

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA e CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA

**OCORRÊNCIA DE *Cryptosporidium* spp. (TYZZER,
1907) E *Giardia* spp. (KUNSTLER, 1882) EM LEITÕES
AO DESMAME**

Denise Junqueira Matos
Bióloga

ARAÇATUBA - SP
2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA e CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA

OCORRÊNCIA DE *Cryptosporidium* spp. (TYZZER, 1907) E *Giardia* spp. (KUNSTLER, 1882) EM LEITÕES AO DESMAME

Denise Junqueira Matos
Orientadora: Profa. Dra. Katia Denise Saraiva Bresciani
Co- orientador: Prof. Dr. Marcelo Vasconcelos Meireles

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

ARAÇATUBA – SP

2009

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Matos, Denise Junqueira
M433o Ocorrência de *Cryptosporidium spp.* (Tyzzer, 1907) e
Giardia spp. (Kunstler, 1882) em leitões ao desmame /
Denise Junqueira Matos. - Araçatuba : [s.n.], 2009
74 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual
Paulista, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina
Veterinária, 2009

Orientadora: Profa. Katia Denise Saraiva Bresciani
Co-orientador: Prof. Marcelo Vasconcelos Meireles

1. Criptosporidiose 2. Giardíase 3. Suínos

CDD 636.4

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

DENISE JUNQUEIRA MATOS – nascida na cidade de Araçatuba – SP, em 26 de janeiro de 1984, bióloga formada pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul- UFMS, em Três Lagoas, no ano de 2005. Ingressou no curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal, na Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, UNESP, campus de Araçatuba – SP, em fevereiro de 2007, sob orientação da Profa. Ass. Dra. Katia Denise Saraiva Bresciani.

Dedicatória

Aos meus pais, José Ronaldo e Maria Teresa,
Pelo exemplo de verdadeiros lutadores,
trabalhadores e íntegros, que me ensinaram
tantos predicados e valores que só se
adquirem com uma boa educação. Pelo apoio
irrestrito na realização do meu trabalho,
permitindo a conclusão desta etapa. Meu
muito obrigada.

A minha irmã,
Pelo carinho, força, apoio e amizade
demonstrados.

Ao meu namorado Fábio,
Por colaborar na execução das coletas, como
também em algumas partes laboratoriais.
Pelo incentivo, companheirismo e
entendimento das minhas ausências para a
realização deste trabalho.

AGRADECIMENTO

Em princípio a Deus, por me permitir inteligência, e me guiar para que eu faça o bom uso dela.

Aos meu pais, José Ronaldo e Maria Teresa, a minha irmã, Eliane, e ao meu namorado, Fábio, pelo apoio carinho e companheirismo.

À minha orientadora Katia Denise Saraiva Bresciani inicialmente por me aceitar como orientada e, acompanhar cada etapa deste trabalho, pelos valiosos ensinamentos, paciência e grande amizade construída ao longo destes anos. Muito Obrigada!

Aos proprietários das granjas de suínos do município de Araçatuba, por autorizar a colheita de amostras, pela compreensão e pela receptividade durante todo o período experimental.

Ao Professor Marcelo Vasconcelos Meireles, do Departamento de Apoio Produção e Saúde Animal da FOA/ UNESP, campus de Araçatuba, pela orientação, e paciência.

Aos Professores Luiz Eduardo Corrêa Fonseca e Caris Maroni Nunes, do Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal da FOA / UNESP,

campus de Araçatuba, por disponibilizarem de seus tempos para contribuírem com dicas na elaboração deste trabalho.

Ao técnico, Luiz Gustavo Ferraz Lima, do laboratório de parasitologia do Curso de Medicina Veterinária FOA / UNESP, campus de Araçatuba, por auxiliar nas tarefas laboratoriais.

À amiga mestrande Deuvânia Carvalho da Silva por colaborar na parte experimental deste projeto e também pelos bons momentos compartilhados.

Aos funcionários da biblioteca do Curso de Medicina Veterinária FOA/UNESP, campus de Araçatuba, em especial à bibliotecária Izabel Pereira Matos, pelo auxílio na elaboração das referências bibliográficas.

Aos funcionários do Campus da Medicina Veterinária- UNESP- Araçatuba, que são responsáveis pela manutenção dos prédios, higiene, segurança e por nos permitir um lugar decente para a realização dos nossos estudos e pesquisas.

Aos familiares, amigos, mestrandos, técnicos e docentes que me ajudaram, direta ou indiretamente, a concluir este projeto.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 <i>Cryptosporidium</i> spp.	14
2.1.1 Agente Etiológico	14
2.1.2 Morfologia	18
2.1.3 Ciclo Biológico	19
2.1.4 Epidemiologia	22
2.1.5 Patogenia e Sinais Clínicos	26
2.1.6 Diagnóstico	27
2.1.7 Controle	30
2.1.8 Tratamento	31
2.2 <i>Giardia</i> spp.	33
2.2.1 Agente Etiológico	33
2.2.2 Morfologia	35
2.2.3 Ciclo Biológico	36
2.2.4 Epidemiologia	37
2.2.5 Patogenia e Sinais Clínicos	40
2.2.6. Diagnóstico	42
2.2.7 Controle	44
2.2.8 Tratamento	45
3 OBJETIVOS	45
4 MATERIAL E MÉTODO	46

4.1 Amostragem	46
4.2 Descrição das Granjas	46
4.3 Colheita do Material	47
4.3.1 Colheita das Fezes	47
4.4 Exame Laboratorial	47
4.4.1 Pesquisa de Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. e de Cistos ou Trofozoítos de <i>Giardia</i> spp.	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
6 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

	Página
Figura 1 - Ciclo de vida do <i>Cryptosporidium parvum</i>	21
Figura 2 - Ciclo de vida da <i>Giardia intestinalis</i>	37
Figura 3 - Aspecto microscópico de dois oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. em amostra de fezes de leitão pela Técnica de Kinyoun (obj 40 X)	48
Tabela 1 - Lista das espécies de <i>Cryptosporidium</i> , de acordo com o sítio de localização e os principais hospedeiros	16
Tabela 2 - Lista das <i>assemblages</i> e espécies de <i>Giardia duodenalis</i> , e seus principais hospedeiros	34
Tabela 3 - Correlação da presença ou ausência de diarreia com a positividade dos animais para <i>Cryptosporidium</i> e <i>Giardia</i> na granja A de acordo com o sexo e positividade nas colheitas	50

