

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/08/2019.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE ARAÇATUBA**

**PRODUCTION OF *Cryptosporidium parvum*
RECOMBINANT PROTEINS AIMING THE
DEVELOPMENT OF DIAGNOSTIC METHODS**

Milena Sato de Souza
Médica Veterinária

ARAÇATUBA – SP
2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE ARAÇATUBA

PRODUCTION OF *Cryptosporidium parvum*
RECOMBINANT PROTEINS AIMING THE
DEVELOPMENT OF DIAGNOSTIC METHODS

Milena Sato de Souza
Orientador: Prof. Adjunto Marcelo Vasconcelos Meireles

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UNESP, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

ARAÇATUBA – SP
2017

Catálogo na Publicação(CIP)
Serviço de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Souza, Milena Sato de

S729o

Production of Cryptosporidium parvum recombinant proteins
aiming the development of diagnostic methods / Milena Sato de Souza.

Araçatuba: [s.n], 2017.

77f. il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária, 2017

Orientador: Prof. Adj. Marcelo Vasconcelos Meireles

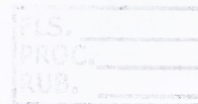
1. Criptosporidiose. 2. Saúde pública. 3. Zoonoses. I. T.

CDD 571.961



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Production of *Cryptosporidium parvum* recombinant proteins aiming the development of diagnostic methods

AUTORA: MILENA SATO DE SOUZA

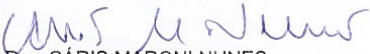
ORIENTADOR: MARCELO VASCONCELOS MEIRELES

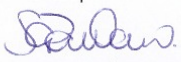
COORDENADOR: ALEX AKIRA NAKAMURA

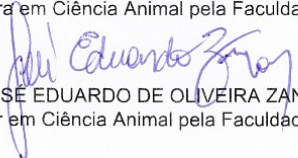
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MARCELO VASCONCELOS MEIRELES
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRÉSCIANI
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Profa. Dra. CÂRIS MARONI NUNES
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Dra. SILVANA DE CÁSSIA PAULAN
Doutora em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Dr. JOSÉ EDUARDO DE OLIVEIRA ZANON
Doutor em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Araçatuba, 15 de agosto de 2017.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MILENA SATO DE SOUZA – Santos – SP, 26 de setembro de 1988. Graduada em Medicina Veterinária pela Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), em dezembro de 2010. Bolsista de Iniciação Científica pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) de maio de 2009 a agosto de 2010. Mestrado em Ciência Animal na FMVA/UNESP e bolsista FAPESP de agosto de 2011 a novembro de 2013. Estágio de pesquisa no Laboratório *UK Cryptosporidium Reference Unit, Public Health Wales Microbiology* – Singleton Hospital, na cidade de Swansea, Reino Unido, entre outubro e dezembro de 2012 com bolsa FAPESP. Doutorado em Ciência Animal na FMVA/UNESP e bolsista FAPESP de março de 2014 a agosto de 2017. Estágio de pesquisa no Laboratório *Environmental Microbiology and Food Safety, Agricultural Research Service* – United States Department of Agriculture (USDA), na cidade de Beltsville, Estados Unidos, de janeiro de 2016 a janeiro de 2017 com bolsa FAPESP.

***« No one can make you feel inferior
without your consent. »***

Eleanor Roosevelt

***« In the end, it's not the years in your life that count,
it's the life in your years. »***

Abraham Lincoln

Dedico

*mais essa conquista à minha querida mãe,
simplesmente e absolutamente
por TUDO.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por iluminar meu caminho e me dar muita força sempre, especialmente nos momentos difíceis.

À minha mãe, por sempre me apoiar e incentivar em tudo, minha eterna gratidão.

Ao Professor Adjunto Marcelo Vasconcelos Meireles por me orientar durante todos esses anos, desde o mestrado.

À Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), pela disponibilização dos meios necessários que viabilizaram o desenvolvimento do projeto de doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro do projeto de pesquisa (2013/06622-3), bem como pela concessão da bolsa de doutorado (2013/24082-6) e bolsa de estágio de pesquisa no exterior (2015/07147-2), que foram essenciais para a conclusão desse trabalho.

Ao Animal Parasitic Diseases Laboratory (APDL), Agricultural Research Service (ARS) do United States Department of Agriculture (USDA) localizado no Beltsville Agricultural Research Center (BARC), Maryland, EUA, em especial ao Dr. Mark Jenkins, por aceitar o pedido de estágio em seu laboratório e ser tão paciente e dedicado, mesmo com as dificuldades durante todo o ano. Ao seu team Celia O’Brien e Carolyn Parker, por serem super atenciosas e ajudarem no dia-a-dia do laboratório. À Monica Santin, por auxiliar desde a preparação de documentos para retirada do visto, até indicação de contatos em um país

desconhecido por mim, além de se preocupar com o desenvolvimento do projeto. *Thank you so much!*

Aos membros da banca do Exame Geral de Qualificação, professoras Katia Denise Saraiva Bresciani e Flavia Lombardi Lopes pelas considerações e sugestões no trabalho.

Aos membros da banca de Defesa da Tese, professoras Katia Denise Saraiva Bresciani e Cárís Maroni Nunes da FMVA e aos colegas ex-pós-graduandos da casa Silvana de Cássia Paulan e José Eduardo de Oliveira Zanon por aceitarem prontamente o convite e ajudarem na etapa final.

Ao Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da FMVA, em especial à Isabel Pereira de Matos pelo apoio com a normalização da tese.

