

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**

**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INFECÇÃO POR *Cryptosporidium* EM BEZERROS E  
HUMANOS DE ASSENTAMENTOS RURAIS NA REGIÃO DE  
ARAÇATUBA, SÃO PAULO**

**Lucas Vinicius Shigaki de Matos**

Médico Veterinário

2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**

**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INFECÇÃO POR *Cryptosporidium* EM BEZERROS E  
HUMANOS DE ASSENTAMENTOS RURAIS NA REGIÃO DE  
ARAÇATUBA, SÃO PAULO**

**Lucas Vinicius Shigaki de Matos**

**Orientadora: Profa. Dra. Katia Denise Saraiva Bresciani**

**Coorientador: Prof. Dr. Alvimar José da Costa**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, área de Medicina Veterinária Preventiva.

**2014**

## INFECÇÃO POR *Cryptosporidium* EM BEZERROS E HUMANOS DE ASSENTAMENTOS RURAIS NA REGIÃO DE ARAÇATUBA, SÃO PAULO

**RESUMO-** Os objetivos foram determinar a ocorrência, avaliar a distribuição espacial e caracterizar molecularmente a infecção por *Cryptosporidium* spp. em bezerros e humanos procedentes de dois assentamentos rurais na região Noroeste do Estado de São Paulo, assim como associar a positividade para o parasito com as variáveis estudadas. Neste estudo, foram examinados 231 bovinos com até seis meses de idade e 54 pessoas dos dois assentamentos que mantêm uma relação estreita com os animais. Positividade diagnóstica da infecção por *Cryptosporidium* spp. foi observada em 17 bezerros, por meio da coloração negativa por verde malaquita e pela reação em cadeia da polimerase (nested-PCR) e somente por esta última técnica, em uma pessoa. Por meio da análise estatística de correspondência múltipla houve associação entre a ocorrência do referido protozoário por meio da nested-PCR com a consistência de fezes aquosas. Os sequenciamentos do DNA das amostras de fezes de bezerros revelaram em 15 amostras semelhança com *Cryptosporidium andersoni*, em uma *Cryptosporidium bovis* e em outra 100% de identidade com *Cryptosporidium parvum*, sendo essa espécie detectada no humano considerado infectado. A partir dos resultados obtidos nesse estudo, pode-se inferir que quanto à distribuição espacial, em um dos assentamentos, havia maior ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* nos bezerros examinados e nesse local foi detectado um humano positivo para esse parasito. Adicionalmente, em animais até dois meses de idade foi isolado *C. parvum* e nos acima dessa faixa etária, *C. bovis* e *C. andersoni*. Complementarmente, a consistência aquosa das fezes foi associada com a positividade para esse gênero parasitário.

**Palavras-chave:** criptosporidiose; ruminantes; humanos, nested-PCR; assentamentos.

## INFECTION BY *Cryptosporidium* IN CALVES AND HUMANS FROM RURAL SETTLEMENTS IN THE REGION OF ARAÇATUBA, SÃO PAULO

**ABSTRACT-** The objectives were to determine the occurrence, evaluate the spatial distribution and molecularly characterize infection by *Cryptosporidium* spp. in calves and humans living in two rural settlements in the northwestern state of São Paulo, as well as associate positiveness for the parasite to the studied variables. In this study, 231 cattle aged up to six months and 54 people from the two settlements who maintains a close relationship with the animals were examined. Diagnostic positivity of infection by *Cryptosporidium* spp. was observed in 17 calves by malachite green negative stain and polymerase chain reaction (nested PCR), and by only the latter technique, infection in one person. Statistical analysis of multiple correspondence showed an association between the presence of *Cryptosporidium* spp. by nested PCR, and watery stools. Analysis of the sequences revealed in 15 samples a similarity to *Cryptosporidium andersoni*, in one sample a resemblance with *Cryptosporidium bovis*, and in one sample 100% of identity with *Cryptosporidium parvum*, being this species detected in the person considered infected. From the results obtained in this study, it can be inferred that, as spatial distribution, in one of the settlements, there was a higher occurrence of *Cryptosporidium* infection in calves, and in this location a positive human for this parasite was detected. Additionally, in animals up to two months was isolated *C. parvum* and above this age range, *C. bovis* and *C. andersoni*. Complementarily, the aqueous consistency of stools was associated with seropositivity to this parasitic gender.

**Keywords:** cryptosporidiosis; ruminants; human, nested-PCR; settlements.

## 1. INTRODUÇÃO

Protozoários do gênero *Cryptosporidium* são coccídios intracelulares obrigatórios, têm distribuição cosmopolita e acometem 150 espécies de vertebrados (FAYER; MORGAN; UPTON, 2000), incluindo mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes (PLUTZER; KARANIS, 2009; SMITH; NICHOLS, 2010; FAYER, 2010; RYAN; POWER, 2012; THOMPSON; MONIS, 2012; GARCÍA- PRESEDO et al., 2013 a, GARCÍA - PRESEDO et al., 2013 b; SANTIN, 2013; BOUZID et al., 2013; SLAPETA, 2013).