**OCORRÊNCIA DE *Cryptosporidium* spp. (TYZZER, 1907) E *Giardia* spp.
(KUNSTLER, 1882) EM LEITÕES AO DESMAME**

RESUMO - O presente trabalho teve como objetivo investigar a ocorrência dos protozoários *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em leitões com 45 dias de idade. Amostras fecais de 107 leitões foram colhidas, em três dias alternados, em suinoculturas do Município de Araçatuba, São Paulo, Brasil. A ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp., foi observada em 4,7% (5/107) dos animais usando a técnica de Kinyoun, e a detecção de oocistos de *Giardia* spp. foi concomitantemente observada em 1,9% (2/107) dos animais pelo método de Faust.. Animais com a presença concomitante de ambos os parasitos apresentaram fezes com aspecto diarréico. A partir dos resultados obtidos é possível inferir que a ocorrência de *Cryptosporidium* e *Giardia* foi baixa, o que se atribuiu ao manejo e que a presença destes protozoários não estava associada a todos animais com sintomas diarréicos envolvidos no estudo.

Palavras-Chave: Criptosporidiose, Giardíase, Suínos

OCCURRENCE OF *Cryptosporidium* spp. (TYZZER, 1907) AND *Giardia* spp. (KUNSTLER, 1882) IN PIGS AT WEANING

SUMMARY - The goal of this research was to investigate the occurrence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in 45-days-old pigs. Fecal samples of 107 pigs were collected at three alternate days in piggeries in Araçatuba, São Paulo, Brazil. *Cryptosporidium* spp. oocysts were observed in 4.7% (5/107) of animals by means of Kinyoun acid-fast stain and cysts of *Giardia* spp. were simultaneously observed in 1.9% (2/107) of the animals by the method of Faust. Animals with positivity for the both parasites presented feces with diarrheal aspect. From these results it is possible to infer that the occurrence of *Cryptosporidium* and of *Giardia* was low because of the good management practices and both protozoa were not associated the presence of clinical symptoms.

Keywords: Pigs, *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp.

1 INTRODUÇÃO

A criptosporidiose, zoonose com ampla distribuição geográfica (CURRIERO et al., 2002; DIETZ et al., 2000; FAYER, 2004; HARPER et al., 2002; LEE et al., 2002; MONIS; THOMPSON, 2003), sendo particularmente interessante sob o ponto de vista de saúde pública, pois são comuns os episódios diarréicos em crianças e adultos imunocompetentes, evoluindo para a cura espontânea. Entretanto, este protozoário, pode ocasionar enterite grave associada a desnutrição e desidratação, muitas vezes fatal, em portadores da síndrome de imunodeficiência adquirida (BAHR; MORAIS, 2001; FAYER ; UNGAR, 1986; ROSSI et al., 1998; ROSSIT et al., 2007).

O primeiro registro de infecção humana ocorreu em 1976 e no ano seguinte foi descrito o primeiro relato deste protozoário em répteis (FAYER, 2004). Todavia, a cryptosporidiose só passou a ter importância no início dos anos 80, com o aparecimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) e a seguir, com as epidemias de veiculação hídrica (BOLTER-BITZER et al., 2007; CRAUN et al., 1998; SMITH; ROSE, 1998).

O *Cryptosporidium* spp. acarreta diarreia e emagrecimento em animais (O'HANDLEY et al., 1999; OLSON et al., 2004), desenvolvendo seu ciclo biológico nos microvilos da superfície de células epiteliais dos tratos gastrointestinal, respiratório e urinário de mamíferos, aves, répteis, peixes e de muitas outras espécies de vertebrados (CAREY et al., 2004; CHERMETTE; BOUFASSA-OUZROUT, 1988; SMITH et al., 2007; XIAO; RYAN, 2006).

Sintomatologia clínica e mortalidade foram descritas em muitas espécies, porém os entraves econômicos mais significativos decorrentes desta parasitose são observados com maior frequência em bovinos (RAMIREZ et al., 2004; SRÉTER; VARGA, 2000).

A *Giardia* spp. é um parasita entérico que afeta animais domésticos e silvestres, incluindo humanos (APPELBEE et al., 2005; THOMPSON, 2004; THOMPSON; MONIS, 2004; XIAO; FAYER, 2008).

A giardíase é também uma doença com ampla distribuição geográfica e pode apresentar sintomas ou manifestar-se de forma subclínica (OLSON, et al., 2000). A influência de fatores como a cepa do parasita, a duração da infecção, o tipo de dieta ou o grau de imunidade, são importantes na elucidação da diversidade de sinais clínicos relacionados a esta doença (BEST CONSULTING, 2002).

Tanto *Giardia* spp. como *Cryptosporidium* spp. estão amplamente dispersos no ambiente aquático, podendo estar presentes em rios, lagos, reservatórios, águas subterrâneas e marinhas; nas duas últimas décadas, estes patógenos causaram dezenas de surtos de gastroenterite relacionados à ingestão de água contaminada destinada ao consumo e à recreação, em vários países (CARVALHO, 2009; CRAUN et al., 1998; FAYER et al., 2000).

Nos países em desenvolvimento, *Giardia* e *Cryptosporidium*, juntamente com bactérias e vírus, constituem parte de um complexo grupo de doenças diarréicas que causam grande absenteísmo no trabalho e podem representar uma das causas que impedem o desenvolvimento socioeconômico. Estes

protozoários estão incluídos na Iniciativa das Doenças Negligenciadas da Organização Mundial de Saúde (*World Health Organisation Neglected Diseases Initiative* - OMS) por causa de sua estreita relação com a pobreza, com a falta de saneamento básico e com a qualidade da água de consumo (SAVIOLI et al., 2006).

A eliminação de cistos fecais de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* apresenta caráter intermitente, com um padrão de eliminação similar nas diferentes espécies animais (GUSELLE et al., 2003; HAMNES et al., 2007).