À Seção Técnica de Pós-graduação da FMVA, principalmente aos funcionários Isabella, Daniela e Joelmir por ajudar com todas as informações, normas, formulários, prazos e demais documentos necessários para o desenvolvimento do doutorado.

Aos meus amigos Fernanda, José Eduardo, Camila e Guilherme que, mesmo distantes em alguns momentos, estão sempre presentes em minha vida e tornaram esse período muito mais feliz e, sem dúvida, contribuíram com esse trabalho.

Aos colegas de laboratório Larissa, Gabriela, Kathlenn, Bruna, Elis e Vinicius pela troca de experiência e conversas descontraídas.

À técnica de laboratório Flávia por sua simpatia e disposição em sempre nos ajudar.

Aos meus *best roommies*: Rose, Rodrigo, Thiago, Mauricio, Mariana, Roberto e Ana, pelo adorável e harmonioso convívio durante minha estadia nos Estados Unidos.

A todos os pós-graduandos, estagiários e técnicos dos laboratórios pelo auxílio na pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	15
1 HISTÓRICO	16
2 TAXONOMIA	17
3 MORFOLOGIA E CICLO BIOLÓGICO	19
4 RELEVÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA	21
5 DIAGNÓSTICO	27
6 TRATAMENTO	30
7 PREVENÇÃO E CONTROLE	32
8 PROTEÍNAS RECOMBINANTES	33
9 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	36
10 OBJETIVOS	37
REFERÊNCIAS.....	38
 CAPÍTULO 2 – DETECTION OF <i>Cryptosporidium parvum</i> OOCYSTS BY INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE ASSAY USING ANTIBODIES PRODUCED AGAINST RECOMBINANT CP41 PROTEIN ..	 56
ABSTRACT	57
1 INTRODUCTION.....	58
2 MATERIAL AND METHODS.....	59
2.1 Production of recombinant protein	59
2.2 Protein purification	60
2.3 Immunization of rabbits for production of antisera	60
2.4 SDS-PAGE and immunoblotting of rCP41 or <i>C parvum</i> proteins	61
2.5 Indirect immunofluorescence staining of parasites	62
3 RESULTS AND DISCUSSION	62
REFERENCES	71

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 1

FIGURA 1 – Ciclo biológico do <i>Cryptosporidium</i> spp	21
--	----

CAPÍTULO 2

FIGURE 1 – SDS-PAGE showing expression of rCP41 in <i>E. coli</i> BL21(1-8), Rosetta recombinant (10-11) and Rosetta non-recombinant (12-13); M: protein molecular weight markers (kDa)	64
---	----

FIGURE 2 – SDS-PAGE of protein purification - rCP41 elutions (1-5); flow throw (6-7); unpurified (8); M: protein molecular weight markers (kDa).....	65
--	----

FIGURE 3 – Immunostaining of SDS-PAGE - rCP41 protein (A) or <i>C. parvum</i> total proteins (B) with rabbit antiserum to rCP41	66
---	----

FIGURE 4 – Immunofluorescence staining of Methanol fixed <i>C. parvum</i> with rabbit anti-rCP41 sera	67
---	----

FIGURE 5 – Immunofluorescence staining of Triton-X fixed <i>C. parvum</i> with rabbit anti-rCP41 sera	67
---	----

LISTA DE QUADROS

Página

CAPÍTULO 1

Quadro 1 – Espécies de *Cryptosporidium* atualmente descritas e seus principais hospedeiros, de acordo com o autor e ano de publicação 18

Quadro 2 – Fatores que afetam a prevalência e a vigilância adequada da criptosporidiose 24

PRODUÇÃO DE PROTEÍNA RECOMBINANTE DE *Cryptosporidium parvum* VISANDO O DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

RESUMO – *Cryptosporidium* spp. são parasitos protozoários que infectam principalmente as células epiteliais do trato digestivo em vários animais, incluindo humanos. Este protozoário causa doença entérica, que se caracteriza como diarreia auto-limitante em indivíduos saudáveis, ou mesmo doença fatal em pacientes imunodeficientes. *Cryptosporidium parvum* é a principal causa de infecção em mamíferos e é o principal responsável pela criptosporidiose zoonótica. Novos métodos de detecção, prevenção, tratamento e estratégias de controle para criptosporidiose em seres humanos são cada vez mais necessários. Anticorpos e proteínas recombinantes têm potencial para o desenvolvimento de medicamentos, vacinas ou podem ser usados para desenvolver técnicas de diagnóstico mais acessíveis com alta sensibilidade e especificidade. Neste estudo, o objetivo principal foi a expressão da proteína recombinante CP41 de *C. parvum* em *Escherichia coli* e produção de um anticorpo específico para CP41 recombinante (rCP41), visando a detecção de oocistos de *Cryptosporidium* por imunofluorescência.

Palavras-chave: criptosporidiose, saúde pública, zoonoses

PRODUCTION OF *Cryptosporidium parvum* RECOMBINANT PROTEIN AIMING THE DEVELOPMENT OF DIAGNOSTIC METHODS

SUMMARY – *Cryptosporidium* spp. are protozoan parasites that infect mainly the epithelial cells of the digestive tract in several animals including humans. This protozoan causes enteric disease, which may be a self-limiting diarrhea in healthy individuals, or even fatal illness in immunodeficient patients. *Cryptosporidium parvum* is the leading cause of infection in mammals and of zoonotic cryptosporidiosis. The development of new methods for detection, prevention, treatment and control strategies for cryptosporidiosis in humans are increasingly required. Antibodies and recombinant proteins have the potential for the development of drugs, vaccines or could be used to develop more affordable diagnostic techniques with high sensitivity and specificity. In this study, the main goal was the expression of a recombinant CP41 protein from *C. parvum* in *Escherichia coli* and preparation of antiserum specific for recombinant CP41 (rCP41). The research effort is related to detection of *Cryptosporidium* oocysts by immunofluorescence.