Apesar da presença frequente de oocistos de *Cryptosporidium* nas fezes diarreicas (HUNTER; THOMPSON, 2005; GIANGASPERO et al., 2006), os animais infectados podem ser assintomáticos e não excretar oocistos (PONCE - MACOTELO et al., 2005; MCKENZIE et al., 2010; YOSHIUCHI et al., 2010; PANEGOSSO et al., 2013).

Quando *Cryptosporidium* é o único causador de diarreia, a mortalidade é baixa, mas dependendo da associação com outros agentes infecciosos, do grau de imunidade e do estado nutricional do hospedeiro, a taxa de óbitos poderá ser elevada (CHERMETTE; BOUFASSA-OUZROUT, 1988). A infecção normalmente leva a gastroenterite e diarreia de intensidade variável em animais domésticos (SANTÍN; TROUT, 2008) e humanos (XIAO et al., 2004; KARANIS; ALDEYARBI, 2011; BALDURSSON; KARANIS, 2011; CHALMERS; KATZER, 2013; AMER et al., 2013).

Com o advento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) na década de 1980, relatos de infecções oportunistas foram associados ao *Cryptosporidium* spp., que passou a ser considerado um importante patógeno em termos de saúde pública (FAYER, 2010; SMITH; NICHOLS, 2010; CIELOSZYK et al., 2012). Esse parasito foi incluído na Iniciativa das Doenças Negligenciadas da Organização Mundial da Saúde por sua estreita relação com a população de baixo poder aquisitivo, precárias condições de saneamento básico e da qualidade da água consumida (SAVIOLI; SMITH; THOMPSON, 2006; ASSIS et al., 2013).

A água de consumo pode ser contaminada com *Cryptosporidium* spp. por meio de fezes de bovinos (PENG et al., 1997), animais silvestres (GRACZYK et al. 1998), por esgotos, rios e lagos (FAYER; MORGAN; UPTON, 2000). Seus oocistos tem paredes pequenas e espessas, com baixo peso específico, o que facilita a sua disseminação pela água. Essas formas evolutivas são altamente resistentes aos desinfetantes habitualmente utilizados no tratamento hídrico (FAYER, 2004). Entre os principais agentes etiológicos de surtos de veiculação hídrica (BALDURSSON; KARANIS, 2011), esse protozoário, em muitos países foi incriminado como causador de quadros de desnutrição e morte em crianças (ROSSIGNOL, 2010; BERRILLI et al., 2012, BOUZID et al., 2013).

Análises genéticas identificaram 61 genótipos diferentes de *Cryptosporidium* (PLUTZER; KARANIS, 2009; SMITH; NICHOLS, 2010). Entre as 30 espécies nomeadas, 13 e 14 são encontradas em bovinos e seres humanos, respectivamente. Dessas, nove apresentam potencial zoonótico (SLAPETA, 2013), sendo mais prevalentes em seres humanos: *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium cuniculus* e ocasionalmente, *Cryptosporidium muris* (GATEI et al., 2006) *Cryptosporidium suis* (XIAO et al., 2002; LEONI et al., 2006), *Cryptosporidium ubiquitum* (ONG et al., 2002), *Cryptosporidium felis* e *Cryptosporidium canis* (XIAO, 2010; PLUTZER; KARANIS, 2009; SMITH; NICHOLS, 2010; CHALMERS; KATZER, 2013; SLAPETA et al., 2013; GALVÁN et al., 2014).

Devido à habilidade desse agente em infectar diversos hospedeiros e a sua presença constante no ambiente, humanos podem adquirir a infecção por diversas formas, sendo por meio da ingestão de alimentos e água contaminados com oocistos, contato direto com pessoas (antroponótica) ou animais (zoonótica) infectados (DEL COCO; CÓRDOBA; BASUALDO, 2009; XIAO, 2010). O aumento dos reservatórios de infecção e contaminação ambiental auxiliam na transmissão zoonótica (FAYER, 2004), sendo as enfermidades humanas causadas por algumas espécies de *Cryptosporidium* que também afetam ovinos e bovinos (CASEMORE; WRIGHT; COOP, 1997). Esses, eliminam oocistos do referido parasito e o contato com fezes destes animais ou água contaminada constituem vias de transmissão para seres humanos (OLSON et al., 2004; DEL COCO et al., 2013).

## 2.CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, pode-se inferir que quanto à distribuição espacial, em um dos assentamentos, havia maior ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* nos bezerros examinados e nesse local foi detectado um humano positivo para esse parasito. Adicionalmente, em animais até dois meses de idade foi isolado *C. parvum* e nos acima dessa faixa etária, *C. bovis* e *C. andersoni*. Complementarmente, a consistência aquosa das fezes foi associada com a positividade para esse gênero parasitário.