A carne suína é a mais consumida no mundo, sendo o Brasil o quarto maior produtor (USDA, 2007). Em mamíferos dessa espécie, há uma carência nas pesquisas referentes aos protozoários *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp., que são de importância econômica, uma vez que estes agentes em outros animais, promovem diarreia e má absorção, contribuindo para a perda de peso (OLSON et al., 2004; XIAO et al., 1993).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Cryptosporidium* spp.

2.1.1 Agente Etiológico

Cryptosporidium teve sua biologia elucidada por Ernest E. Tyzzer, parasitologista americano em 1907, que detectou o coccidio em glândulas gástricas de um camundongo *Mus musculus* (KOYAMA et al., 2005).

São organismos do Reino Protista pertencentes ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, subclasse Coccidiasina, ordem Eucoccidiia, subordem Eimeriorina, família Cryptosporidiidae e gênero *Cryptosporidium*. Taxonomicamente, protozoários do gênero *Cryptosporidium* possuem similaridade a outros coccídios que infectam mamíferos e aves, tais como *Toxoplasma gondii*, *Hammondia*, *Eimeria* e *Isospora* (SRÉTER; VARGA, 2000).

Todas as espécies conhecidas são monoxênicas e possuem características próprias que distinguem esse gênero de outros coccídios, como oocistos sem esporocistos e com quatro esporozoítos, ocorrência de auto-infecção (ruptura de oocistos de parede fina) e a presença de um vacúolo parasitóforo (localização intracelular extracitoplasmática) na célula hospedeira (WARD; WANG, 2001).

Do início do século XX até 1955, apenas três espécies de *Cryptosporidium* foram descritas: *C. muris*, *C. parvum* e *C. meleagridis* (FAYER, 2004).

O Gênero *Cryptosporidium* compreende 16 espécies e mais de 30 genótipos, com grande diversidade genética (SANTÍN et al., 2007). O reconhecimento de genótipos e subgenótipos podem auxiliar na compreensão da dinâmica de transmissão deste parasito, em uma determinada população de hospedeiros (GATEI et al., 2007).

Tabela 1 – Lista das espécies de *Cryptosporidium*, de acordo com o sítio de localização e os principais hospedeiros.

Espécie	Localização	Hospedeiros
<i>C. muris</i>	estômago	Roedor
<i>C. parvum</i>	intestino delgado	Camundongo, bovino, humano
<i>C. meleagridis</i>	intestino delgado	Peru, humano
<i>C. serpentis</i>	estômago	Repteis
<i>C. felis</i>	intestino delgado	Felino
<i>C. baileyi</i>	bursa e cloaca	Galinha
<i>C. wrairi</i>	intestino delgado	Cobaia (<i>Cavia porcellus</i>)
<i>C. varanii</i>	desconhecido	Monitor esmeralda (<i>Varanus prasinus</i>)
<i>C. saurophilum</i>	estômago e Intestino delgado	Repteis
<i>C. andersoni</i>	abomaso	Bovino
<i>C. canis</i>	intestino delgado	Canino
<i>C. hominis</i>	intestino delgado	Humano
<i>C. molnari</i>	estômago	Peixe
<i>C. galli</i>	proventrículo	Aves
<i>C. scophthalmi</i>	estômago e intestino delgado	Peixe
<i>C. suis</i>	intestino delgado e intestino grosso	Suíno
<i>C. macropodum</i>	desconhecido	Canguru gigante (<i>Macropus giganteus</i>)
<i>C. bovis</i>	intestino delgado	Bovino
<i>C. ryanae</i>	desconhecido	Bovino
<i>C. fayeri</i>	desconhecido	Canguru vermelho (<i>Macropus rufus</i>)

Adaptado de SMITH et al., 2007 e de XIAO; FAYER, 2008.

Em maio de 2007, foi realizada a II Conferência Internacional sobre *Giardia* e *Cryptosporidium*, e um fato que gerou grande discussão foi a proposição de uma nova espécie, *Cryptosporidium pestis*, agente com potencial zoonótico. A proposição foi, com base, principalmente, no fato de que

C. parvum foi descrita em camundongo e também porque existe uma diferença genética muito clara entre *Cryptosporidium* bovine genotype e o mouse genotype (SLAPETA, 2006). Joan Slapeta e Paul Monis já consideravam como válidas 21 espécies de *Cryptosporidium* (CARVALHO, 2009).

Uma consulta à literatura revelou que já há registro de *C. pestis* diagnosticado como o agente causal de diarreia em tartarugas (TRAVERSA et al., 2008).

Além das espécies *C. hominis* e *C. parvum*, que são as mais importantes e mais freqüentes para o homem, também foram registradas em humanos as espécies *C. meleagridis*, *C. canis*, *C. felis* (FAYER, 2004; XIAO et al., 2002; 2004), *C. baileyi* (DITRICH et al., 1991), *C. suis* (RYAN et al., 2004), *C. andersoni*, e *Cryptosporidium* genótipos do cervo e do macaco (XIAO; FENG, 2008).

Diferentes descrições de espécies de *Cryptosporidium* foram realizadas durante as últimas duas décadas, em decorrência da ausência de padronização de critérios entre os taxonomistas para a classificação de uma nova espécie (XIAO et al., 2004). Os trabalhos de posição sistemática foram baseados na morfologia, histopatologia, especificidade do hospedeiro e/ou na caracterização molecular (ALVAREZ-PELLITERO; SITJA- BOBADILHA, 2002; FAYER et al., 2001; GONÇALVES et al., 2008; MORGAN-RYAN et al., 2002).

Entretanto, no VI Encontro de Epidemiologia Molecular e Evolução Genética de Doenças Infecciosas no Instituto Pasteur, França, foram revistos os critérios atuais usados para nomear as espécies de *Cryptosporidium*, bem

como foram propostos modelos mais apropriados para o uso no futuro. Quatro exigências básicas foram sugeridas ao nomear e validar uma espécie: estudos morfométricos dos oocistos; caracterização genética; demonstração de hospedeiro natural e, se viável, de ao menos um hospedeiro infectado experimentalmente; e respeito aos princípios do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (TIBAYRENC, 2003).