Keywords: cryptosporidiosis, public health, zoonosis

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Cryptosporidium spp. são protozoários coccídios que infectam mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes. Diversos animais, domésticos ou selvagens, são susceptíveis à infecção causada por inúmeras espécies e genótipos desse parasito, muitos dos quais também são encontrados em humanos (XIAO; FAYER, 2008).

A criptosporidiose em humanos pode ser assintomática ou causar diarreia, geralmente autolimitante em pessoas saudáveis, mas podendo ser fatal em indivíduos imunologicamente comprometidos, crianças abaixo de cinco anos de idade e idosos (BARALDI et al., 1999; HUNTER; NICHOLS, 2002; SAUDA et al., 1993; TALI et al., 2011). Em crianças, a doença pode levar à má absorção e diminuição do crescimento devido aos episódios de diarreia prolongada (AGNEW et al., 1998).

Em animais, os indivíduos jovens são os mais acometidos, particularmente os ruminantes em que a manifestação clínica mais observada é a diarreia líquida e profusa, odor fétido e coloração amarelada, podendo resultar em desidratação e anorexia. Entretanto, a doença pode se manter em estado subclínico e, em condições de imunossupressão ou estresse, ocorrer a reativação da eliminação de oocistos (FAYER; XIAO, 2008).

Diferentes animais vertebrados são parasitados por espécies zoonóticas de *Cryptosporidium* e, por isso, são considerados reservatórios do protozoário, assim como fontes de contaminação ambiental, representando um risco para a saúde pública em todo o mundo (XIAO et al., 2000).

Existem inúmeros métodos de detecção de *Cryptosporidium*, entretanto, algumas técnicas podem apresentar limitações como custo elevado, duração prolongada, baixa sensibilidade e especificidade (CHECKLEY et al., 2015).

REFERÊNCIAS

- AGNEW, D.G.; LIMA, A.A.M.; NEWMAM, R.D.; WUHIB, T.; MOORE, R.D.; GUERRANT, R.L.; SEARS, C.L. Cryptosporidiosis in northeastern Brazilian children: association with increases diarrhea morbidity. **The Journal of Infectious Diseases**, v.177, p.754-760, 1998.
- AJJAMPUR, S.S.; SARKAR, R.; SANKARAN, P.; KANNAN, A.; MENON, V.K.; MULIYIL, J.; WARD, H.; KANG, G. Symptomatic and asymptomatic *Cryptosporidium* infections in children in a semi-urban slum community in southern India. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.83, p.1110-1115, 2010.
- ALVAREZ-PELLITERO, P.; SITJÀ-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, p.1007-1021, 2002.
- ALVAREZ-PELLITERO, P.; QUIROGA, M. I.; SITJÀ-BOBADILLA, A.; REDONDO, M. J.; PALENZUELA, O.; PADRÓS, F.; VÁSQUEZ, S.; NIETO, J. M. *Cryptosporidium scophthalmi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from cultured turbot *Scophthalmus maximus*. Light and electron microscope description and histopathological study. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.62, p.133-145, 2004.
- ASHBOLT, N.J. Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions. **Toxicology**, v.198, p.229-238, 2004.
- ARROWOOD, M.J. Diagnosis. In: FAYER, editor. ***Cryptosporidium* and cryptosporidiosis**. New York: CRC Press; 1997, p. 43-64.

BALDURSSON, S.; KARANIS, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks – an update 2004-2010. **Water Research**, v.45, p.6603-6614, 2011.

BARALDI, S.R.; MARQUES, E.G.L.; DIAS, R.M.D.S. Ocorrência de *Cryptosporidium parvum* e *Isospora belli* na região de Campinas, SP. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.58, p.97-103, 1999.

BARTA, J. R.; THOMPSON, A.R.C. What is *Cryptosporidium*? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. **Trends in Parasitology**, v.22, p.463-468, 2006.

BAXBY, D.; BLUNDELL, N.; HART, C.A. The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocyst in faeces. **The Journal of Hygiene**, v. 93, p.317-323, 1984.

BLAGBURN, B.L.; BUTLER, J.M. Optimize intestinal parasite detection with centrifugal faecal flotation. **Veterinary Medicine**, v.101, p.455-464, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 dez 2011. Seção 1.

BRONDYK, W.H. Selecting an appropriate method for expressing a recombinant protein. **Methods in Enzymology**, v.463, p.131-147, 2009.

BROWNSTEIN, D. G.; STRANDBERG, J.D.; MONTALI, R.J.; BUSH, M.; FORTNER, J. *Cryptosporidium* in snakes with hypertrophic gastritis. **Veterinary Pathology**, v.14, p.606-617, 1977.

CABADA, M.M.; WHITE JUNIOR, A.C. Treatment of cryptosporidiosis: do we know what we think we know? **Current Opinion in Infectious Diseases**, v.23, p.494–99, 2010.

CASEMORE, D.P.; SANDS, R.L.; CURRY, A. *Cryptosporidium* species a “new” human pathogen. **Journal of Clinical Pathology**, v.38, p.1321-1336, 1985.

CDC. Journal Background and Goals. **Emerging infectious diseases**, Atlanta, Estados Unidos, 2017. Disponível em: < wwwnc.cdc.gov/eid/page/background-goals >. Acesso em: 25 jun 2017.

