SINAIS CLÍNICOS.....	28
2.7 DIAGNÓSTICO	29
2.7.1 Coleta de amostras.....	30
2.7.2 Concentração fecal.....	31
2.7.3 Testes sorológicos.....	32
2.7.4 Técnica Molecular (PCR).....	33
2.7.5 Histopatológico.....	33
2.8 TRATAMENTO	34
2.8.1 Coccidiostático	34
2.8.2 Criptosporidiodístico	34
2.8.3 Antibioticoterapia ou antiparasitário	35
2.8.4 Tratamento de suporte clínico	35
2.9 CONTROLE E PREVENÇÃO.....	36
2.9.1 Cuidados com o hospedeiro.....	36
2.9.2 Identificação e isolamento de animais doentes	38
2.9.3 Resistência de <i>Cryptosporidium</i> spp.....	38
2.9.3.1 Desinfetantes.....	38
2.9.4 Limpeza das instalações.....	40
2.9.5 Destinação de dejetos	41
2.9.6 Cuidados com fômites.....	41
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

A Criptosporidiose é uma importante zoonose na saúde pública causada por protozoários do gênero *Cryptosporidium* spp., que é reconhecido como uma das principais causas de diarreia moderada a grave nos países em desenvolvimento. São protozoários que infectam as vilosidades do trato gastrointestinal e epitélio respiratório de grande variedade de hospedeiros vertebrados, incluindo humanos. É altamente resistente, dificultando o tratamento efetivo e métodos de controle, que visa diminuir o impacto da doença (Current, 1983; Hermida et al. 2007; Jex, et al., 2011; Ryan; Fayer; Xiao, 2014; Madrid; Bastos; Jayme, 2015).

Segundo o Centro de Segurança Alimentar e Saúde Pública da Universidade Estadual de Iowa (CFSPPH – Iowa State University, 2021), o *Cryptosporidium* spp. está entre as 24 zoonoses transmitidas dos bovinos ao homem, sendo assim os colaboradores das fazendas devem adotar medidas preventivas.

As taxas de letalidade na Criptosporidiose são geralmente baixas e a doença autolimitante, a menos que haja outros fatores complicadores como os animais jovens e crianças, ou os casos de imunodeficientes ou imunossuprimidos que se encontram sob maior risco de infecção e de doença, além de ter maior probabilidade de apresentar sintomas graves e potencialmente fatais (Current, 1985; Holland, 1990; Constable et al., 2017; CDC, 2019).

A diarreia é considerada uma das principais causas de óbito nos bezerros, seguida da doença respiratória bovina, e inflamações umbilicais (Windeyer, 2014), com taxa de mortalidade de bezerras em aleitamento de aproximadamente 5 a 6,3% (USDA, 2014; Azevedo, 2020). Já a taxa de morbidade pode acometer entre 90 a 100% de neonatos com até três semanas de idade podendo levar à incidência de 3,5% a 56,4% durante o período de aleitamento (USDA, 2014; Windeyer, 2014).

Nos bezerros o *Cryptosporidium* spp. é considerado a principal causa de diarreia, com porcentagem de 100 e 75%, diferente dos outros grupos de microrganismos: *Escherichia coli*, de 15,6 a 28,5%; Rotavírus, de 3,5 a 6,2%; Coronavírus, de 3,1 a 21,6% e *Salmonella* spp., de 16,4 para 43,7% (Silverlås et al. 2010; Carvalho et al. 2014; Gomez et al. 2017).

No Brasil, estudo conduzido no estado do Mato Grosso, em 2007, em 100 bovinos de corte da raça Nelore com diarreia e em 30 sem sinais entéricos, detectou *Cryptosporidium* spp. principalmente em animais com diarreia particularmente associado a outros enteropatógenos como *Escherichia coli* enterotoxigênica, Rotavírus e/ou Coronavírus (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Já um estudo desenvolvido por Pinheiro et al. (2022), para avaliar a eficácia da vacinação pré-parto contra Diarreia Neonatal Bovina em matrizes e filhotes de Nelore, foram monitorados bezerros nos primeiros 30 dias de idade e coletadas amostras fecais para identificação do agente etiológico, onde o *Cryptosporidium* spp. foi um achado, não tendo uma grande importância como agente diarreico em rebanho Nelore, diferente do Rotavírus que foi o enteropatógeno mais prevalente.

Na região do Vale do Ribeira, em São Paulo, em 2000, foi avaliada semanalmente, por 6 semanas, a presença dos principais enteropatógenos em 106 bezerros búfalos da raça Murrah e mestiços com diarreia e em igual quantidade de animais sem sinais entéricos. *C. parvum* foi identificado em quatro animais com diarreia (8,3%) e em seis (10,3%) sem sinais entéricos, o que evidencia o baixo impacto do parasita como enteropatógenos de bezerros búfalos na região estudada (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Nos humanos é crescente o número de casos em relatos individuais ou de surtos, principalmente por *Cryptosporidium parvum*. Os países em desenvolvimento são mais acometidos devido às condições higiênico-sanitárias inapropriadas, sendo 8,5% acometidos os indivíduos imunocompetentes e 24% os indivíduos imunodeficientes; o que difere nos países desenvolvidos, sendo 2,2% acometidos os indivíduos imunocompetentes e 14% os indivíduos imunodeficientes (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Devido ao seu caráter zoonótico, um surto de Criptosporidiose foi descrito nos enfermeiros de um hospital veterinário tratando bezerros com diarreia. Os humanos acometidos apresentaram diarreia aquosa, cólica, fraturância e dor de cabeça (Reif, et al., 1989).

Na revisão sistemática feita por Bonsere (2020), não foi encontrado nenhum artigo que evidenciasse um surto de Criptosporidiose no Brasil (2009 a 2019), devido

à dificuldade em se obter amostras representativas para identificar o *Cryptosporidium* através de técnicas laboratoriais. No sentido de diminuir o impacto da doença, os investimentos na detecção de oocistos deve ser um dos pilares da investigação científica para essa enfermidade, com aplicação de técnicas que sejam de fácil execução, com a geração de resultados confiáveis e de baixo custo, ou até mesmo por meio de estudos de caso controle ou questionários para a população acometida.

O objetivo deste trabalho foi abordar a importância zoonótica da Criptosporidiose e alertar sobre a sua resistência, assim como mostrar a dificuldade para diagnosticar, instituir tratamento e método de controle efetivos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AGENTE ETIOLÓGICO

A taxonomia do gênero *Cryptosporidium* segundo Cavalier-Smith (2014) está presente no quadro 1.

Quadro 1 - Classificação taxonômica do gênero *Cryptosporidium*

Classificação taxonômica	
Reino	<i>Protista</i>
Sub-Reino	Protozoa
Phylum	Apicomplexa
Classe	Gregarinomorphea
Subclasse	Cryptogregarina
Ordem	Eucoccidea
Sub-Ordem	Eimeriina
Família	<i>Cryptosporidiidae</i>
Gênero	<i>Cryptosporidium</i>

Fonte: Cavalier-Smith, 2014

O gênero *Cryptosporidium* spp. foi classificado recentemente como membro único da nova subclasse, Cryptogregarina, dentro da classe Gregarinomorphea, sendo que antes era classificado na subclasse Coccidia; isso pode explicar o porquê a maioria dos anticoccidiostáticos apresentaram resultados insatisfatórios no controle de infecções causadas por estes parasitas (Carreno; Martin; Barta, 1999; Cavalier-Smith, 2014).

Existem muitas espécies de *Cryptosporidium* que infectam animais, algumas das quais também infectam humanos (CDC, 2019). Há aproximadamente 22 espécies identificadas (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018), e as que afetam os bovinos inclui o *Cryptosporidium andersoni* (parasita o abomaso), *Cryptosporidium bovis* e *Cryptosporidium parvum* (ficam no intestino delgado), sendo o último de caráter zoonótico e de maior importância no acometimento de bezerros com menos de 30 dias de idade. Já os seres humanos, das quase 20 espécies e genótipos relatados, o *Cryptosporidium hominis* e o *Cryptosporidium parvum* foram os mais prevalentes (Bowman, 2010; Ryan; Fayer; Xiao, 2014).

Quadro 2 - Principais espécies de *Cryptosporidium* que acometem bovinos e humanos.

Espécie	Hospedeiro
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Bovinos e Humanos
<i>Cryptosporidium hominis</i>	Humanos
<i>Cryptosporidium bovis</i>	Bovinos
<i>Cryptosporidium andersoni</i>	Bovinos

Fonte: Taylor, 2017

Embora muitas espécies tenham sido descritas até o momento, *Cryptosporidium parvum* é a mais disseminada e patogênica entre os mamíferos, incluindo os humanos. Famílias de subtipos zoonóticos de *C. parvum* implicadas em infecções humanas foram comumente associadas aos bovinos, particularmente bezerros (DPDx, 2019). Análise isoenzimática e sequenciamento do DNA revelaram diferenças entre os oocistos isolados de *Cryptosporidium* a partir de várias espécies animais, auxiliando no esclarecimento da taxonomia (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018). Além disso, estudos moleculares também demonstraram que a espécie *Cryptosporidium parvum* possui diferentes genótipos (Silva, 2007). Inicialmente era dividido em genótipo tipo I, capaz de parasitar apenas humanos; e o genótipo tipo II, capaz de parasitar ruminantes, humanos e outros mamíferos domésticos e silvestres (Spano et al., 1998; Xiao et al., 1999a; Xiao et al, 1999b; Patel et al., 1999; Yagita et al., 2001, Wu et al., 2003).

Foram realizados estudos antigamente que comprovaram que não existe infecção cruzada entre as espécies animais, confirmaram a suscetibilidade da infecção por oocistos de *C. parvum* genótipo humano apenas para seres humanos e não para animais, por esse motivo foi separado em espécie e nomeado *Cryptosporidium hominis* (Morgan-Ryan et al., 2002). Para não possuir confusão de nomenclatura, recomenda-se o uso do nome *C. parvum* (genótipo tipo II) apenas quando o agente apresenta potencial para infectar ruminantes e humanos, evitando o uso em mamíferos que ainda não foram caracterizados (Silva, 2007).