A partir de 1990, o uso de ferramentas moleculares causou um grande impacto na reclassificação deste grupo com a avaliação, por exemplo, do *locus* gênico 18S rDNA, da proteína da parede do oocisto (COWP) e, da proteína de choque térmico (HSP70), que auxiliaram no agrupamento das espécies (CACCIÒ et al., 2005). Segundo Smith et al. (2007), Xiao e Fayer (2008) e Xiao e Feng (2008), pode haver mais de 33 novos genótipos, mas ainda sem classificação em nível de espécie.

2.1.2 Morfologia

Os oocistos são pequenos, esféricos, com tamanhos variando de 4 a 6 μm de diâmetro, variando de acordo com a espécie. Apresentam membrana externa fina, citoplasma finamente granulado, e no seu interior são observados quatro esporozoítos livres em forma de “C”, com um núcleo localizado centralmente (FAYER et al., 2004).

2.1.3 Ciclo Biológico

O ciclo das espécies de *Cryptosporidium* é muito semelhante aos ciclos dos outros coccídios pertencentes à subordem Eimeriorina em todos os seus estágios evolutivos (SMITH; ROSE, 1998). Monoxênico, com duas fases de desenvolvimento, uma assexuada e outra sexuada, ocorrendo no mesmo hospedeiro (SMITH et al., 2007; XIAO; FAYER, 2008).

O *Cryptosporidium* spp. possui alta infectividade considerando-se, a baixa dose infectante e a rapidez com que os esporozoítos localizam, atacam e invadem os enterócitos (célula hospedeira), colonizando-os com muita habilidade (FAYER et al., 2004).

O parasito possui seis estágios de desenvolvimento dentro do organismo do hospedeiro infectado, que são: a excistação dos oocistos, merogonia, gametogonia, fertilização, formação da parede dos oocistos e a esporogonia (SMITH; ROSE, 1998).

O início do ciclo ocorre com a eliminação de oocistos esporulados nas fezes do hospedeiro infectado. Outro animal susceptível irá se infectar ao ingerir oocistos presentes na água, alimentos ou em fômites. Com a excistação, haverá a liberação de quatro esporozoítos e a adesão dos mesmos na superfície das células epiteliais do trato gastrointestinal, onde serão englobados pelas microvilosidades, formando um vacúolo parasitóforo (localização intracelular extracitoplasmática). A seguir, haverá a diferenciação dos esporozoítos em trofozoítos, iniciando a multiplicação assexuada ou

merogonia (CURRENT, 1999; SMITH et al., 2007; SRÉTER; VARGA, 2000; XIAO et al., 2004;).

Trofozoítos originarão merontes tipo I e tipo II, com respectivamente, oito e quatro merozoítos em seu interior, e a seguir formarão microgametócitos e macrogametócitos, que são os estágios sexuais do parasito (SMITH et al., 2007).

Após a fertilização, ocorrerá a formação de dois tipos de oocistos: os de parede fina e os de parede espessa. Ambos possuem a capacidade de esporulação dentro do hospedeiro, contendo em seu interior quatro esporozoítos livres. Oocistos de parede fina sofrem excitação na luz do trato gastrointestinal, onde são capazes de iniciar uma autoinfecção, enquanto que os oocistos de parede espessa são eliminados, na forma infectante, em fezes e são altamente resistentes em condições ambientais (CURRENT, 1999; SMITH et al., 2007; SRÉTER; VARGA, 2000; XIAO et al., 2004;).

A auto-infecção interna pode desencadear infecções maciças e persistentes em pacientes imunocomprometidos (BRASIL, 2009).