CHALMERS, R.M.; DAVIES, A.P. Minireview: clinical cryptosporidiosis. **Experimental Parasitology**, v.124, p.138-146, 2010.

CHECKLEY, W.; WHITE JUNIOR, A.C.; JAGANATH, D.; ARROWOOD, M.J.; CHALMERS, R.M.; CHEN, X.M.; FAYER, R.; GRIFFITHS, J.K.; GUERRANT, R.L.; HEDSTROM, L.; HUSTON, C.D.; KOTLOFF, K.L.; KANG, G.; MEAD, J.R.; MILLER, M.; PETRI JUNIOR, W.A.; PRIEST, J.W.; ROOS, D.S.; STRIEPEN, B.; THOMPSON, R.C.; WARD, H.D.; VAN VOORHIS, W.A.; XIAO, L.; ZHU, G.; HOUP, E.R. A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for *Cryptosporidium*. **The Lancet Infectious Diseases**, v.5, p.85–94, 2015.

CHICHINO, G.; BRUNO, A.; CEVINI, C.; ATZORI, C.; GATTI, S.; SCAGLIA, M. New rapid staining methods of *Cryptosporidium* oocyst in stools. **The Journal of Protozoology**, v.38, p.212S-214S, 1992.

COETZEE, N.; EDEGHERE, O.; ORENDI, J.; CHALMERS, R.; MORGAN, L. A swimming pool-associated outbreak of cryptosporidiosis in Staffordshire, England, October to December 2007. **Euro surveillance: European Communicable Disease Bulletin**, v. 13, p.1-3, 2008.

COLLIER, S.A.; STOCKMAN, L.J.; HICKS, L.A.; GARRISON, L.E.; ZHOU, F.J.; BEACH, M.J. Direct healthcare costs of selected diseases primarily or partially transmitted by water. **Epidemiology and Infection**, v.11, p.1–11, 2012.

COLLINET-ADLER, S.; WARD, H.D. Cryptosporidiosis: environmental, therapeutic, and preventive challenges. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 29, p. 927-935, 2010.

CREEK, T.L.; KIM, A.; LU, L.; BOWEN, A.; MASUNGE, J.; ARVELO, W.; SMIT, M.; MACH, O.; LEGWAILA, K.; MOTSWERE, C.; ZAKS, L.; FINKBEINER, T.; POVINELLI, L.; MARUPING, M.; NGWARU, G.; TEBELE, G.; BOPP, C.; PUHR, N.; JOHNSTON, S.P.; DASILVA, A.J.; BERN, C.; BEARD, R.S.; DAVIS, M.K. Hospitalization and mortality among primarily nonbreastfed children during a large outbreak of diarrhea and malnutrition in Botswana, 2006. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.53, p.14-19, 2010.

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

CURRENT, W. L.; UPTON, S. J.; HAYNES, T. B. The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. s. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. **Journal of Protozoology**, v.33, p.289-296, 1986.

D'ANTONIO, R.G.; WINN, M.D.; TAYLOR, J.; GUSTAFSON, T.L.; CURRENT, W.L.; RHODES, M.M.; GARY, G.W.; ZAJAC, R.A. A waterborne outbreak of cryptosporidiosis in normal hosts. **Annals of Internal Medicine**, v.103, p.886-888, 1985.

DE WAELE, V.; BERZANO, M.; BERKVEN, D.; SPEYBROECK, N.; LOWERY, C.; MULCAHY, G.M.; MURPHY, T.M. Age-stratified Bayesian analysis to estimate sensitivity and specificity of four diagnostic tests for detection of *Cryptosporidium* oocysts in neonatal calves. **Journal of Clinical Microbiology**, v.49, p.76-89, 2011.

DESAI, N.T.; SARKAR, R.; KANG, G. Cryptosporidiosis: an under-recognized public health problem. **Tropical Parasitology**, v.22, p.91-98, 2012.

DIERS, J.; MCCALLISTER, G.L. Occurrence of *Cryptosporidium* in home daycare centers in west-central Colorado. **Journal of Parasitology**, v.75, p.637-638, 1989.

DIETZ, V.; VUGIA, D.; NELSON, R.; WICKLUND, J.; NADLE, J.; MCCOMBS, K.G.; REDDY, S. Active, multisite, laboratory-based surveillance for

Cryptosporidium parvum. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.62, p.368-372, 2000.

DILLINGHAMA, R.A.; LIMAB, A.A.; GUERRANT, R.L. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. **Microbes and Infection**, v.4, p.1059-1066, 2002.

DUBEY, J.P.; SPEER, C.A.; FAYER, R. **Cryptosporidiosis of man and animals**. Boca Raton: CRC Press, 1990.

ELLIOT, A.; MORGAN, U.M.; THOMPSON, R.C. Improved staining method for detecting *Cryptosporidium* oocysts in stools using malachite green. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v.45, p.139-142, 1999.

ELWIN, K.; HADFIELD, S.J.; ROBINSON, G.; CROUCH, N.D.; CHALMERS, R.M. *Cryptosporidium viatorum* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) among travellers returning to Great Britain from the Indian subcontinent, 2007–2011. **International Journal for Parasitology**, v.42, p.675-682, 2012.

FAYER, R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. **Experimental Parasitology**, v.124, p.90-97, 2010.

FAYER, R.; NERAD, T. Effects of low temperatures on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Applied and Environmental Microbiology**, v.62, p.1431-1433, 1996.

FAYER, R.; SANTIN, M. *Cryptosporidium xiaoi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in sheep (*Ovis aries*). **Veterinary Parasitology**, v.164, p. 192-200, 2009.