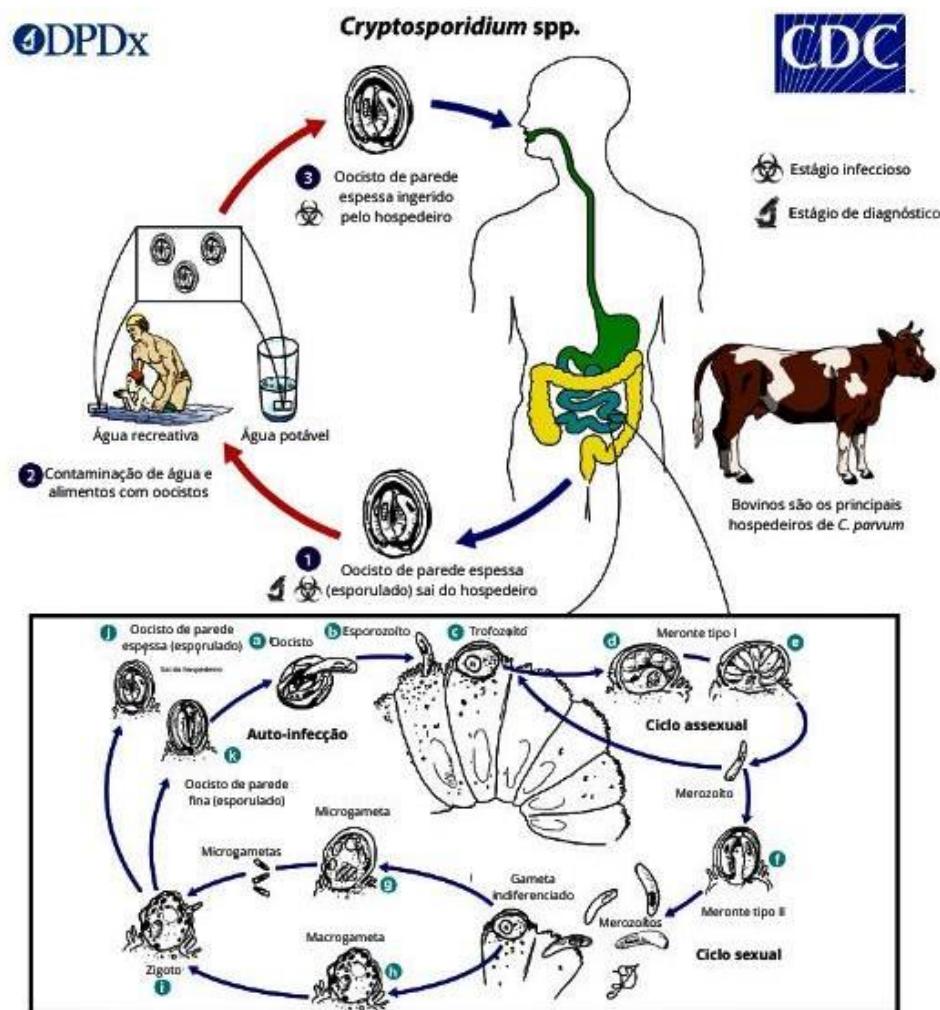
Conforme os estudos foram avançando, alguns genótipos de *Cryptosporidium parvum* foram sendo readequados para espécie, como por exemplo o genótipo “dog”

é a espécie *Cryptosporidium canis*. Mais de 30 genótipos já foram descritos e acredita-se que muitos deles possam ser separados como novas espécies (Xiao et al., 2001; Xiao et al., 2004).

2.2 CICLO BIOLÓGICO

O ciclo biológico é considerado monoxêmico, hospedeiro único, e sua transmissão geralmente ocorre por via oral-fecal com a ingestão de oocistos esporulados infectantes. O oocisto é considerado, esférico, ovóide e de tamanho equivalentemente pequeno (*C. parvum* apresenta oocistos com dimensão de 4,5 x 5,5 μ m), e contém quatro esporozoitas livres no interior (Constable et al., 2017; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Figura 1 - Ciclo Biológico do *Cryptosporidium spp.*



Fonte: CDC - DPDx - [Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern](#) (2019) adaptado por Feliciano (2022).

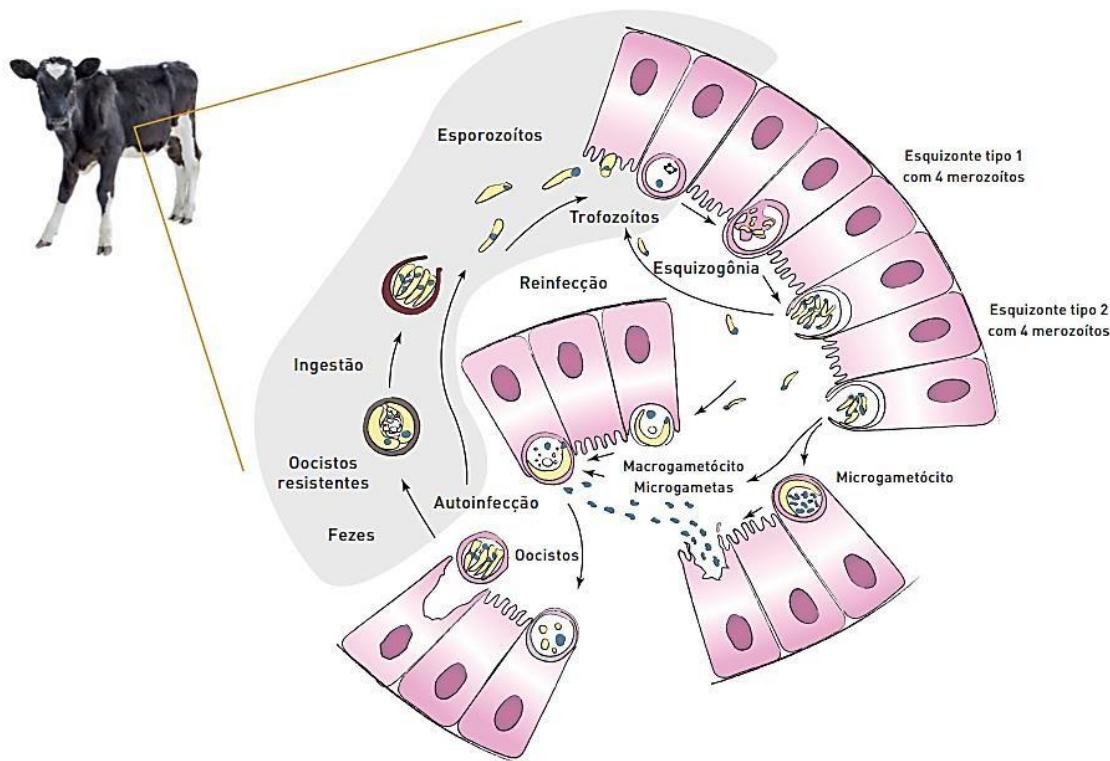
Ao serem ingeridos pelo hospedeiro, sofrem desencistamento no intestino delgado ou abomaso, dependendo da espécie do *Cryptosporidium*, com a liberação dos esporozoítas, que se aderem às células epiteliais, provocando invaginação na membrana celular e formando um vacúolo membranoso de duas camadas: a camada externa é derivado do hospedeiro; a camada interna é derivada do parasita, membrana vacuolar parasitófora. Trata-se de parasita intracelular obrigatório, embora se localiza na porção mais externa do citoplasma, extracitoplasmático (Constable et al., 2017; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Os esporozoítas sofrem diferenciação em trofozoítos, que posteriormente sofre reprodução assexuada (esquizogonia ou merogonia) para produzir merontes tipo I (esquizontes). Cada um desses merontes do tipo I contém 16 merozoítos, os quais são liberados e infectam novos enterócitos, ou entra na fase reprodutiva para se replicar e desenvolver um meronte tipo II, cada um contendo quatro merozoítos (Constable, et al., 2017).

Os merontes tipo II dão origem à fase sexual do ciclo ou gametogonia, com a diferenciação em estágios masculinos (microgametas) e femininos (macrogametas). O microgameta penetra no macrogameta, levando a formação de um zigoto que se desenvolve em oocisto. Assim, são produzidos dois tipos de oocistos: o autoinfectante, de parede delgada, capaz de se desencistar dentro do próprio hospedeiro, e iniciar um novo ciclo, e o de parede espessa, altamente resistente as condições ambientais, que é eliminado nas fezes (Scott et al., Andrews et al., 2008; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Os oocistos excretados nas fezes são eliminados no meio ambiente já esporulados e infectantes, sem necessidade de período de maturação fora do hospedeiro. Assim, uma infecção pode se disseminar rapidamente em um grupo de bezerros e o padrão de disseminação é semelhante ao observado na infecção por rotavírus, porém diferente daquele verificado na infecção por *Eimeria* spp. (Scott et al., Andrews et al., 2008; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Figura 2 - Ciclo de vida de *Cryptosporidium* spp.



Fonte: Martin, C.C. e Gomes, V. Revista Leite Integral. Edição 129. Dezembro, 2019

A duração do ciclo é variável, podendo ocorrer em 48 horas ou em até 14 dias, dependendo da espécie hospedeira (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

2.3 TRANSMISSÃO

2.3.1 Via orofecal

A fonte de infecção são as fezes que contêm oocistos que já são esporulados e infectantes quando excretados, transmitindo principalmente através da via orofecal de um hospedeiro infectado a um suscetível, seja direta ou indiretamente. Os oocistos são eliminados nas fezes quando começam os sintomas de diarreia e podem durar semanas após o término dos sintomas (Rebhun, 2000; Ryan; Fayer; Xiao, 2014; Constable et al., 2017; CDC, 2021). O número de oocistos necessários para determinar uma infecção é pequeno, já que no intestino ocorre sua replicação. Estima-se que a dose infectante varie de 9 a 1000 oocistos (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Segundo informações extraídas do *Centers for Disease Control and Prevention* (2021), uma pessoa infectada pode eliminar de 10.000.000 a 100.000.000 oocistos de *Cryptosporidium* em uma única evacuação, e a ingestão de apenas 10 oocistos já pode ocasionar infecção.

Os bezerros infectados podem eliminar mais de 10 milhões (1×10^9) de oocistos por grama de fezes por dia, contaminando o ambiente e sendo prejudicial para os hospedeiros suscetíveis presentes (Nydam et al., 2001; Martin; Gomes, 2019).

As fezes contendo oocistos contaminam o solo, os alimentos e a água. A movimentação dos oocistos no ambiente é favorecida pelos ventos, pela água das chuvas, pelo movimento dos animais e pelas ações do próprio homem (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

A água é considerada uma das principais fontes de infecção para o homem e animais, e é a forma de transmissão mais descrita de surtos de Criptosporidiose em pessoas HIV-negativas, principalmente pela ingestão de água contaminada com oocistos provenientes do rebanho bovino e ovino. Ou seja, não inclui só a água potável, como também bebidas, gelo, água de piscina, fontes, lagos e rios contaminados com fezes. Além disso, o parasita possui alta resistência à água tratada com cloro, sobrevivendo por longos períodos de tempo em água clorada de beber ou piscina (CDC, 2021). Inúmeros relatos de surtos de Criptosporidiose relacionados à água potável na América do Norte, Reino Unido e Japão, locais que existem métodos de detecção, indicaram que a água é um veículo importante para a transmissão dessa doença (Fayer, 2004).

Além da ingestão de água, pode ser através de alimentos contaminados, especialmente verduras e frutas (contaminados pelas mãos dos manipuladores ou plantações contaminadas com esterco), alimentos mal cozidos ou beber cidra de maçã não pasteurizada/crua ou leite contaminado com *Cryptosporidium* spp. As mãos podem ser contaminadas por variedade de atividades, como crianças em um parque na areia, tocar em superfícies ou objetos contaminados por fezes de uma pessoa ou animal infectado; e ocasionalmente, pela formação de aerossóis que está relacionada

com os casos de Criptosporidiose Respiratória descritos em indivíduos HIV-positivos (Fayer, 2004; Ryan; Fayer; Xiao, 2014; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018; CDC, 2021).