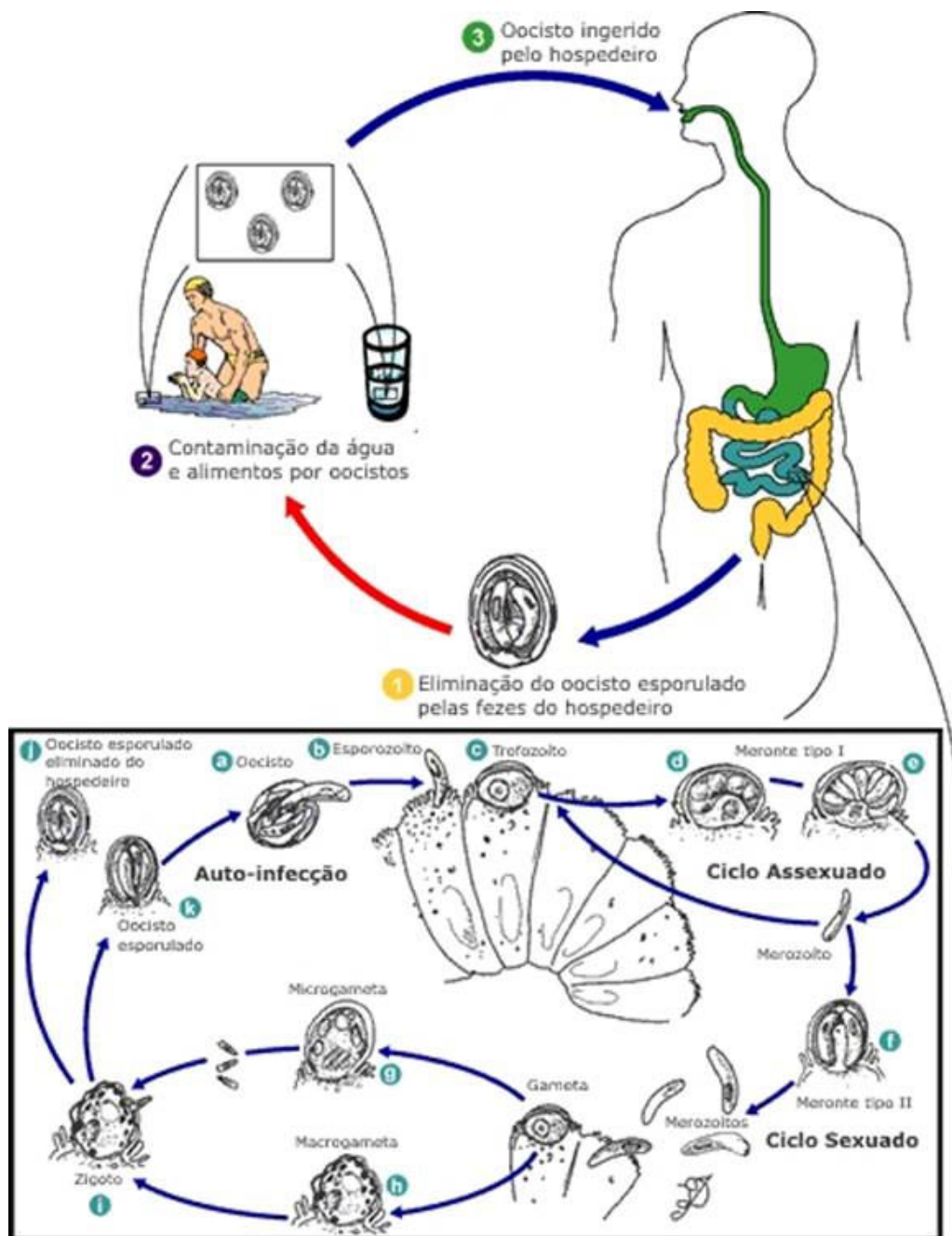


FIGURA 1 - Ciclo de vida do *C. parvum*, adaptado do Centers for Disease Control and Prevention (CDC)

2.1.4 Epidemiologia

Oocistos eliminados nas fezes permanecem infectantes no meio ambiente por até seis meses em temperatura de 20° C, três meses entre 25-30° C e sete meses quando armazenados em água a 15° C, o que demonstra que as fezes podem representar uma importante forma de veiculação de oocistos entre os animais domésticos ou silvestres, a água destinada à bebida ou recreação e alimento em humanos (ANDERSON, 1985; DUFFY; MORIARTY, 2003; FAYER et al., 1998; JENKINS et al., 2003).

Surtos de criptosporidiose humana, em todo o mundo, podem ser atribuídos: à elevada quantidade de oocistos esporulados, infectantes, excretados pelos hospedeiros, a pequena dose de formas evolutivas requeridas para a infecção (menos de 10 oocistos), a baixa especificidade pelos mamíferos, o pequeno tamanho dos oocistos e o fato dos mesmos serem resistentes à inativação por diversos produtos em condições ambientais (O'HANDLEY et al., 1999; SRÉTER; VARGA, 2000).

O coccídio tem sido detectado em esgotos ou em redes de fornecimento de água. Como surtos de criptosporidiose humana podem ter como origem água de bebida e destinada a lazer, animais domésticos e silvestres, sejam mamíferos ou aves, podem atuar como fontes de infecção deste parasito para o ser humano, por meio de contaminação de reservatórios de água (DILLINGHAMA et al., 2002; GRACZYK et al., 2007; OLSON et al., 2004).

Criptosporidiose humana tem sido evidenciada em mais de 90 países localizados em seis continentes (UNGAR, 1990; XIAO; FAYER, 2008; XIAO et

al., 2004). Dentre os surtos documentados, 31 envolveram mais de 10.000 pessoas, que frequentaram piscinas (DILLINGHAMA et al., 2002), e um ocorreu na cidade de Milwaukee, nos Estados Unidos, envolvendo aproximadamente 400.000 pessoas, tendo como origem água de bebida contaminada (MACKENZIE et al., 1994).

Surtos de criptosporidiose podem se originar após ingestão de alimentos contaminados. Oocistos de *Cryptosporidium* sp. já foram encontrados em mariscos (JOHNSON et al., 1995), mexilhões, ostras (FAYER et al., 1999; GRACZYK et al., 1999), leite (GELLETLIE et al., 1997), legumes e vegetais como coentro, alface, rabanete, tomate, pepino, cenoura (MONGE; CHINCHILA, 1996), manjerição, repolho, aipo, cebolinha, pimenta malagueta, alho poró e salsa (ORTEGA et al., 1991), em alimentos industrializados, como bebidas (MILLARD et al., 1994) ou ainda em congelados e processados (SUTTHIKORNCHAI et al., 2005).

Estudos de ocorrência e epidemiologia molecular indicam que *C. hominis* é mais freqüente nas Américas, África, Ásia e Austrália e durante as estações do verão e outono, enquanto que *C. parvum* genótipo bovino, é o principal agente etiológico da parasitose na Europa (principalmente Inglaterra), sendo mais freqüente em áreas rurais que urbanas e durante a estação da primavera (CACCIÒ et al., 2005).

O *C. hominis* e o *C. parvum* genótipo bovino são as espécies mais detectadas no ser humano; *C. hominis* já foi detectado naturalmente em peixe-boi marinho, em bovinos e, experimentalmente em ovinos. *C. parvum* genótipo

bovino infecta em condições naturais o homem e outros ruminantes além do gado e, em condições experimentais camundongos, ratos e cães (CACCIÒ et al., 2005; FAYER, 2004).

Pessoas com o sistema imunológico debilitado ou não, podem infectar-se com *C. hominis*, *C. parvum*, *C. meleagridis*, *C. canis*, *C. felis*, *C. suis*, *C. muris* e *Cryptosporidium* genótipos cervídeo e de macacos. Entre estas espécies, *C. meleagridis*, originalmente descrito em aves, tem apresentado um aumento de detecção em pessoas imunocompetentes sendo considerado hoje como um protozoário emergente e responsável por 11,0% das infecções em indivíduos imunocomprometidos no Reino Unido (CACCIÒ et al., 2005; MONIS; THOMPSON, 2003).

Desta forma, muitos pesquisadores têm sugerido que todas as espécies de *Cryptosporidium* possam ser consideradas como potencialmente infectantes para o ser humano, fator agravante em função dos indivíduos imunocomprometidos e da reconhecida característica zoonótica de algumas espécies de *Cryptosporidium* (FELTUS et al., 2006).

A facilidade de transmissão desse parasito para o ser humano, aliada ao fato da inexistência de um tratamento efetivo para a criptosporidiose, faz com que essa parasitose continue a ser uma importante causa de morbidade e mortalidade, principalmente em indivíduos imunossuprimidos e crianças em países em desenvolvimento (ASHBOLT, 2004; LEAV et al., 2003; XIAO; FAYER, 2008).