FAYER, R.; XIAO, L. ***Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis**. 2nd. ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. 560p

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

FAYER, R.; SANTÍN, M.; MACARISIN, D. *Cryptosporidium ubiquitum* n. sp. In animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v.172, p.23-32, 2010.

FAYER, R.; SANTÍN, M.; TROUT, J.M. *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). **Veterinary Parasitology**, v.156, p.191-198, 2008.

FAYER, R.; SANTIN, M.; XIAO, L. *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). **Journal of Parasitology**, v.91, p.624-629, 2005.

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

FOUDRAINE, N.A.; WEVERLING, G.J.; VAN GOOL, T.; ROOS, M.T.; DE WOLF, F.; KOOPMANS, P.P.; VAN DEN BROEK, P.J.; MEENHORST, P.L.; VAN LEEUWEN, R.; LANGE, J.M.; REISS, P. Improvement of chronic diarrhoea in patients with advanced HIV-1 infection during potent antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 12, p. 35-41, 1998.

FRANCO, R.M.B.; CORDEIRO, N.S. Giardíase e criptosporidiose em creches no município de Campinas, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.29, p.583-591, 1996.

FRANCO, R.M.B.; BRANCO, N.; LEAL, D.A.G. Parasitologia ambiental: métodos de concentração e detecção de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em amostras de água. **Revista de Patologia Tropical**, v.41, p.119-135, 2012.

FUJINO, T.; MATSUI, T.; KOBAYASHI, F.; HARUKI, K.; YOSHINO, Y.; KAJIMA, J.; TSUJI, M. The effect of heating against *Cryptosporidium* oocysts. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.64, p.199-200, 2002.

GARGALA G. Drug treatment and novel drug target against *Cryptosporidium*. **Parasite**, v.15, p.275-281, 2008.

GILL, D.R.; PRINGLE, I.A.; HYDE, S.C. Progress and prospects: the design and production of plasmid vectors. **Gene Therapy**, v.16, p.165-171, 2009.

GRACZYK, T.K.; CRANFIELD, M.R.; FAYER, R. Evaluation of commercial enzyme immunoassay (EIA) and immunofluorescent antibody (FA) test kits for detection of *Cryptosporidium* oocysts of species other than *Cryptosporidium parvum*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.54, p.274–279, 1996.

HADFIELD, S.J.; ROBINSON, G.; ELWIN, K.; CHALMERS, R.M. Detection and differentiation of *Cryptosporidium* spp. in human clinical samples using real-time PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v.49, p.918-924, 2011.

HOLUBOVÁ, N.; SAK, B.; HORČIČKOVÁ, M.; HLÁSKOVÁ, L.; KVĚTOŇOVÁ, D.; MENCHACA, S.; MCEVOY, J.; KVÁČ, M. *Cryptosporidium avium* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in birds. **Parasitology Research**, v.115, p.2243-2251, 2016.

HUNTER, P.R.; NICHOLS, G. Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. **Clinical Microbiology Reviews**, v.15, p.145-154, 2002.

HUNTER, P. R.; THOMPSON, R. C. A. The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. **International journal for parasitology**, v. 35, p. 1181-1190, 2005.

ISEKI, M. *Cryptosporidium felis* sp from the domestic cat. **Japanese Journal of Parasitology**, v.28, p.13-35, 1979.

JEX, A.R.; SMITH, H.V.; MONIS, P.T.; CAMPBELL, B.E.; GASSER, R.B. *Cryptosporidium* – biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. **Biotechnology Advances**, v.26, p.304-17, 2008.

JIRKŮ, M.; VALIGUROVÁ, A.; KOUDELA, B.; KŘÍŽEK, J.; MODRÝ, D.; ŠLAPETA, J. New species of *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907 (Apicomplexa) from amphibian host: morphology, biology and phylogeny. **Folia Parasitologica**, v.55, p.81-94, 2008.

KLEIN, P.; CIRIONI, O.; GIACOMETTI, A.; SCALISE, G. In vitro and in vivo activity of aurintricarboxylic acid preparations against *Cryptosporidium parvum*. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.62, p.1101-1104, 2008.

KOTLOFF, K.L.; NATARO, J.P.; BLACKWELDER, W.C.; NASRIN, D.; FARAG, T.H.; PANCHALINGAM, S.; WU, Y.; SOW, S.O.; SUR, D.; BREIMAN, R.F.; FARUQUE, A.S.; ZAIDI, A.K.; SAHA, D.; ALONSO, P.L.; TAMBOURA, B.; SANOGO, D.; ONWUCHEKWA, U.; MANNA, B.; RAMAMURTHY, T.; KANUNGO, S.; OCHIENG, J.B.; OMORE, R.; OUNDO, J.O.; HOSSAIN, A.; DAS, S.K.; AHMED, S.; QURESHI, S.; QUADRI, F.; ADEGBOLA, R.A.; ANTONIO, M.; HOSSAIN, M.J.; AKINSOLA, A.; MANDOMANDO, I.; NHAMPOSSA, T.; ACÁCIO, S.; BISWAS, K.; O'REILLY, C.E.; MINTZ, E.D.; BERKELEY, L.Y.; MUHSEN, K.; SOMMERFELT, H.; ROBINS-BROWNE, R.M.; LEVINE, M.M. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. **Lancet**, v.13, p.60844-60842, 2013.

KOUDELA, B.; MODRÝ, D. New species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) from lizards. **Folia Parasitologica**, v.45, p.93-100, 1998.