2.3.2 Via fômite

Em bezerros, a transmissão indireta mais comum é via fômite, por contaminação no meio ambiente, cocho onde é colocado ração ou água, utensílios utilizados para aleitar esses animais e os colaboradores também possuem risco de transmitir através de EPIs, como as roupas que usam (Constable et al., 2017; Martin; Gomes, 2019).

2.3.3 Contato direto

Em humanos e nos animais a transmissão pode ocorrer diretamente entre eles, como por exemplo a falta de higiene ou falta de uso de EPIs dos colaboradores, que manipulam bezerros infectados, e os mesmos podem transmitir para bezerros não infectados. Além disso, a transmissão direta também pode ocorrer de uma pessoa para outra, incluindo atividades sexuais oral/anal (MEGID et al., 2018; CDC, 2021).

Nos bezerros, a transmissão pode ocorrer logo quando o animal nasce, devido à imunossupressão fisiológica das mães na primeira semana pós-parto com aumento da excreção do parasita pelas fezes durante esse período contaminando o ambiente do parto, ou a má higiene no teto durante a amamentação ou ordenha no oferecimento do colostro (Rebhun, 2000; Constable et al., 2017; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018; Martin; Gomes, 2019).

Bonsere et al. (2020) relataram em sua revisão sistemática que os surtos em humanos são provocados por contato com animais. Um desses estudos citados realizado por Galvão et al. (2012) relatou que os bovinos foram a principal fonte de infecção para o homem e ambiente, uma vez que eliminaram grandes quantidades de oocistos infectantes em suas fezes.

Em 6 de junho de 2011 em Michigan, no estado de Indiana (USA), ocorreu um incêndio em um celeiro que abrigava bezerros com aproximadamente 240 semanas de idade. Água hidrante local e água da lagoa no local foram usadas para extinguir o incêndio. Vinte dos 34 bombeiros que responderam ao incêndio em um celeiro que abrigava bezerros de uma semana ficaram doentes com sintomas gastrointestinais; três dos seis testados foram positivos para *Cryptosporidium*. spp. O *Cryptosporidium parvum* foi identificado em amostras de dois bombeiros, bezerros e uma lagoa próxima (Wilczynski et al., 2012).

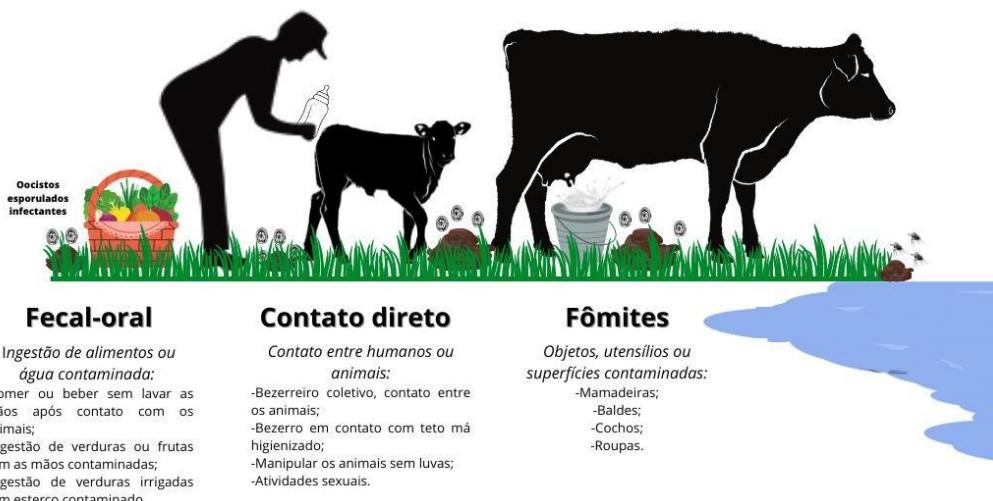
Em julho de 2009, autoridades locais, regionais, estaduais e federais de saúde pública investigaram um surto de criptosporidiose em um acampamento de verão para jovens na Carolina do Norte. A investigação identificou 46 casos confirmados por laboratório e prováveis casos de criptosporidiose. A investigação revelou que as pessoas eram incentivadas a pulverizar uma solução diluída de água sanitária nas mãos antes e depois de interagir com os bezerros, indicando que contaminação pode ter os animais como origem (PhillipsBell; Chang, 2011).

Figura 3 - Principais vias de transmissão de *Cryptosporidium* spp. entre bovinos e humanos

PRINCIPAIS VIAS DE TRANSMISSÃO

Bovinos X Humanos

CRYPTOSPORIDIUM spp.



Não há necessidade de vetores para a transmissão e não é possível transmitir através de contato com sangue. Além disso, também não tem sido observado efeito sazonal significativo na transmissão do parasita na maioria dos países (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018; CDC, 2021).

2.4 FATORES DE RISCO

Os fatores que tornam os animais suscetíveis à infecção e que predispõem os animais infectados a desenvolver a doença clínica ainda não são bem compreendidos (Constable et al., 2017). Os fatores de risco que podem estar associados à infecção por *Cryptosporidium* spp. são particularmente: imunodeficiência ou imunossupressão, a presença de infecções concomitantes, a ingestão de água e alimentos contaminados, déficits ligados à ingestão inadequada de colostro e leite, as precárias condições higiênico-sanitárias e a exposição ocupacional, tanto pelo contato com animais como com humanos infectados (Constable et al., 2017; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

As pessoas com maior probabilidade de se infectar são: crianças e funcionários que frequentam creches; pais de crianças infectadas; crianças que visitam zoológicos ou visitas educacionais em fazendas; idosos (a partir de 75 anos); cuidadores de pessoas ou animais infectados com *Cryptosporidium* (como os que lidam com bezerros infectados ou outros ruminantes); estudantes ou profissionais na área de veterinária; viajantes que bebem água não filtrada, não tratada, não fervida ou de poços rasos desprotegidos; pessoas com contato com piscina como nadadores; pessoas expostas às fezes humanas por contato sexual (Constable et al., 2017; CDC, 2021).

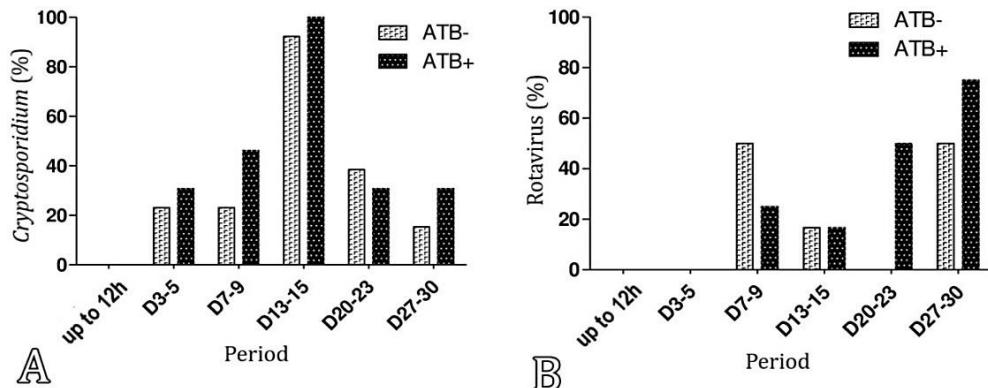
Embora o *Cryptosporidium* possa infectar todas as pessoas, alguns grupos podem desenvolver doenças mais graves ou com risco de vida, como crianças, mulheres grávidas e pessoas imunodeprimidas ou imunossuprimidas, o qual inclui aqueles com HIV/AIDS, doenças hereditárias, pacientes com câncer e transplante, que estão tomando certos medicamentos com efeito imunossupressor (CDC, 2021).

Em bezerros, por exemplo, superlotação, estresse do desaleitamento, transporte e comercialização, juntamente com níveis inadequados de higiene, aumentaram o risco de infecções clínicas (Taylor; Coop; Wall, 2017). Essa síndrome pode ser particularmente comum nos meses de inverno, quando o estresse pelo frio pode afetar as necessidades de energia. Infecções com outros enteropatógenos, particularmente Rotavírus e Coronavírus, são comuns, e estudos epidemiológicos sugerem que a diarreia é mais grave com infecções mistas com outros patógenos (Constable et al., 2017).

Constable et al. (2017) relataram que diversos estudos mostraram que bezerros no pré-desaleitamento possuem maior predisposição do que bezerros no pós-desaleitamento, principalmente com cinco e 15 dias de idade. Um estudo de bezerros em específico, usou animais lactentes em torno de cinco a 60 dias de idade e no após desaleitamento com três a 11 meses de idade, a prevalência de *Cryptosporidium* em bezerros pré-desaleitados mostrou ser 50% (de 503) e pode diminuir para 20% (de 468) bezerros após o desaleitamento, comprovando que existe associação relacionada à idade entre hospedeiro e Criptosporidiose. Outros estudos demonstraram que não só a idade é correlacionada, como também a espécie do *Cryptosporidium* envolvido, sendo que em bezerros no pré-desaleitamento o *Cryptosporidium parvum* é mais comum do que nos bezerros no pós-desaleitamento (<1%). O mais comum nos bezerros pós-desaleitamento é *Cryptosporidium andersoni* e *Cryptosporidium bovis*. Sendo assim, os bezerros jovens apresentam um maior risco zoonótico do que bovinos adultos.

No estudo de Martin et al. (2020) sobre a influência do uso precoce de antimicrobiano na saúde e no desempenho de bezerros holandeses no primeiro mês de vida, notou-se que ambos os grupos com a administração (ATB+) ou não (ATB-) de tulatromicina nas primeiras 24 horas de vida, houve frequência de diarreia com pico em D13-15, e o agente etiológico predominante foi *Cryptosporidium* spp. (Figura 4).

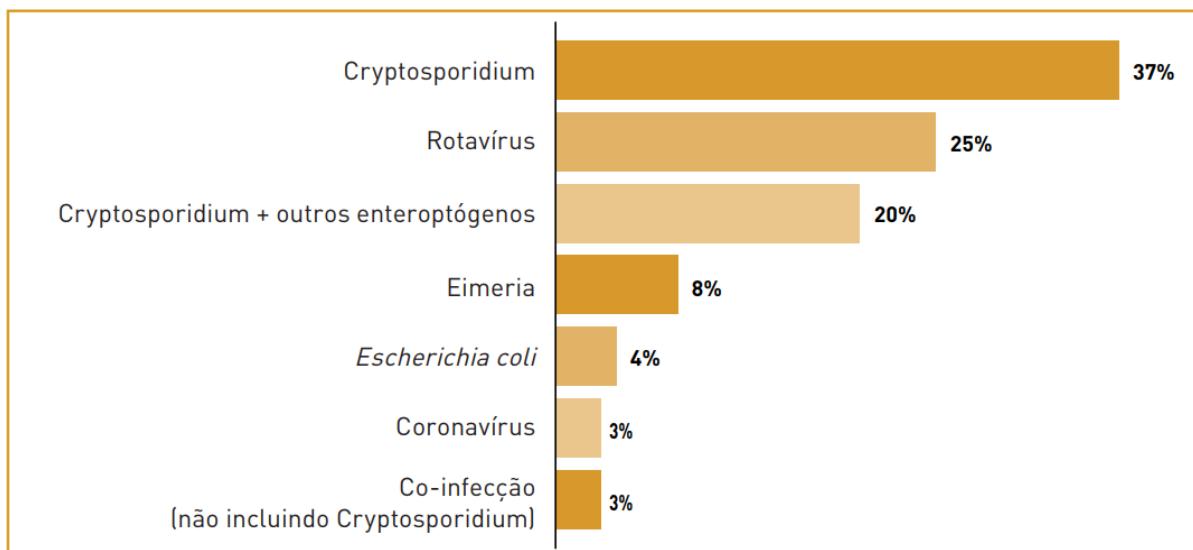
Figura 4 - Frequência (%) de (A) *Cryptosporidium* spp. e (B) rotavírus nas fezes de bezerros holandeses apresentando diarreia em Grupos ATB- e ATB+ no primeiro mês de vida.