O fator imunológico do hospedeiro define o curso clínico da doença: quando uma pessoa apresenta um número de células de defesa CD4 menor que 200 células/ μ l-1, ela apresentará uma infecção severa e persistente (FELTUS et al., 2006), sendo por isso denominado de protozoário oportunista. Pessoas desnutridas, idosos e indivíduos imunocomprometidos (HIV+, transplantados, pessoas em tratamentos quimioterápicos, que fazem hemodiálise ou utilizam corticosteróides e diabéticos), apresentam alto risco de desenvolver diarreia persistente e de necessitarem de atenção médica, quando expostos ao protozoário *Cryptosporidium* spp (BOLTER-BITZER et al., 2007).

A forma de transmissão por contato inter-pessoal é um fator epidemiológico importante da criptosporidiose sendo comum em creches. Nestas instituições, a ocorrência varia entre 1,0% e 20,0% e é apontado como uma das causas mais frequentes de diarreia no Brasil (ROSE et al., 2002), com registros de surtos epidêmicos relacionados ao *C. hominis* (GONÇALVES et al., 2006).

Em suínos, análises epidemiológicas têm indicado a ocorrência de infecção por *Cryptosporidium*: Olson et al. (1997) por meio de reação de imunofluorescência, detectaram 11,0% (26/236) de positividade em fazendas de 15 locais geográficos canadenses. Atwill et al. (1997) afirmaram que estes animais poderiam servir como um reservatório ambiental de *C. parvum*, visto a frequência de 5,4% (12/221) de oocistos de *C. parvum* em amostras fecais de 10 populações ao longo das montanhas litorais da Califórnia ocidental. Johnson

et al. (2008), na Austrália, registraram ocorrência de 32,7% (51/156) em leitões por meio de PCR.

No que se refere ao *Cryptosporidium*, este foi particularmente incidente entre seis e doze semanas de vida, fase posterior ao desmame dos leitões (HAMNES et al., 2007; IZUMIYAMA et al., 2001; JOHNSON et al., 2008; MADDOX-HYTTEL et al., 2006).

A literatura é escassa em relação a estudos mais abrangentes sobre a epidemiologia da infecção por *Cryptosporidium* sp. em suínos.

2.1.5 Patogenia e Sinais Clínicos

A patogenia da criptosporidiose está diretamente relacionada com a invasão e lise de enterócitos, provavelmente como resultado de resposta imunológica. Neste processo, ocorre hiperplasia de células das criptas intestinais, com infiltrado de células inflamatórias em lâmina própria, diminuição de microvilos e atrofia de vilosidades, em grau variado (CLARK; SEARS, 1996). Alterações digestivas e de transporte de nutrientes podem estar relacionadas com aumento na secreção de cloro, induzida por um componente secretório, que pode ocasionar assim o aparecimento dos sinais clínicos (ARGENZIO et al., 1993).

A doença caracteriza-se por diarreia aquosa podendo conter ou não muco e raramente sangue, dores abdominais, perda de peso, náusea, anorexia, fadiga e febre. No indivíduo saudável, o curso clínico da enfermidade é auto-limitante e no imunocomprometido torna-se crônica e debilitante, pois

pode ocorrer o desenvolvimento de uma diarreia com duração de cerca de dois meses, com agravamento da sintomatologia, podendo ser fatal (BOLTER-BITZER et al., 2007).

Repetidas exposições de pessoas à baixas doses do protozoário, podem minimizar os sintomas da doença e, apresentar manifestações diarreicas mais brandas, como evidenciado em indivíduos com altos níveis de anticorpo anti-*Cryptosporidium* (HUNTER; THOMPSON, 2005).

Um exame ultraestrutural de células intestinais em suínos inoculados experimentalmente por via oral, com 1×10^6 oocistos, apresentou espessamento e irregularidade de microvilosidades, citoplasma vacuolizado e com protrusões, edema mitocondrial, hipertrofia de organelas citoplasmáticas e do núcleo, nas placas de Peyer observou-se mitose de células linfóides, verificando-se maior número de células blásticas (BRACARENSE et al., 1999).

2.1.6 Diagnóstico

De acordo com Vasquez et al. (1986), não existe unanimidade para recomendar uma técnica como sendo a melhor no diagnóstico da criptosporidiose, porém vale ressaltar que inúmeros métodos vêm sendo utilizados em diversas espécies de hospedeiros infectados.

O método mais barato e geralmente de escolha para a detecção de oocistos a partir de amostras fecais é o método de centrífugo-flutuação em solução de Sheather (CURRENT, 1990). As amostras devem ser examinadas rapidamente, uma vez que longas exposições dos oocistos a soluções de alta

densidade podem distorcer a forma ou romper a parede dos oocistos acarretando resultados equivocados . Para visualização dos oocistos, pode ser utilizada a microscopia de luz, de campo claro ou de contraste de fase (XIAO; FENG, 2008), sendo que estes podem ser observados como corpos brilhantes contendo grânulos negros e em microscópio de campo claro, os oocistos aparecem translúcidos, estruturas levemente róseas, com grânulos em seu interior. A diferenciação de leveduras nesse tipo de leitura é fácil, uma vez que não irão apresentar essa coloração rósea típica de *Cryptosporidium* e nem grânulos interiores (CURRENT, 1999; SRÉTER; VARGA, 2000).

Outra técnica utilizada para detecção de oocistos de *Cryptosporidium* é a de Kinyoun (álcool ácido resistente), na qual os oocistos apresentam coloração rósea a vermelha, contra um fundo verde (LENNETTE, 1985) e a coloração negativa com verde malaquita, na qual os oocistos são visualizados como corpos brilhantes envoltos por um fundo verde (ELLIOT et al., 1999).

A análise morfológica de oocistos deste coccídio não é definitiva para o diagnóstico, pois as formas evolutivas supracitadas são muito pequenas (4-6 μm), com pequena variação morfológica ou mesmo idênticos entre as diferentes espécies, sem esporocistos e difíceis de serem visualizados (FAYER et al., 2000; MORGAN et al., 1999). Além disso, os antígenos presentes na parede de oocistos são conservados para todo o gênero *Cryptosporidium*, não sendo possível a diferenciação entre espécies, por testes imunológicos (FAYER et al., 2000).