KVÁČ, M.; HOFMANNOVÁ, L.; HLASKOVÁ, L.; KVETONOVÁ, D.; VÍTOVEC, J.; MCEVOY, J.; SAK, B. *Cryptosporidium erinacei* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in hedgehogs. **Veterinary Parasitology**, v.201, p.9-17, 2014.

KVÁČ, M.; KESTŘÁNOVÁ, M.; PINKOVÁ, M.; KVĚTOŇOVÁ, D.; KALINOVÁ, J.; WAGNEROVÁ, P.; KOTKOVÁ, M.; VÍTOVEC, J.; DITRICH, O.; MCEVOY, J.; STENGER, B.; SAK, B. *Cryptosporidium scrofarum* n. sp. (Apicomplexa:

Cryptosporidiidae) in domestic pigs (*Sus scrofa*). **Veterinary Parasitology**, v.191, p.218-227, 2013.

KVÁČ, M.; HAVRDOVÁ, N.; HLÁSKOVÁ, L.; DAŇKOVÁ, T.; KANDĚRA, J.; JEŽKOVÁ, J.; VÍTOVEC, J.; SAK, B.; ORTEGA, Y.; XIAO, L.; MODRÝ, D.; CHELLADURAI, J.R.J.J.; PRANTLOVÁ, V.; McEVOY, J. *Cryptosporidium proliferans* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae): Molecular and biological evidence of cryptic species within gastric *Cryptosporidium* of mammals. **PLoS One**, v.11, 2016.

LEVINE, N.D. Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. **Journal of Parasitology**, v.66, p.830-834, 1980.

LEVINE, N.D. Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa). **Journal of Protozoology**, v.31, p.94-98, 1984.

LI, X.; PEREIRA, M.G.C.; LARSEN, R.; XIAO, C.; PHILLIPS, R.; STRIBY, K.; McCOWAN, B.; ATWILL, E.R. *Cryptosporidium rubeyi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in multiple *Spermophilus* ground squirrel species. **Internacional Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v.4, p.343-350, 2015.

LINDSAY, D.S.; UPTON, S.J.; OWENS, D.S.; MORGAN, M.; MEAD, J.R.; BLAGBURN, B.L. *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from Cattle, *Bos Taurus*. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 47, p. 91-95, 2000.

MACKENZIE, W.R.; HOXIE, N.J.; PROCTOR, M.E.; GRADUS, M.S.; BLAIR, K.A.; PETERSON, D.E.; KAZMIERCZAK, J.J.; ADDISS, D.G.; FOX, K.R.; ROSE, J.B.; DAVIS, J.P. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. **New England Journal of Medicine**, v.331, p.161-167, 1994.

MARTINS, S.; SOUSA S.; MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; BACELAR, J.; CANNAS DA SILVA, J. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in

Northwest Portugal dairy calves and efficacy of Halofuginone Lactate on the prevention of cryptosporidiosis. **Cattle Practice**, v.15, p.152-156, 2007.

MASCARINI, L.M.; DONALÍSIO, M.R. Giardíase e criptosporidiose em crianças institucionalizadas em creches no estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, p.577-579, 2006.

MEISEL, J.L.; PERERA, D.R.; MELIGRO, B.S.; RUBIN, C.E. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. **Gastroenterology**, v.70, p.1156-1160, 1976.

MENGIST, H.M.; TAYE, B.; TSEGAYE, A. Intestinal parasitosis in relation to CD4 + T cells levels and anemia among HAART initiated and HAART naive pediatric HIV patients in a model ART center in Addis Ababa, Ethiopia. **PLoS One**, v.10, 2015.

MIAO, Y.M.; AWAD-EL-KARIEM, F.M.; FRANZEN, C.; ELLIS, D.S.; MÜLLER, A.; COUNIHAN, H.M.; HAYES, P.J.; GAZZARD, B.G. Eradication of cryptosporidia and microsporidia following successful antiretroviral therapy. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v.25, p. 124-129, 2000.

MILLER, C.N.; JOSSÉ, L.; BROWN, I.; BLAKEMAN, B.; POVEY, J.; YIANGOU, L.; PRICE, M.; CINATL, J.J.; XUE, W.F.; MICHAELIS, M.; TSAOUSIS, A.D. A Cell culture platform for *Cryptosporidium* that enables long-term cultivation and new tools for the systematic investigation of its biology. **BioRxiv**, p.134770, 2017. Disponível em: <<http://www.biorxiv.org/content/early/2017/05/04/134270>>. Acesso em: 04 jul. 2017.

MONCLARO, A.V. Expressão de proteínas recombinantes: sistema vetor-hospedeiro. **Materiais e Métodos**, v. 2, p.123, 2012.

MORGAN-RYAN, U. M.; FALL, A.; WARD, L. A.; HIJJAWI, N.; SULAIMAN, I.; FAYER, R.; THOMPSON, R. C. A.; OLSON, M.; LAL, A.; XIAO, L.

Cryptosporidium hominis n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. **Journal Eukaryotic Microbiology**, v.49, p.433-440, 2002.

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

OSHIRO, E.T.; DORVAL, M.E.C.; NUNES, V.L.B.; SILVA, M.A.A.; SAID, L.A.M. Prevalência do *Cryptosporidium parvum* em crianças abaixo de 5 anos, residentes na zona urbana de Campo Grande, MS, Brasil, 1996. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.33, p.277-280, 2000.

OSTERHOLM, M.T.; REVES, R.R.; MURPH, J.R.; PICKERING, L.K. Infectious disease and child day care. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.11, p.32-41, 1992.