Fonte: Martin et al., 2020.

Levantamento realizado no Reino Unido entre 2007 e 2011 demonstrou que o *Cryptosporidium* foi detectado em aproximadamente 37% dos casos de diarreia (Figura 5) (VIDA, 2014).

Figura 5 -Etiologia da diarreia neonatal em bezerros, destacando a prevalência do *Cryptosporidium*



Fonte: APHA, SRUC, Veterinary investigation diagnosis analysis (VIDA) report (2014)

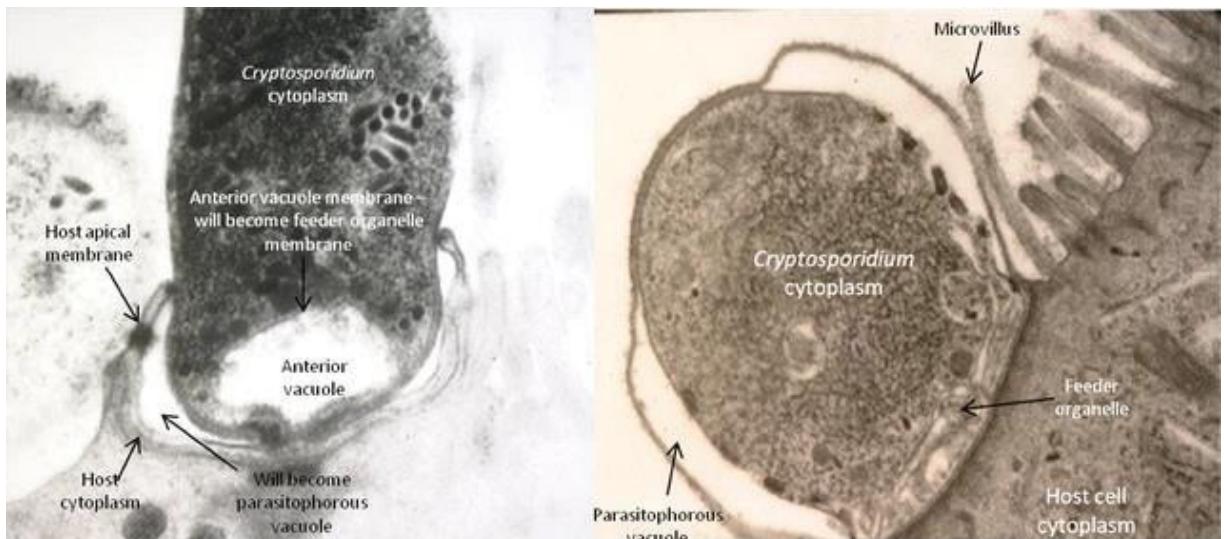
Bezerras que permaneceram com suas mães por mais de uma hora após o parto apresentam maior risco de infecção por *Cryptosporidium*, devido à grande eliminação de oocistos da mãe durante o parto e pós-parto (Martin; Gomes, 2019).

Animais imunodeficientes/imunossuprimidos foram mais suscetíveis à Criptosporidiose do que animais imunocompetentes, mas a relação entre doença e falha na transferência passiva de imunoglobulinas colostrais não foi totalmente clara. A doença pode ser reproduzida tanto em bezerros privados de colostro quanto em bezerros alimentados com colostro (transferência passiva adequada), no entanto, as evidências indicaram que foi improvável que a transferência passiva de imunidade via colostro seja eficaz como um único meio de defesa contra a Criptosporidiose em bezerros jovens, mas foi notado que a eliminação de oocistos tem sido maior em bezerros com baixa eficiência absorptiva de IgG do colostro e baixas concentrações séricas de IgG (Constable et al., 2017).

2.5 FISIOPATOLOGIA

A patogenicidade de *Cryptosporidium* spp. em animais e humanos ainda é pouco conhecida, embora a doença geralmente seja caracterizada por alta morbidade e baixa mortalidade, em alguns casos devido a sua capacidade de auto-infecção do seu ciclo biológico, pode ocasionar grande acometimento dos enterócitos e desencadear diarreia crônica com alta mortalidade (Anderson, et al., 1981; Current, 1985; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Figura 6 - À esquerda: esporozoíto de *Cryptosporidium* invadindo as células epiteliais do hospedeiro. À direita: trofozoíto de *Cryptosporidium* dentro do vacúolo parasitóforo.



Fonte: Saul Tzipori (Thomson, 2017)

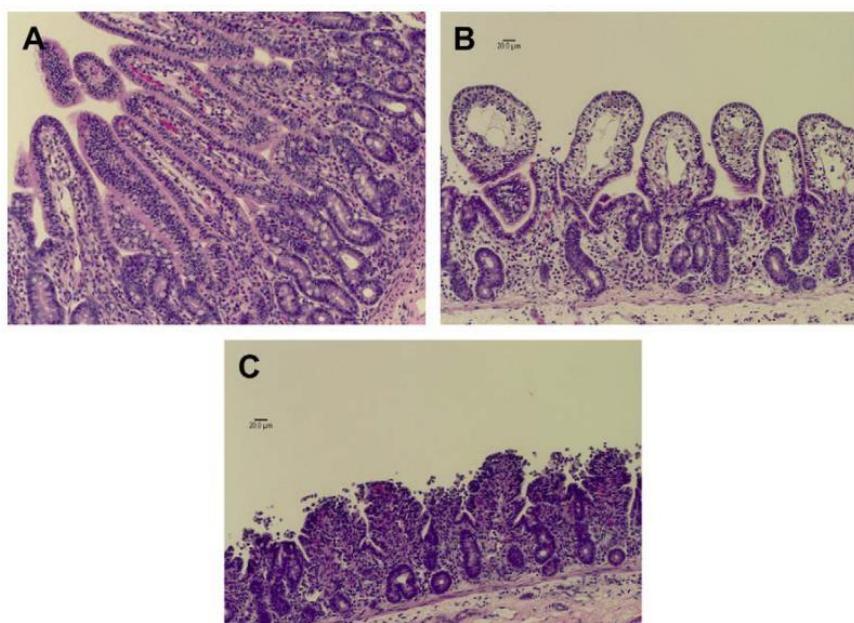
No momento da infecção, o parasita identifica receptores celulares na superfície dos enterócitos. Os vacúolos parasitofóricos que se rompem para liberar merozoítos, que infectam outras células do hospedeiro resultam em destruição das células, atrofia das vilosidades, diminuição nos níveis de enzimas da borda em escova, diminuição acentuada da atividade da lactase na mucosa, fusão vilosa e inflamação das criptas intestinais, tornando as mucosas congestas. Essa atrofia é causada pela perda de enterócitos vilosos e a subsequente retração das vilosidades para manter uma continuidade da barreira epitelial. Pode ocorrer hiperplasia de cripta com intuito de substituir as células epiteliais perdidas, porém nos casos graves isso não ocorre, gerando aumento da permeabilidade epitelial ou uma ruptura da barreira epitelial. Nos animais assintomáticos, as alterações apresentam-se mais discretas (Argenzo, 1990; Moore, 1995; Rebhun, 2000; Scott et al.; Gookin; Nordone; Argenzo, 2002; Andrews, et al., 2008; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Existem dois mecanismos potenciais para o aumento da perda de células epiteliais em infecções por *C. parvum*. O primeiro é um efeito citotóxico direto do organismo no epitélio intestinal, mas isso ainda está em discussão na literatura. O segundo e mais provável mecanismo pois foi encontrado em modelos de infecção *in vitro* e *in vivo* é a apoptose (Widmer, 2000; Buret; Chin; Scott, 2003; Foster; Smith, 2009).

A pesquisa mostrou que a ativação e inibição da apoptose é relacionado ao estágio de vida de *C. parvum*, sendo inibida durante o estágio de trofozoíto, quando o organismo é mais dependente do hospedeiro, mas aumenta posteriormente durante a infecção. Além disso, a incidência de apoptose varia ao longo do tempo entre células infectadas e células vizinhas não infectadas. Isso pode ser benéfico para o hospedeiro para limitar a disseminação do organismo, limitar a gravidade da perda celular e/ou acelerar a eliminação do organismo (Mele, 2004; Foster; Smith, 2009).

A análise histológica revela que as vilosidades intestinais, na região de fixação dos estágios endógenos, estão atrofiadas, aglutinadas e mais largas. As criptas de Lieberkuhn se apresentam dilatadas, com hiperplasia, e profundas, preenchidas por restos leucocitários, parasitas livres e células epiteliais descamadas. Na lâmina própria, encontra-se infiltrado inflamatório com neutrófilos, plasmócitos, linfócitos e macrófagos. A população de enterócitos maduros diminui e a quantidade de células imaturas aumenta (Scott et al.; Andrews, et al., 2008; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Figura 7 - Mucosa intestinal normal e infectada por *C. parvum* de um íleo de bezerro com aumento de 100x. (A) Mucosa ileal de bezerro normal. (B) e (C) Mucosa ileal de bezerro infectada experimentalmente com *C parvum*.



Fonte: Foster e Smith (2009)

Na Figura 7, é possível observar (B) e (C) o embotamento das vilosidades e a hiperplasia das criptas. Há alterações histológicas mais graves (C), pois as vilosidades estão mais atrofiadas e a mucosa não cobre mais totalmente a lâmina própria (hematoxilina e eosina).

A diarreia grave ocorre principalmente como resultado da infecção proximal do intestino delgado, enquanto as infecções confinadas ao íleo distal e/ou ao intestino grosso tendem a estar associadas à diarreia intermitente ou podem ser assintomáticas (Constable et al., 2017).

A diarreia observada na infecção por *Cryptosporidium* spp. é desencadeada por mecanismo de má absorção/ digestão ou do tipo secretória (hipersecreção de água e cloretos). A absorção líquida de fluido é causada pelo movimento de sódio acoplado com cloreto ou outros nutrientes na ponta vilosa versus a secreção de ânions nas criptas. Portanto, a absorção é prejudicada devido à perda das células epiteliais vilosas maduras e seus transportadores associados, bem como diminuição na área de superfície total (Argenzio et al., 1990; Argenzio; Lecce; Powell, 1993; Argenzio et al., 1994; Lallo; Gookin; Nordone; Argenzio, 2002; Foster; Smith, 2009; Bondan; Megid et al., 2018; Gomes et al., 2021).