Várias técnicas de coloração podem ser empregadas para visualização de *Cryptosporidium* em tecidos. O método mais comumente utilizado para coloração de cortes histológicos é a hematoxilina-eosina (HE), na qual os estágios evolutivos podem ser vistos como corpos esféricos basófilos, de 2,0 - 7,5 µm, na superfície das células epiteliais (dependendo do estágio do ciclo biológico). Também colorações à base de prata e ácido periódico de Schiff podem ser usadas e a microscopia eletrônica de transmissão possibilita a verificação da morfologia ultra-estrutural desse parasito (SRÉTER; VARGA, 2000).

Entre os métodos sorológicos, destacam-se o ensaio imunoenzimático (ELISA) (FAYER et al., 2000; JEX et al., 2008), como boa ferramenta em estudos epidemiológicos e o teste de imunofluorescência direta (BIALEK et al., 2002; FAYER et al., 2000; JEX et al., 2008), ambos baseados em princípios imunológicos.

A Reação em Cadeia da Polimerase- PCR (BALATBAT et al., 1996; JEX et al., 2008; MORGAN; THOMPSON, 1998), permite a caracterização molecular de diferentes espécies de *Cryptosporidium* (JEX et al., 2008; MORGAN et al., 1999; SARGENT et al., 1998).

Na Grã-Bretanha, o exame microscópico para a detecção de *Cryptosporidium* e *Giardia*, continua sendo o padrão para o diagnóstico clínico de rotina dos pacientes com diarreia que procuram assistência médica. Atualmente os testes imunoenzimáticos vêm sendo introduzidos nos laboratórios que processam grande número de amostras, seguidos de teste de

confirmação gênero-específico. Nos Estados Unidos, o emprego adicional da microscopia de imunofluorescência apresenta maior sensibilidade e especificidade, mas o custo é elevado para muitos países, como o Brasil (CARVALHO, 2009).

Experiência é fundamental e deve ser levada em conta para diagnóstico deste enteroparasito, uma vez que os oocistos e outros estágios de seu desenvolvimento estão entre os menores coccídios e também pelo fato de serem muito similares a leveduras em tamanho e forma, podendo levar a resultados falso-positivos (FAYER et al., 2001; SRÉTER; VARGA, 2000; XIAO et al., 2004).

2.1.7 Controle

Em virtude da ampla distribuição das diferentes espécies de *Cryptosporidium*, torna-se de fundamental importância o controle ambiental, por meio da adoção de práticas, para prevenir a poluição de rios por excretas de animais (GRACZYK et al., 2000), bem como o incentivo à adequação das estruturas de saneamento, a proteção dos mananciais, educação e orientação sobre descargas de resíduos por embarcações durante atividades náuticas (BORGES et al., 2007).

No que concerne às medidas de controle de maneira a minimizar ou eliminar os riscos inerentes à disseminação do coccídio, nota-se que a ausência de métodos de tratamento da água em grande parte das instituições onde são mantidos animais, bem como às limitações ao processo de cloração

quando utilizada, aumenta os riscos de contaminação hídrica. Adicionalmente, verifica-se a necessidade de avaliação constante no sistema de filtração, bem como a utilização do ozônio ou a instalação de um sistema ultravioleta nos oceanários e piscinas (CAUSER et al., 2006; CLANCY et al., 2000; KANJO et al., 2000). E também deve-se evitar a presença dos oocistos nos alimentos ofertados e incentivar normas de higiene pessoal entre os tratadores e técnicos envolvidos no manejo dos animais (BORGES et al., 2007).

Os oocistos de *Cryptosporidium* spp. são considerados resistentes (CAREY et al., 2004), por suportarem a ação de desinfetantes como formol, fenol e etanol; pela possibilidade de atravessar determinados sistemas de filtração de água devido seu tamanho reduzido; por sua permanência no ambiente durante meses e por sua tolerância em determinadas temperaturas e graus de salinidade, que favorecem a sua rápida disseminação (FAYER et al., 2004). Luz solar inativa oocistos de *Cryptosporidium* (KING et al., 2008).

2.1.8 Tratamento

Apesar dos esforços que vêm sendo empreendidos por mais de 20 anos, ainda não há um tratamento efetivo para criptosporidiose. Um ponto de concordância foi que há urgência em desenvolver e avaliar novos medicamentos com menos efeitos colaterais (ASHBOLT, 2004; LEAV et al., 2003; XIAO; FAYER, 2008)

Resultados mais expressivos entre os mamíferos terrestres foram alcançados por meio da administração de paramomicina e o nitazoxanide,

sendo o primeiro um antimicrobiano que reduz a excreção de oocistos (STEINER et al., 1997) e o segundo um antiprotozoário (ABAZA et al., 1998). Além destes fármacos, a reposição eletrolítica e o suporte nutricional são recomendados como parte do tratamento (CAREY et al., 2004; RAMIREZ et al., 2004).

Mesmo com mais de 150 fármacos estudados, poucos tem sido capazes de reduzir os sintomas e controlar a parasitose e, embora a nitazoxanida tenha sido liberada para uso pediátrico, sua eficácia e segurança em adultos saudáveis e indivíduos imunocomprometidos ainda não foi estabelecida. (RAMIREZ et al., 2004).

Com a introdução da terapia anti-retroviral altamente ativa (HAART) a partir de 1997, houve uma diminuição do número de casos severos de criptosporidiose, entre os pacientes infectados por HIV (CACCIÒ et al., 2003; FAYER, 2004).

A imunoterapia parece ser uma alternativa promissora e, embora exista variabilidade de resultados nas pesquisas, o uso do colostro hiperimune, de uma forma geral, reduz a infecção trazendo melhora aos pacientes tratados. Vacinas utilizando DNA têm induzido resposta celular e humoral em camundongos e primatas não humanos e são vistas, como uma opção valiosa para controlar a contaminação ambiental, pois reduziriam a eliminação de oocistos pelo hospedeiro (BOLTER-BITZER et al., 2007; JENKINS, 2001).

2.2 *Giardia* spp.