PAINTER, J. E.; HLAVSA, M. C.; COLLIER, S. A.; XIAO, L.; YODER, J. S. Cryptosporidiosis Surveillance - United States, 2011–2012. **The Morbidity and Mortality Weekly Report Surveillance Summaries**, v. 64, p. 1-14, 2015.

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

PAVLÁSEK, I. Cryptosporidia: Biology, diagnosis, host spectrum, specificity, and the environment. **Remedia - Klinicka Mikrobiologie**, v.3, p.290-301, 1999.

PAVLÁSEK, I.; LÁVICKOVÁ, M.; HORÁK, P.; KRÁL, J.; KRÁL, B. *Cryptosporidium varanii* n.sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in Emerald monitor (*Varanus prasinus* Schlegel, 1893) in captivity in Prague zoo. **Gazella**, v.22, p.99-108, 1995.

POHJOLA, S. Negative staining method with nigrosin for the detection of cryptosporidial oocysts: a comparative study. **Research in Veterinary Science**, v.36, p.217-219, 1984.

POKORNY, N.J.; WEIR, S.C.; CARRENO, R.A.; TREVORS, J.T.; LEE, H. Influence of temperature on *Cryptosporidium parvum* oocyst infectivity in river water samples as detected by tissue culture assay. **The Journal of Parasitology**, v.88, p.641-643, 2002.

POWER, M.; RYAN, U. *Cryptosporidium macropodum* n.sp (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from eastern gray kangaroos (*Macropus giganteus*). **Journal of Parasitology**, v.94, p.1114-1171, 2008.

PUTIGNANI, L.; MENICHELLA, D. Global distribution, public health and clinical impact of the protozoan pathogen *Cryptosporidium*. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2010, p.1-39, 2010.

RAMIREZ, N.E.; WARD, L.A.; SREEVATSAN, S. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. **Microbes and Infection**, v.6, p.773-785, 2004.

RASKOVÁ, V.; KVETONOVÁ, D.; SAK, B.; MCEVOY, J.; EDWINSON, A.; STENGER, B.; KVÁC, M. Human cryptosporidiosis caused by *Cryptosporidium tyzzeri* and *C. parvum* isolates presumably transmitted from wild mice. **Journal of Clinical Microbiology**, v.51, p.360-362, 2013.

RAZZOLINI, M.; DA SILVA SANTOS, T.; BASTOS, V. Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* cysts/oocysts in watersheds and drinking water sources in Brazil urban areas. **Journal of Water and Health**, v. 8, p. 399-404, 2010.

ROBINSON, G.; WRIGHT, S.; ELWIN, K.; HADFIELD, S.J.; KATZER, F.; BARTLEY, P.M.; HUNTER, P.R.; NATH, M.; INNES, E.A.; CHALMERS, R.M. Re-description of *Cryptosporidium cuniculus* Inman and Takeuchi, 1979 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae): morphology, biology and phylogeny. **International Journal for Parasitology**, v.40, p.1539-1548, 2010.

ROSANO, G.L.; CECCARELLI, E.A. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. **Frontiers in Microbiology**, v.5, p.172, 2014.

ROSSIGNOL, J.F. Nitazoxanide in the treatment of acquired immune deficiency syndrome-related cryptosporidiosis: results of the United States compassionate use program in 365 patients. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v.24, p.887-894, 2006.

ROTTERDAM, H.; TSANG, P. Gastrointestinal disease in the immunocompromised patient. **Human Pathology**, v. 25, p.1123-1140, 1994.

RYAN, U.; FAYER, R.; XIAO, L. *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. **Parasitology**, v. 141, n. 13, p. 1667- 1685, 2014.

RYAN, U.M.; POWER, M.; XIAO, L. *Cryptosporidium fayeri* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from the Red Kangaroo (*Macropus rufus*). **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v.55, p.22–26, 2008.

RYAN, U.; PAPARINI, A.; TONG, K.; YANG, R.; GIBSON-KUEH, S.; O'HARA, A.; LYMBERY, A.; XIAO, L. *Cryptosporidium huwi* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the guppy (*Poecilia reticulata*). **Experimental Parasitology**, v.150, p.31-35, 2015.

RYAN, U. M.; XIAO, L.; READ, C.; SULAIMAN, M.; MONIS, P.; LAL, A. A.; FAYER, R.; PAVLASEK, I. A redescription of *Cryptosporidium galli* Pavlasek, 1999 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from birds. **Journal of Parasitology**, v.89, p.809-813, 2003.

RYAN, U. M.; MONIS, P.; ENEMARK, H. L.; SULAIMAN, I.; SAMARASINGHE, B.; READ, C.; BUDLE, R.; RBERTSON, I.; ZHOU, L.; THOMPSON, R. C. A.; XIAO, L. *Cryptosporidium suis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in pigs (*Sus scrofa*). **Journal of Parasitology**, v.4, p.769-773, 2004.

SAUDA, F.C.; ZAMARIOLI, L.A.; EBNER FILHO, W.; MELLO, L.B. Prevalence of *Cryptosporidium* sp. and *Isospora belli* among AIDS patients attending Santos Reference Center for AIDS, São Paulo, Brazil. **The Journal of Parasitology**, v.79, p.454-456, 1993.

SAVIOLI, L.; SMITH, H.; THOMPSON, A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the “neglected diseases initiative”. **Trends in Parasitology**, v.22, p.203-208, 2006.

SHAHIDUZZAMAN, M.; DYACHENKO, V.; KHALAFALLA, R.E.; DESOUKY, A.Y.; DAUGSCHIES, A. Effects of curcumin on *Cryptosporidium parvum* in vitro. **Parasitology Research**, v.105, p.1155-1161, 2009.