Nos bezerros, é incomum encontrar *Cryptosporidium parvum* isoladamente, pois devido a destruição das vilosidades, predispõe a infecções secundárias (*E. Coli* enterotoxigênica (K99), Rotavírus, Coronavírus ou *Salmonella* spp., dentre outros) o que ocasiona complicações não apenas no diagnóstico devido aos sinais clínicos inespecíficos, mas também no tratamento e prognóstico (Rebhun, 2000; Martin; Gomes, 2019).

O período pré-patente varia de dois a sete dias em bezerros. Em geral, os animais domésticos infectados eliminam oocistos infectantes pelas fezes dentro de dois a 12 dias (Constable et al., 2017; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

2.6 SINAIS CLÍNICOS

Os sinais clínicos dependem de alguns fatores, assim como seu prognóstico, pois a intensidade do quadro clínico é influenciada pela carga parasitária, genótipo do parasita, espécie animal, idade (os animais jovens e imunocomprometido são mais suscetíveis), condições climáticas, competência imunológica e associação com outros patógenos (sendo os sintomas e prognóstico de maior gravidade, podendo levar ao óbito). Sendo assim, a infecção pode variar de subclínica à grave (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Conforme foi mencionado, devido à patogenia da doença, a diarreia é a consequência de todas as alterações que ocorrem nos enterócitos, porém nem todos tem diarreia como nos casos de infecções subclínicas. Não se acredita que infecções subclínicas decorram de proteção passiva conferida por anticorpos colostrais, pois estudos mostraram que tais anticorpos não têm efeito protetor; as infecções subclínicas permanecem inexplicáveis (Scott et al.; Andrews, et al., 2008). A ausência da doença clínica em adultos resulta da imunidade adquirida relacionada com a idade ou da variação da infectividade do parasito (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Indicam período de incubação de três a cinco dias em bovinos e em humanos de dois a três dias ou duas semanas, com estreita relação entre a ocorrência de diarreia e a excreção de oocistos (Scott et al.; Andrews, et al., 2008; CFSPH, 2021). Em muitos animais, a diarreia é autolimitante após poucos dias do início dos sinais entéricos, e os animais se recuperam dentro de seis a dez dias (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Em bezerros, é mais comum de ocorrer em neonatos em torno de cinco a 15 dias de idade, porém pode ocorrer entre uma a quatro semanas de vida (aproximadamente na mesma época em que ocorre diarreia por Rotavírus). As fezes variam em consistência de amolecidas a aquosas e podem conter leite não-digerido, sangue, muco e bile, de coloração que varia de esbranquiçada, amarelada a pálida, com odor desagradável, acompanhada da eliminação de grandes quantidades de oocistos. A diarreia pode ser intermitente e durar dois a 14 dias (geralmente cerca de sete dias quando o *Cryptosporidium* é o único patógeno). Pode ocasionar desidratação, apatia e redução de apetite (até a anorexia), déficit de crescimento,

emaciação, perda de peso e febre, variando se possui infecções mistas e exigindo tratamento adequado para o seu suporte. Em alguns momentos o tenesmo também pode ser observado. O óbito pode ocorrer secundário à desidratação (Tzipori et al., 1983; Rebhun, 2000; Scott et al.; Andrews, et al., 2008; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018; CFSPH, 2021).

A perda de água pelas fezes pode chegar até 18% do peso corpóreo do animal em 24 horas, além da perda de eletrólitos, principalmente de sódio, potássio, cloro e bicarbonato, que também é significativa e preocupante (Martin; Gomes, 2019).

Os sintomas do *Cryptosporidium* spp. em humanos geralmente começam de dois a 10 dias (média de sete dias) após a infecção pelo parasita. Os sintomas geralmente duram cerca de uma a duas semanas (variando de alguns dias a quatro ou mais semanas) em pessoas com sistema imunológico saudável (CDC, 2021). Os humanos infectados mostram amplo espectro de manifestações clínicas, como diarreia aquosa profusa leve a grave (no mínimo três episódios de diarreia aguda em 24 horas), ou seja, diminuição da consistência das fezes e aumento do número de evacuações, quadro que pode ser acompanhado de dor de cabeça, dor abdominal, gases, náusea, vômito, anorexia, mal estar e febre. Em geral, é uma doença autolimitada com duração de até 14 dias, a depender da espécie (patogenicidade) e características individuais do paciente, podendo evoluir para quadros de desidratação que varia de leve a grave (Hermida et al., 2007; Brasil, 2018; CFSPH, 2021).

Hospedeiros imunossuprimidos podem desenvolver forma de hiperinfecção da Criptosporidiose com risco de morte, como no caso dos muitos pacientes com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (Bowman, 2010).

2.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de uma suspeita de infecção por *Cryptosporidium* spp. se baseia no exame direto de amostras de fezes ou na concentração fecal associada ou não com técnicas de coloração de oocistos para exame microscópico (Taylor; Coop; Wall, 2017; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Os testes comuns de exames de fezes (técnica de flutuação) não conseguem detectar o *Cryptosporidium* spp., como no caso da *Eimeria* spp., pois o oocisto do *Cryptosporidium* spp. é muito menor, incolores e transparentes, sendo *C. parvum* 5 por 4,5 μ m e *C. andersoni* mede 7,4 por 5,6 μ m. Por esse motivo, ao enviar ao laboratório deve especificar a sua suspeita e pedir teste de diagnóstico específico para *Cryptosporidium* spp. (Upton e Current, 1985 apud Bowman, 2010; Rebhun, 2000; Scott et al.; Andrews, et al., 2008; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018; DPDx, 2019; CDC, 2021). Além disso, os oocistos podem ser confundidos com leveduras ou bactérias, então demanda tempo e experiência do parasitologista (Rebhun, 2000; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Caso encontre estruturas suspeitas de *Cryptosporidium* spp., existem alguns meios que podem ajudar a identificar, como usar lentes de maior aumento (40 \times – visualização do oocisto) ou (100 \times – visualização do esporozoíta), iluminação adequada ou usar a microscopia de contraste de fase onde usa diversas técnicas de coloração (p. ex., azul de metileno, Giemsa, iodo, Kinyoun) para aumentar o contraste óptico e ajudar a diferenciar os oocistos de leveduras (Bowman, 2010).

Mesmo que se suspeite e confirme *C. parvum*, devem-se considerar infecções mistas e enviar as fezes para avaliação bacteriológica e virológica (Rebhun, 2000). Tem sido sugerido que, se a diarreia estiver associada à Criptosporidiose, as fezes podem conter 10^5 a 10^7 oocistos por mililitro (Constable et al., 2017). Caso encontre apenas *Cryptosporidium* spp. nas fezes deve ser avaliado com cautela no diagnóstico, posto que o parasita é encontrado em animais domésticos com e sem diarreia. Em contraste, o resultado negativo de *Cryptosporidium* spp. em amostra de fezes não é suficiente para firmar o diagnóstico, visto que a eliminação do parasita pode ser intermitente (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

2.7.1 Coleta de amostras

Deve-se coletar amostras em três dias diferentes devido à eliminação do parasita ser de forma irregular, ou seja, um dia podem eliminar o parasita e outro dia não, então para garantir um resultado fidedigno coletar pelo menos três amostras em dias diferentes (CDC, 2021).

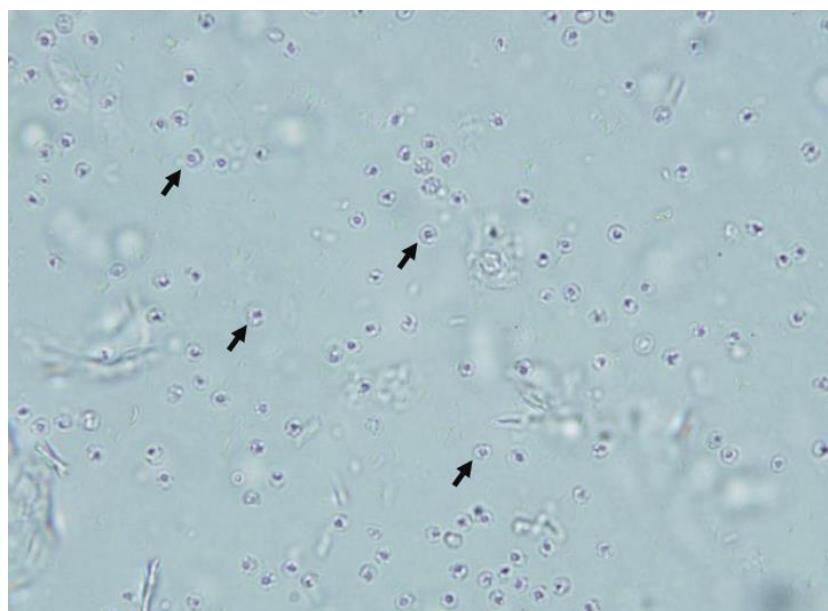
Para coletar as fezes dos bezerros, deve-se usar luvas e colocar em frascos coletores universais que podem ser comprados em farmácias ou lojas agropecuárias. Deve ser identificado com o número do registro do animal e data da coleta e enviados refrigerados para o laboratório o mais rápido possível. As fezes poderão ser mantidas refrigeradas (2 a 8°C) por no máximo sete dias. As fezes não podem ser congeladas para o diagnóstico direto do *Cryptosporidium*, pois os oocistos se rompem após o processo de congelamento, impossibilitando sua visualização (Martin; Gomes, 2019).

2.7.2 Concentração Fecal

As técnicas de concentração de oocistos servem de auxílio para diagnóstico clínico tanto em animais como em humanos. No laboratório, com as amostras de fezes são realizados processos para a separação e concentração dos oocistos antes da sua visualização no microscópio (Martin; Gomes, 2019).

Como métodos de concentração, existe o formaldeído-éter (Ritchie modificado) ou o mais comum que é centrífugo-flutuação com solução de sacarose saturada (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Figura 8 - Detecção de *Cryptosporidium* (setas) pela técnica de flutuação em solução saturada de sacarose.



Fonte: Martin, C.C., 2017

A solução concentrada de sacarose (densidade específica 1,33) é o método de flutuação de escolha para concentrar oocistos de *Cryptosporidium*. O oocisto aparece como pequena estrutura subesférica, que pode ser deformada pela extração osmótica de água por meio hipertônico. Eles tendem a permanecer imediatamente abaixo da lamínula, assim deve-se focar sobre uma bolha de ar para se obter o melhor plano focal para oocistos de *Cryptosporidium*. A parede dos oocistos pode ter um tom rosado, o que ajuda a encontrá-los; o tom rosado é causado por uma refração cromática e é melhor produzido por lentes objetivas de moderada qualidade. As paredes dos oocistos são brilhantes e incolores sob lente objetiva altamente corrigida (Bowman, 2010).

As técnicas de coloração mais comuns são: Ziehl-Nielsen, Kinyoun, Giemsa, fucsina-fenicada ou de safranina (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018). Em humanos a coloração mais utilizada é ácido-resistente com ou sem concentração de fezes (DPDx, 2019; CDC, 2021).

Uma estimativa qualitativa do número de oocistos pode ser obtida pela avaliação de esfregaços secos ao ar corados com o método de Ziehl-Neelsen modificado. O limite de detecção (sensibilidade) desse método é maior que 100.000 oocistos por grama de fezes (Taylor; Coop; Wall, 2017).

2.7.3 Testes Sorológicos

O diagnóstico da Criptosporidiose humana é utilizado diferentes técnicas imunológicas, diferente dos animais que são usados apenas em pesquisas. São técnicas recomendadas para o controle da infecção e não para o diagnóstico da infecção ativa. A detecção de oocistos nas fezes é comumente realizada pela técnica de imunofluorescência direta com anticorpos monoclonais ou policlonais; e/ ou imunoensaios enzimáticos para detecção de抗ígenos de *Cryptosporidium* spp., teste de Elisa direto (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018; DPDx, 2019; CDC, 2021). Sendo a microscopia de imunofluorescência com maior sensibilidade e especificidade, seguida dos imunoensaios enzimáticos (DPDx, 2019; CDC, 2021).

Os métodos que utilizam diferentes anticorpos fluorescentes que se ligam aos oocistos, requerem a disponibilidade de um microscópio com uma fonte de luz ultravioleta e conjuntos de filtros apropriados. Diversos testes projetados para uso em laboratórios de rotina foram aprovados para detecção de antígenos de *C. parvum* em material fecal humano, e os testes, embora caros, parecem funcionar bem em amostras bovinas (Bowman, 2010).

2.7.4 Técnica Molecular (PCR)

A técnica molecular é utilizada tanto para animais como para humanos, com objetivo de identificar a espécie e/ou genótipo do *Cryptosporidium*, sendo utilizado mais em pesquisas, porém possui como desvantagem o alto custo. A reação em cadeia da polimerase (PCR) por exemplo, são cada vez mais usados em laboratórios de diagnóstico de referência, pois podem ser usados para identificar *Cryptosporidium* em nível de espécimes fecais como em amostras ambientais e de água (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018; DPDx, 2019; Martin; Gomes, 2019; CDC, 2021).

Vários desses estudos tem mostrado a maior sensibilidade da PCR em detrimento das técnicas de exame direto de fezes, métodos tintoriais e de pesquisa de anticorpos. Embora a PCR seja rápida, sensível e acurada, apresenta limitações, como a detecção de ácido nucleico de organismo inviáveis e possibilidade de contaminação laboratorial (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

2.7.5 Histopatológico

A biopsia intestinal também tem sido utilizada no diagnóstico da Criptosporidiose em animais, embora seja limitado principalmente à pesquisa, por causa da dificuldade do procedimento. Os fragmentos de tecido coletados são corados por Ziehl-Neelsen ou Giemsa e possibilitam a visualização do parasito no intestino, principalmente na região do íleo e do ceco. Caso for corado com hematoxilina e eosina, pode analisar oocistos. Porém, em casos de autólise os cortes histológicos de íleo, por exemplo, pode ser pouco útil, pois os enterócitos desprendem da superfície da mucosa. A microscopia eletrônica de varredura e transmissão

também estão restritas a pesquisa, embora possibilitem identificar a localização intracelular, mas extracitoplasmática, característica do parasita (Rebhun, 2000; Scott et al.; Andrews, et al., 2008; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

2.8 TRATAMENTO

Têm-se testado muitas drogas quanto à eficácia contra o *Cryptosporidium*, porém devido à localização do parasita ser intracelular obrigatório e extracitoplasmático, os fármacos convencionais não conseguem atingir as concentrações terapêuticas adequadas, possuindo dificuldades no tratamento. Porém, nos casos de indivíduos e em animais imunocompetentes, a cura geralmente é espontânea (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

2.8.1 Coccidiostáticos

O *Cryptosporidium* por não ser mais classificado da subclasse coccidia, justifica o fato de os coccidiostáticos-padrão ser inefetivos, com exceção da lasalocida que tem mostrado resultados satisfatórios no controle da infecção em bovinos, embora seus efeitos terapêuticos estejam muito próximos dos tóxicos para os bezerros (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

2.8.2 Criptosporidiostático

A halofuginona tem mostrado redução na eliminação de oocistos pelas fezes e na mortalidade de animais tratados. É indicado em dose que varia de 60 a 125mg/kg VO, a cada 12 horas por sete dias (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018). Ou está disponível em doses de 1mg para cada 10kg de peso vivo (PV) para a prevenção de Criptosporidiose em bezerros (Taylor; Coop; Wall, 2017). Estudos indicaram que a administração de Halofuginona em bezerros infectados em dosagem de 60 a 125 μ g/kg PV (por exemplo, por sete dias a partir de um dia de idade) diminuiu a gravidade da doença clínica, bem como o número de oocistos nas fezes logo após o tratamento,

porém é contraindicado em bezerros severamente desidratados para evitar efeitos tóxicos (Constable et al., 2017).

2.8.3 Antibioticoterapia ou antiparasitário

Os antimicrobianos não são necessários, embora possam ser indicados nas infecções mistas que incluem patógenos bacterianos (Rebhun, 2000). A espiramicina e algumas outras drogas mostraram uma certa atividade contra o *C. Parvum*. Estudos experimentais em ratos imunossuprimidos revelaram que os antimicrobianos macrolídeos (azitromicina, claritromicina e eritromicina) reduzem a eliminação de oocistos (Rebhun, 2000; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018). Em seres humanos, o U.S. Food and Drug Administration (FDA) aprovou a utilização da nitazoxanida em suspensão oral para o tratamento da diarreia causada por *Cryptosporidium* em pessoas com sistema imunológico saudável e está disponível mediante receita médica (Bowman, 2010; CDC, 2021).

2.8.4 Tratamento de Suporte Clínico

Devido à dificuldade de se encontrar tratamento específico para o *Cryptosporidium*, o tratamento é realizado em suporte clínico do animal (sintomático). A reposição hidroeletrolítica nos animais desidratados e com diarreia, é atualmente um dos mais eficazes tratamentos. A escolha entre a fluidoterapia oral ou endovenosa irá depender do grau e severidade da desidratação (deve compensar as perdas de fluido causadas pela diarreia pelo *C. parvum*). Caso opte por oferecer soro oral, deve oferecer entre as alimentações lácteas em um intervalo de 3 horas e se o soro oral for oferecido junto ao leite, não pode conter bicarbonato de sódio, pois aumentam o pH do abomaso e impedem a digestão das proteínas lácteas agravando os quadros de diarreia. Além disso, deve-se continuar oferecendo uma fonte de nutrientes de alta qualidade (tal como leite completo ou um sucedâneo lácteo de qualidade duas vezes ao dia), mesmo com a diarreia presente, porque uma redução na ingestão pode levar à morte por inanição (Rebhun, 2000; Lallo; Constable et al., 2017; Bondan; Megid et al., 2018; Martin; Gomes, 2019).

A absorção de sódio e água ainda pode ocorrer em algum grau nas criptas quando acoplado com glicose ou aminoácidos neutros (por exemplo, glutamina), que pode ser usado para melhorar a absorção de solução de reidratação oral (Blikslager et al., 2001; Cole et al., 2003; Foster; Smith, 2009).

Durante o clima frio ou invernal extremo, os bezerros abrigados em gaiolas, ou neonatos deixados externamente, devem receber leite ou um sucedâneo de alta qualidade três vezes por dia, se a alimentação em duas vezes por dia falhar em manter a temperatura corporal, condição corporal ou a diarreia, pois a má digestão e a má absorção do *C. parvum* interfere com a utilização eficiente dos nutrientes (Rebhun, 2000).

Nos humanos algumas ações podem ser feitas para ajudar a aliviar os sintomas e acelerar a recuperação, como beber muito líquido para se manter bem hidratado e evitar a desidratação, manter uma dieta bem balanceada, evitar bebida alcoólica ou que contenha cafeína (pode levar a desidratação). Já nos casos mais graves e pessoas com deficiência imunológica, deve contatar um médico e ser hospitalizado pois pode exigir tratamento com fluidos administrados na veia (CDC, 2021).

2.9 CONTROLE E PREVENÇÃO

Como não possui eficiência no tratamento, a prevenção assume importância suprema. A Criptosporidiose humana ou animal só pode ser controlada se os oocistos do parasita forem eliminados ou destruídos. Porém, devido a sua resistência, existem outras formas de controle, como evitar o contato com o oocisto ou melhorar a resistência do hospedeiro para não ter um quadro grave.

2.9.1 Cuidados com o hospedeiro

Animais ou seres humanos imunodeficientes/imunossuprimidos devem evitar o contato com infectantes, isolando-os. Bezerros recém-nascidos devem ter atenção no oferecimento do colostro para garantir qualidade imunológica. Apesar de alguns

estudos relatarem que não possui proteção contra *Cryptosporidium*, o animal terá sinais clínicos leves devido ao seu sistema imunológico efetivo.

Constable et al. (2017) relataram que possui estudos sobre a imunidade passiva efetiva não só na exposição prévia à doença como também passado via colostro, porém ainda não está claro a sua efetividade. Alguns estudos já utilizaram colostro de mães imunizadas com antígenos nativos ou recombinantes, onde alguns bezerros jovens demonstraram efetividade e outros não.

Em fazendas de cria de bezerros com problemas recorrentes, o uso profilático de halofuginona pode ser considerado para o tratamento por sete dias consecutivos, iniciando 24 a 48h após o nascimento (Taylor; Coop; Wall, 2017).

Os cuidados sanitários em humanos incluem lavagem adequada das mãos das pessoas que trabalham diretamente com os animais (os desinfetantes para as mãos à base de álcool não são eficazes contra o *Cryptosporidium*) e usar EPIs como luvas e macacão. Lavar frutas e verduras antes de comer, além de evitar contaminação cruzada (DPDx, 2019).

Além disso, deve-se tomar cuidado e evitar beber água não tratada, ou que não sabe a procedência. Caso não seja possível, uma das formas é tomar água engarrafada comercialmente ou água previamente fervida durante pelo menos 1 minuto e deixar arrefecer. Já nos casos de água filtrada, deve ser projetado para remover *Cryptosporidium* spp., a etiqueta pode ter 'NSF 53' ou 'NSF 58'; ou rótulos de filtro que possui "tamanho de poro absoluto de 1 mícron ou menor" também são eficazes (CDC, 2021).

Devido ao aumento de casos, os veterinários podem aconselhar através de consultoria em fazendas sobre esse assunto. Ou relatar em casos de visitas escolares em fazendas ou até mesmo zoológicos (Constable et al., 2017).