SLAVIN, D. *Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.). **Journal of Comparative Pathology**, v.65, p.262-266, 1955.

SMITH, H.V.; ROSE, J.B. Waterborne Cryptosporidiosis: current status. **Parasitology Today**, v.14, p.14-22, 1998.

SMITH, H.V.; CACCIÒ, S.M.; COOK, N.; NICHOLS, R.A.; TAIT, A. *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. **Veterinary Parasitology**, v.149, p.29-40, 2007.

SRÉTER, T.; VARGA, I. Cryptosporidiosis in birds: a review. **Veterinary Parasitology**, v.87, p.261-279, 2000.

STRACHAN, T.; READ, A. P. **Genética molecular humana**. 4. ed., Porto Alegre: Artmed, 2013, 808p.

TALI, A.; ADDEBBOUS, A.; ASMAMA, S.; CHABAA, L.; ZOUGAGHI, L. Respiratory cryptosporidiosis in two patients with HIV infection in a tertiary care hospital in Morocco. **Annales de Biologie Clinique**, v.69, p.605-608, 2011.

TANIUCHI, M.; SOBUZ, S.U.; BEGUM, S.; PLATTS-MILLS, J.A.; LIU, J.; YANG, Z.; WANG, X.Q.; PETRI JUNIOR, W.A.; HAQUE, R.; HOUP, E.R. Etiology of diarrhea in Bangladeshi infants in the first year of life analyzed using molecular methods. **The Journal of Infectious Diseases**, v.208, p.1794–1802, 2013.

TULI, L.; SINGH, D.K.; GULATI, A.K.; SUNDAR, S.; MOHAPATRA, T.M. A multiattribute utility evaluation of different methods for the detection of enteric

protozoa causing diarrhea in AIDS patients. **BMC Microbiology**, v.10, p.11, 2010.

TYZZER, E. E. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.5, p.12-13, 1907.

TYZZER, E.E. An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.), of the gastric glands of the common mouse. **Journal of Medical Research**, v.23, p.487-509, 1910.

TYZZER, E.E. *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. **Archives fur Protistenkunde**, v.26, p.394-412, 1912.

TZIPORI, S.; WARD, H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. **Microbes and Infection**, v.4, p.1047-1058, 2002.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in Water by Filtration/IMS/FA**. EPA- 821-R-01-25, Washington, DC: Environmental Protection Agency Publication. U.S. Environmental Protection Agency, 2005.

VALLAT, B. **Emerging and re-emerging zoonoses**. Editorials, 2017. Disponível em: < www.oie.int/for-the-media/editorials/detail/article/emerging-and-re-emerging-zoonoses >. Acesso em: 25 jun 2017.

VETTERLING, J.M.; JERVIS, H.R.; MERRILL, T.G.; SPRINZ, H. *Cryptosporidium wrairi* sp. n. from the Guinea pig *Cavia porcellus*, with an emendation of the genus. **Journal of Protozoology**, v.18, p.243-247, 1971.

VOHRA, P.; SHARMA, M.; CHAUDARY, U. A comprehensive review of diagnostic techniques for detection of *Cryptosporidium parvum* in stool samples. **Journal of Pharmaceutical**, v.2, p. 15-26, 2012.

WIDERSTRÖM, M.; SCHÖNNING, C.; LILJA, M.; LEBBAD, M.; LJUNG, T.; ALLESTAM, G.; FERM, M.; BJÖRKHOLM, B.; HANSEN, A.; HILTULA, J. Large outbreak of *Cryptosporidium hominis* infection transmitted through the public water supply, Sweden. **Emerging infectious diseases**, v. 20, p. 581, 2014.

XIAO, L.; CAMA, V. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. In: ORTEGA, Y. R. **Foodborne Parasites**. New York: Springer Verlag, 2006.

XIAO, L.; FAYER, R. Molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. **International Journal for Parasitology**, v.38, p.1239-1255, 2008.

XIAO, L.; ALDERISIO, K.; LIMOR, J.; ROYER, M.; LAL, A.A. Identification of species and sources of *Cryptosporidium* oocysts in storm waters with a small-subunit rRNA-based diagnostic and genotyping tool. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, p.5492-5498, 2000.

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

XIAO, L.; SULAIMAN, I.M.; 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 taxonomy and public health. **International Journal for Parasitology**, v.32, p.1773-1785, 2002.

YODER, J.S.; WALLACE, R.M.; COLLIER, S.A.; BEACH, M.J.; HLAVSA, M.C. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Cryptosporidiosis surveillance – United States, 2009-2010. **Morbidity and Mortality Weekly Report Surveillance Summaries**, v.61, p.1-12, 2012.

ZAGLOOL, D.A.; MOHAMED, A.; KHODARI, Y.A.; FAROOQ, M.U. *Crypto-Giardia* antigen rapid test versus conventional modified Ziehl-Neelsen acid fast staining method for diagnosis of cryptosporidiosis. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.6, p.212-215, 2013.

ZINTL, A.; PROCTOR, A.F.; READ, C.; DEWAAL, T.; SHANAGHY, N.; FANNING S; MULCAHY, G. The prevalence of *Cryptosporidium* species and subtypes in human faecal samples in Ireland. **Epidemiology and Infection**, v.137, p.270- 277, 2009.

ZHOU, L.; SINGH, A.; JIANG, J.; XIAO L. Molecular surveillance of *Cryptosporidium* spp. in raw wastewater in Milwaukee: implications for understanding outbreak occurrence and transmission dynamics. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, p.5254-5257, 2003.