Alguns estudos estão sendo desenvolvidos para produção de vacina contra a Criptosporidiose, porém nenhum está disponível comercialmente. O uso de uma vacina à base de oocistos inteiros de uma linha atenuada de *C. parvum* (irradiada com

gama) foi revisitado e mostrou resposta protetora em bezerros (Boulter Bitzer et al., 2007). Outro estudo com vacina contendo *C. parvum*, administrada via oral em bezerros imediatamente após o nascimento, tem protegido experimentalmente os animais desafiados com o parasita, embora demonstrem reduzida proteção em condições de campo (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

2.9.2 Identificação e isolamento de animais doentes

Deve detectar rapidamente as diarreias para isolamento das bezerras doentes através do escore fecal: Bezerros com fezes de escore 0 ou 1 são consideradas sem diarreia, enquanto animais com fezes de escores 2 ou 3 apresentam diarreia. O monitoramento das diarreias pode ser realizado duas vezes ao dia durante o aleitamento das bezerras (Martin; Gomes, 2019).

Bezerros doentes são comumente tratados pela mesma pessoa que alimenta os bezerros saudáveis, e deve-se tomar muito cuidado para evitar transmissão mecânica da infecção (Constable et al., 2017)

2.9.3 Resistência do *Cryptosporidium* spp.

Para a profilaxia da Criptosporidiose, recomenda alto padrão de higiene como o melhor procedimento de prevenção, mas os oocistos são extremamente resistentes aos desinfetantes, devido ao seu tamanho reduzido, que o permite atravessar determinados sistemas de filtração de água, por exemplo, com capacidade de flutuar, a tolerância à salinidade (sais) e variações de temperatura, podendo permanecer viáveis a -10°C por uma semana, a -8 °C por até dois meses, entre 0 e 20 °C por até seis meses ou até por longos períodos (≥ 18 meses) no ambiente úmido e seco, no solo e na lama (Constable et al., 2017; Martin; Gomes, 2019).

2.9.3.1 Desinfetantes

Possui resistência a vários desinfetantes químicos em suas concentrações comerciais, inclusive iodóforos, ácido cresílico, hipoclorito de sódio, cloreto de benzalcônio, hidróxido de sódio e desinfetantes à base de aldeído (Smith, 2006; Scott et al.; Andrews, et al., 2008; Bowman, 2010; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

São suscetíveis à dessecação, temperaturas acima de 60°C e luz ultravioleta, sendo reduzida a infectividade dos oocistos nas fezes dos bezerros por exemplo após um a quatro dias. A limpeza a vapor é outra medida de suporte, sendo eficaz na instrumentação em hospitais e pode ser adequada para descontaminação de instrumentação usada na agricultura para alimentação ou ordenha. Já nos casos de desinfecção física além do vapor, pode ser utilizado a vassoura de fogo. A infectividade dos oocistos pode ser destruída por amônia, formalina, liofilização e exposição a temperaturas abaixo de 0°C (32°F) e >65°C (149°F) (Smith, 2006; Scott et al.; Andrews, et al., 2008; Bowman, 2010; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Hidróxido de amônio, peróxido de hidrogênio, dióxido de cloro, solução salina de formol a 10% e amônia a 5% são eficazes na destruição da infectividade dos oocistos (Constable et al., 2017). Lallo e Bondan (Megid et al., 2018) relataram que a amônia 50%, formalina 10% por 30 minutos ou hipoclorito de sódio a 70 a 100% diminuiu a viabilidade dos oocistos. Porém, os desinfetantes à base de amônia liberam gases irritantes sendo prejudiciais aos animais (Constable et al., 2017) e o uso do formol como desinfetante é proibido pela Anvisa desde 2008 por ser carcinogênico (Ministério da Saúde, 2008).

O dióxido de cloro é um desinfetante oxidativo altamente eficiente na inativação de protozoários de veiculação hídrica, por sua capacidade de penetrar nas membranas celulares, inativando os microrganismos. O uso deste desinfetante é seguro para humanos e, segundo o fabricante, possui também ação contra vírus, bactérias, fungos e algas. Aproximadamente 90% dos oocistos de *C. parvum* foram inativados após uma hora de contato com o dióxido de cloro (Martin; Gomes, 2019).

Além disso, sabe-se que essa forma parasitária resiste também aos tratamentos convencionais da água, como a cloração e a filtração. A título de comparação, *Giardia* sp. foi 14 a 30 vezes mais sensível ao tratamento da água com cloro ou ozônio. Considerou-se o ozônio o agente químico mais eficaz na inativação dos oocistos do gênero *Cryptosporidium* (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018).

Pereira et al. (2008) em seu trabalho comparando a eficácia do cloro, dióxido de cloro e ozônio, o ozônio foi o produto mais eficaz para tratamento de água obtendo uma inativação de 100% com a concentração de 24mg/L.

2.9.4 Limpeza das instalações

Infelizmente, a maioria das fazendas leiteiras não consegue controlar efetivamente o *C. parvum*, uma vez que ele se estabeleça nas instalações. A contaminação ambiental tende a se alastrar através dos trabalhadores, do equipamento, e do movimento dos animais (Rebhun, 2000).

Os bezerros devem nascer em um ambiente limpo e devem separar os bezerros recém-nascidos da mãe no nascimento, oferecer colostro o mais rápido possível de boa qualidade e quantidade, além da realização da cura do umbigo. Mudá-los para um local individual, ao invés de coletivo, como por exemplo gaiolas (pelo menos nas primeiras duas semanas de vida). Caso não consiga deixar o animal separado individualmente, a instalação coletiva deve evitar a superlotação e manter longe dos animais mais velhos ou doentes (Rebhun, 2000; Constable et al., 2017; Lallo; Bondan; Megid et al., 2018; CFSPH, 2021).

Para a limpeza do bezerreiro é importante, primeiramente, que toda a cama e matéria orgânica sejam removidas, mas se deve tomar cuidado pois a remoção mecânica por exemplo com mangueira de pressão pode ter contaminação cruzada e transferir oocistos infectantes nas instalações, que não estão contaminadas (Constable et al., 2017; Martin; Gomes, 2019).

O tipo de piso e a suspensão das baias sobre o solo facilitaram o escoamento de fezes e urina, além de reduzir a umidade no piso dos alojamentos das bezerras (Martin; Gomes, 2019).

Martin e Gomes (2019) recomendaram que antes da utilização do desinfetante, a instalação seja lavada com água, e após com detergente alcalino devendo permanecer na superfície das instalações por, pelo menos, 15 minutos. O desinfetante recomendado foi o dióxido de cloro (concentração de 250ppm), porém só deve ser aplicado quando a instalação estiver seca. É importante que este processo seja feito antes das 24 horas da entrada da bezerra na instalação.

Caso não faça a desinfecção e vazio sanitário, o animal anterior que estava infectado, deixará os seus oocistos infectantes no ambiente devido à sua resistência e transmitirá para o próximo animal introduzido.

2.9.5 Destinação de dejetos

O estrume dos animais deve ser destinado em um local adequado, deve-se tomar cuidado com o tipo de solo, e densidade da vegetação na área, pois são os principais contribuintes de oocistos de *Cryptosporidium* no ambiente, sendo um risco de poluição de água potável e bacias hidrográficas. Em épocas de chuvas fortes, por exemplo, acaba facilitando o seu escoamento do chorume para as bacias hidrográficas. Geralmente, os animais de pasto devem ser excluídos do acesso às bacias hidrográficas e fontes de água através da introdução de zonas tampão (Constable et al., 2017).

Deve possuir destinação adequada de dejetos de humanos, com tratamento de esgotos e limpeza de caixas sanitárias com água fervente (Lallo; Bondan; Megid et al., 2018; CFSPH, 2021; CDC, 2021).

2.9.6 Cuidados com fômites

Assim como o bezerreiro, os utensílios utilizados para colostrar e aleitar as bezerras devem ser individuais e devem ser limpos e desinfetados (preferencialmente desmontados os bicos) após o uso e devem ser de boa qualidade para facilitar a sua limpeza. Primeiramente, devem ser enxaguados com água limpa, fria ou morna; após devem ser mergulhados em água a 60°C com água sanitária (1 ½ xícaras de água sanitária para 18,5 litros de água), permanecendo nesta solução por 5 minutos. Posteriormente, devem ser lavados com auxílio de escova e enxaguados com água morna com dióxido de cloro na concentração de 50 ppm, e após a secagem dos materiais, devendo guardar em local limpo, seco e livre de umidade. É recomendado realizar semanalmente a lavagem dos materiais utilizados no aleitamento com detergente ácido (Martin; Gomes, 2019).

Materiais laboratoriais realizados para diagnóstico podem ser imersos por aproximadamente uma hora em banho-maria pré-aquecido a 50°C e lavados posteriormente em uma solução detergente/desinfetante. Já a superfície que teve contato com oocistos devem ser desinfetados usando o seguinte protocolo: cubra completamente a superfície com peróxido de hidrogênio a 3% não diluído, dispense

peróxido de hidrogênio repetidamente, conforme necessário, para manter as superfícies afetadas cobertas e molhadas/úmidas por aproximadamente 30 minutos, absorva o peróxido de hidrogênio residual com toalhas de papel descartáveis e deixe as superfícies secarem completamente (10 a 30 minutos) antes de usar (DPDx, 2019).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do grau de complexidade da Criptosporidiose, identificar a fonte de infecção e fatores de risco na propriedade é de extrema importância para o desenvolvimento dos meios de controle e prevenção, já que os tratamentos disponíveis são pouco eficientes. Além disso, é uma doença subdiagnosticada em humanos e animais, nos quais não se pesquisa profundamente o agente etiológico envolvido nas diarreias. Sendo assim, são necessários novos estudos com base na profilaxia com resposta satisfatória.

Devido à principal via de transmissão ser oral-fecal e a principal fonte de infecção ser a água, deve possuir higienização não só das mãos que entram em contato com os infectados, como também deve haver tratamento de água ou evitar a sua contaminação em bacias hidrográficas.

REFERÊNCIAS

Anderson, B.C.; Bulgin, M.S. Enteritis caused by Cryptosporidium in calves. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 76:865-868, 1981.

Argenzio, R.A. et al. Villous atrophy, crypt hyperplasia, cellular infiltration, and impaired glucose-Na absorption in enteric cryptosporidiosis of pigs. *Gastroenterology* 1990;98(5 Pt 1):1129-40.

Argenzio RA, Lecce J, Powell DW. Prostanoids inhibit intestinal NaCl absorption in experimental porcine cryptosporidiosis. *Gastroenterology* 1993;104(2):440-7.

Argenzio RA, Rhoads JM, Armstrong M, et al. Glutamine stimulates prostaglandin-sensitive Na(1)-H1 exchange in experimental porcine cryptosporidiosis. *Gastroenterology* 1994;106(6):1418-28.

Azevedo, R.A. et al. Uberaba, Minas Gerais, 1^a Ed. 2020. 108p.

Blikslager A, Hunt E, Guerrant R, et al. Glutamine transporter in crypts compensates for loss of villus absorption in bovine cryptosporidiosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281(3):G645-53.

Bonsere, W. et al. Surtos de criptosporidiose pelo mundo: uma revisão sistemática. *Revista Brasileira de Meio Ambiente*, v.8, n.2, 2020.

BoulterBitzer JI, et al. *Biotechnol Adv.* 2007;25:13.

Bowman, D. D. Georgis – Parasitologia Veterinária. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010: 242 – 246.

Brasil. Ministério da Saúde. Doenças diarreicas agudas: causas, sintomas, tratamento e prevenção. 2018. Disponível em: <http://portalsms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-diarreicas-agudas>.

Buret AG, Chin AC, Scott KG. Infection of human and bovine epithelial cells with *Cryptosporidium andersoni* induces apoptosis and disrupts tight junctional ZO-1: effects of epidermal growth factor. *Int J Parasitol* 2003;33(12):1363-71.

Carreno, R.A; Martin, D.S; Barta, J.R. Cryptosporidium is more closely related to the gregarines than to coccidia as shown by phylogenetic analysis of apicomplexan parasites inferred using small-subunit ribosomal RNA gene sequences. *Parasitol Res.* 1999 Nov;85(11):899-904. doi: 10.1007/s004360050655. PMID: 10540950.

Carvalho, J.G. et al. Estudo longitudinal da infecção por enteropatógenos em bezerros neonatos, com diarreia, sob diferentes estratégias de aleitamento. *Pesq Vet Bras.* 2014. 34(6):529-553. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2014000600006>.

Cavalier-Smith, T. Gregarine site-heterogeneous 18S rDNA trees, revision of gregarinehigher classification, and the evolutionary diversification of Sporozoa. *Eur. J. Protistol.*, v. 50, n. 5, p. 472–495, oct. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25238406/>.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Parasites – Cryptosporidium (also known as “Crypto”). 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/crypto/>.

CFSPH. The Center for Food Security and Public Health: Zoonotic Diseases of Cattle. Iowa State University, College of Veterinary Medicine, 2021. Disponível em: <https://www.cfsph.iastate.edu/Assets/zoonotic-diseases-of-cattle-table.pdf>.

Cole J, Blikslager A, Hunt E, et al. Cyclooxygenase blockade and exogenous glutamine enhance sodium absorption in infected bovine ileum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284(3):G516–24.

Constable, P.D. et al. Parasitic Diseases of the Alimentary Tract. Veterinary Medicine: A textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats. Edição 11. Volume 1. Copyright, Elsevier Ltd., 2017: 397-401.

Current, W. L. Human cryptosporidiosis. *The New England Journal of Medicine*. 1983; 309: 614-5.

Current, W.L. Cryptosporidiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 187:1334-1338, 1985.

Current, W.L. Cryptosporidiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 187: 1334-1338, 1985.

DPDx. Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern. Cryptosporidiosis. 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/cryptosporidiosis/index.html>.

Fayer, R. Cryptosporidium: a water-borne zoonotic parasite. *Vet. Parasitology*. 2004, 126(1-2), p. 37–56.

Foster, D.M.; Smith, G.W. Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet Clin Food Anim* 25. Elsevier. 2009, 13–36, doi:10.1016/j.cvfa.2008.10.013.

Galvão, A. et al. Importância da Criptosporidiose como zoonose. *Archives of Veterinary Science*. 2012, 17 (2).

Gomes, V. et al. Doenças na fase de aleitamento e práticas de manejo sanitário na criação de bezerras. *Revista Brasileira de Buiatria - Clínica Médica*, Volume 1, Número 2, 2021.

Gomez, D.E.; Arroyo L.G.; Costa M.C.; Viel L. & Weese J.S. 2017. Characterization of the fecal bacterial microbiota of healthy and diarrheic dairy calves. *J.Vet. Intern. Med.* 31(3):928-939. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/jvim.14695> <PMid:28390070>.

Gookin JL, Nordone SK, Argenzio RA. Host responses to Cryptosporidium infection. *J Vet Intern Med* 2002;16(1):12–21.

Hermida, F.M. et al. Disinfection of drinking water contaminated with Cryptosporidium parvum oocysts under natural sunlight and using the photocatalyst. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2007; 88(2), 105-111.

Jex AR, et al. Oxford textbook of zoonoses (2 ed.): Biology, clinical practice, and public health control. In: Palmer SR, Soulsby L, Torgerson P, Brown DWG, eds. *Cryptosporidiosis*. Oxford, UK: Oxford University Press; 2011.

Lallo, M.A.; Bondan, E.F. Criptosporidiose. In: Megid, J.; Ribeiro, M.G.; Paes, A.C. *Doenças Infecciosas em animais de produção e de companhia*. 1 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2018. Pág. 985.

Madrid, D.M.C.; Bastos, T.S.A.; Jayme, V.S. Emergência da Criptosporidiose e impactos na saúde humana e animal. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*. Goiânia. 2015 dez; v.11 n.22; p1150.

Martin, C. Gomes, V. Bezerros em alerta: 10 dicas fundamentais que vão auxiliar você no dia da fazenda. *Revista Leite Integral*. Edição 129. Dezembro, 2019.

Martin CC, Basqueira NS, Ramos JS, Silva KN, Baccili CC, Brandão PE & Gomes V. 2020. Influência do uso precoce de antimicrobiano na saúde e no desempenho de bezerros holandeses no primeiro mês de vida. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 40(1):17-28.

Mele R. et al. *Cryptosporidium parvum* at different developmental stages modulates host cell apoptosis in vitro. *Infect Immun* 2004; 72(10):6061–7.

Ministério da Saúde .2008. Disponível em:
https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2008/res0091_28_11_2008.html.

Moore R. et al. Temporal changes in permeability and structure of piglet ileum after site-specific infection by *Cryptosporidium parvum*. *Gastroenterology*. 1995;108(4):1030–9.

Morgan-Ryan, U.M. et al. *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. *J. Eukaryot. Microbiol.*, v. 49, p. 433-440, 2002.

Nydam, D.V. et al. Number of *Cryptosporidium parvum* oocysts or *Giardia* spp cysts shed by dairy calves after natural infection. *Am J Vet Res*. 2001, 62:1612–1615.

Patel, S.; Pedraza-Diaz, S.; McLauchlin, J. The identification of *Cryptosporidium* species and *Cryptosporidium parvum* directly from whole faeces by analysis of a multiplex PCR of the 18S rRNA gene and by PCR/RFLP of the *Cryptosporidium* outer wall protein (COWP) gene. *Int. J. Parasitol.*, v.29, p.1241–1247, 1999.

Pereira, J.T. et al. Comparing the Efficacy of Chlorine, Chlorine Dioxide, and Ozone in the Inactivation of *Cryptosporidium parvum* in Water from Parana State, Southern Brazil. *Appl Biochem Biotechnol*. 2008, 151:464–473. DOI 10.1007/s12010-008-8214-3.

Phillips-Bell, G., Chang, L. Cryptosporidiosis outbreak at summer camp, North Carolina, 2009. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2011, 60(27), 918-922.

Pinheiro, F.A. et al. Efficacy of prepartum vaccination against neonatal calf diarrhea in Nelore dams as a prevention measure. *BMC Veterinary Research*. 2022, 18:323. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03391-5>.

Rebhun, W.C. Doenças do gado leiteiro. Criptosporidiose. São Paulo: Roca, 2000. Pág. 203 – 205.

Reif, J.S. et al. Human cryptosporidiosis associated with an epizootic in calves. Am J Public Health. 79: 1528-1530, 1989.

Ryan, U., Fayer, R., Xiao, L. Cryptosporidium species in humans and animals: current understanding and research needs. Parasitology. 2014; 141(13), 1667- 1685.

Scott, P.R. et al. Diarreia dos bezerros. In: Andrews, A.H. et al. Medicina Bovina: doenças e criação de bovinos. 2 ed. São Paulo, Roca, 2008. Pág. 180.; cap. 14.

Silva, F.M. P. Diagnóstico e caracterização molecular de Giardia duodenalis e Cryptosporidium spp. em amostras fecais de bovinos e ovinos. 2007. 134 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/90732>.

Silverlås, C.; De Verdier K.; Emanuelson U.; Mattsson J.G. & Björkman C. 2010. Cryptosporidium infection in herds with and without calf diarrhoeal problems. J. Parasitol. Res. 107(6):1435-1444. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-010-2020-x> <PMid:20714750

SMITH, B.P. Medicina Interna de Grandes Animais. 3^a edição. Barueri, São Paulo, Manole , 2006.

Spano, F.; Putignani, L.; Guida, S.; Crisanti, A. Cryptosporidium parvum: PCR-RFLP Analysis of the TRAP-C1 (Thrombospondin-Related Adhesive Protein of Cryptosporidium-1) Gene Discriminates between Two Alleles Differentially Associated with Parasite Isolates of Animal and Human Origin. Experimental Parasitology., v.90, n.2, p. 195-198, 1998.

Taylor, M. A.; Coop, R.L.; Wall, R.L. Parasitologia veterinária. 4. ed. – Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2017, 583 – 588.

Thomson, S., Hamilton, C.A., Hope, J.C. et al. Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. Vet Res 48, 42 (2017). <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0447-0>

Tzipori, S. et al. Experimental cryptosporidiosis in calves. clinical manifestations and pathological findings. Vet. Rec. 112:116-120, 1983.

USDA. 2018. Dairy 2014, Health and Management Practices on U.S. Dairy Operations,2014.

Vaala, W.E; House, J.K. Manifestações de doença no neonato. In: Smith, B.P. Medicina interna de grandes animais. 3^a edição. Barueri, São Paulo, Manole, 2006. Pág. 356.

VIDA. Veterinary investigation diagnosis analysis. APHA, SRUC. 2014. Disponível em: <https://www.gov.uk/government/publications/veterinary-investigation-diagnosis-analysis-vida-report-2014>.

Widmer G. et al. Host cell apoptosis impairs *Cryptosporidium parvum* development in vitro. J Parasitol 2000;86(5):922–8.

Wilczynski, J. et al. Outbreak of Cryptosporidiosis Associated with a Firefighting Response-Indiana and Michigan, June 2011. Morbidity and Mortality Weekly Report. 2012, 61(9), 153-156.

Windeyer, M.C. et al. Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. Preventive Veterinary Medicine, v.113,n.2,p.231-40,2014.

WU, Z. et al. Intraspecies polymorphism of *Cryptosporidium parvum* revealed by PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) and RFLP-single-strand conformational polymorphism analyses. Appl. Environ. Microbiol., v.69, n.8, p. 4720-4726, 2003.

Xiao, L. et al. Phylogenetic Analysis of *Cryptosporidium* Parasites Based on the Small-Subunit rRNA Gene Locus. Applied and Environmental Microbiology., v.65, n.4, p.1578-1583, 1999a.

Xiao, L. et al. Genetic Diversity within *Cryptosporidium parvum* and Related *Cryptosporidium* Species. Appl. Environ. Microbiol., v.65, n.8, p.3386-3391, 1999b.

Xiao, L. et al. Molecular characterization of *Cryptosporidium* oocysts in samples of raw surface water and wastewater. Appl. Environ. Microbiol., v.67, n.3, p.1097-1101, 2001.

Xiao, L. et al. *Cryptosporidium Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health*. *Clin. Microbiol. Rev.*, v.17, n.1, p. 72–97, 2004.

Yagita, K. et al. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from human and bovine infections in Japan. *Parasitol. Res.*, v.87, p.950-955, 2001.