2.2.1 Agente Etiológico

Em 1681, o flagelado *Giardia* foi observado pela primeira vez por Anton Van Leeuwenhoek, a partir de suas próprias fezes. Também conhecido como *Giardia lamblia* e *Giardia intestinalis*, foi descrito mais detalhadamente em 1859 por Vilem (ADAM, 2001).

Protozoário pertencente à ordem Diplomonadida e família Hexamitidae. O gênero *Giardia* teve as descrições das espécies inicialmente, baseada apenas na especificidade pelo hospedeiro; mas, atualmente os taxonomistas utilizam a forma e a posição dos corpos medianos, a forma dos trofozoítos, o tamanho do disco ventral entre outros caracteres possíveis de observação em função da técnica de microscopia eletrônica (MONIS; THOMPSON, 2003).

Durante o período de 1920 e 1930, mais de 50 espécies de *Giardia* foram descritas. Em 1952, Filice propôs uma reavaliação destas espécies com base na morfologia e não na especificidade pelo hospedeiro. Durante a década de 1990, muitos pesquisadores adotaram o nome *G. intestinalis*, mas, atualmente a denominação de *G. lamblia* continua sendo muito aceita pela comunidade de pesquisadores internacionais (ADAM, 2001).

Com um grupo de seis *assemblages* reconhecidos, *G. duodenalis* é considerada um complexo de espécies com morfologia similar, mas com variedades genéticas e fenotípicas com diferença na especificidade pelo

hospedeiro (ALI; HILL, 2003; BERTRAND; SCHWARTZBROD, 2007; THOMPSON, 2004; THOMPSON et al., 2007).

Atualmente, dentro da espécie formalmente conhecida como *G. duodenalis*, numerosos grupos de isolados ou genótipos aparentemente exclusivos de determinadas espécies animais estão sendo reconhecidos (THOMPSON et al., 2000). Embora um consenso a respeito da nomenclatura para estes grupos ainda não esteja estabelecido, o termo *assemblages* tem sido adotado se referindo as linhagens da espécie pela análise da sequência de nucleotídeos do gene da enzima glutamato desidrogenase (gdh) (HUNTER; THOMPSON, 2005).

Tabela 2 – Lista das *assemblages* e espécies de *Giardia duodenalis*, e seus principais hospedeiros.

Espécie	Principais Hospedeiro
Assemblage A (<i>G. duodenalis</i>)	humanos, animais de produção, gatos, cães e castores
Assemblage B (<i>G. enterica</i>)	humanos, chinchilas, cães, castores e ratos
Assemblage C (<i>G. canis</i>)	cães
Assemblage E (<i>G. bovis</i>)	alpaca, bovinos, caprinos, suínos e ovinos
Assemblage F (<i>G. cati</i>)	gatos
Assemblage G (<i>G. simondi</i>)	rato doméstico

Reclassificação de *G. duodenalis* de Proposta por com Thompson e Monis (2004).

As *assemblages* são geneticamente distintas e sabidamente infectantes para vários hospedeiros. Mesmo com as técnicas moleculares atuais, ainda tem sido difícil interpretar a extensa variabilidade genética observada na *G.*

duodenalis (ALI; HILL, 2003; BERTRAND; SCHWARTZBROD, 2007; THOMPSON, 2004).

Nas *assemblages* A e B encontram-se os genótipos que acometem o homem, podendo ocorrer infecções concomitantes, as *assemblages* de C a G, são restritas a outros animais (ALI; HILL, 2003; GUY et al., 2004; THOMPSON, 2004).

2.2.2 Morfologia

Possui uma forma de resistência ambiental conhecida por cisto, são elipsóides ou ovóides, de tamanho variando de 8 a 12 µm de comprimento por 7 a 10 µm de largura, parede cística incolor e no seu interior observa-se a presença de dois ou quatro núcleos, flagelos, axonemas, cariossomas e corpos parabasais (CIMERMAN; CIMERMAN, 1999; MORAES, et al., 2000).

A forma de trofozoíto tem a forma de uma pêra, arredondado na extremidade anterior, delgado na extremidade posterior, medindo de 10 a 20 µm de comprimento por 5 a 15 µm de largura, com simetria bilateral, dois núcleos ovais, com um grande cariossomo central, oito flagelos, achatamento dorso ventral, na superfície ventral possui disco suctorial que ocupa dois terços da face, recebe o nome de disco ventral e é observada por microscopia eletrônica de transmissão. Esse disco suctorial é responsável pela fixação do protozoário, que se reproduz assexuadamente, por divisão binária longitudinal (OLSON et al., 2002; PESSOA; MARTINS, 1982; REY, 1973).

2.2.3 Ciclo Biológico

De acordo com Díaz et al. (1996), o ciclo de vida consiste em dois estágios: trofozoítos e cistos viáveis. Estas formas evolutivas podem ser ingeridas pela água e alimentos contaminados, mas a transmissão direta (fecal-oral) também é possível, especialmente, em áreas em que os animais se encontram aglomerados como canis e gatis (LEIB; ZAJAC, 1999). A transmissão pelo contato inter pessoal e pela atividade sexual constituem formas de aquisição da giardíase (TESSIER; DAVIES, 1999).

Os cistos ingeridos ao atingirem o estômago e o duodeno sofrem ação do ácido clorídrico e de enzimas pancreáticas liberando o excizoíto, forma de vida curta que logo após sua liberação, se diferencia em trofozoíto, estrutura ativa que se adere à mucosa intestinal pelo disco ventral e se multiplica por divisão binária. Esta se completa em 12 horas e teoricamente, a ingestão de um único organismo pode resultar em 10 dias, em mais de 1 bilhão destas formas evolutivas (ROCKWELL, 2003). Em resposta a sinais do hospedeiro, os trofozoítos se encistam e são eliminados nas fezes do mesmo (MORAES et al., 2000; REY, 1973).

Embora os trofozoítos possam ser eliminados nas fezes, principalmente nas diarreicas, o encontro dos cistos é mais freqüente. Isso representa uma adaptação do parasita, já que estes últimos são muito mais resistentes, podem permanecer viáveis por até dois meses em água a 8°C e por apenas quatro horas a 37°C. No entanto, ele é sensível em locais com pouca umidade e temperaturas elevadas (ZAJAC, 1992).

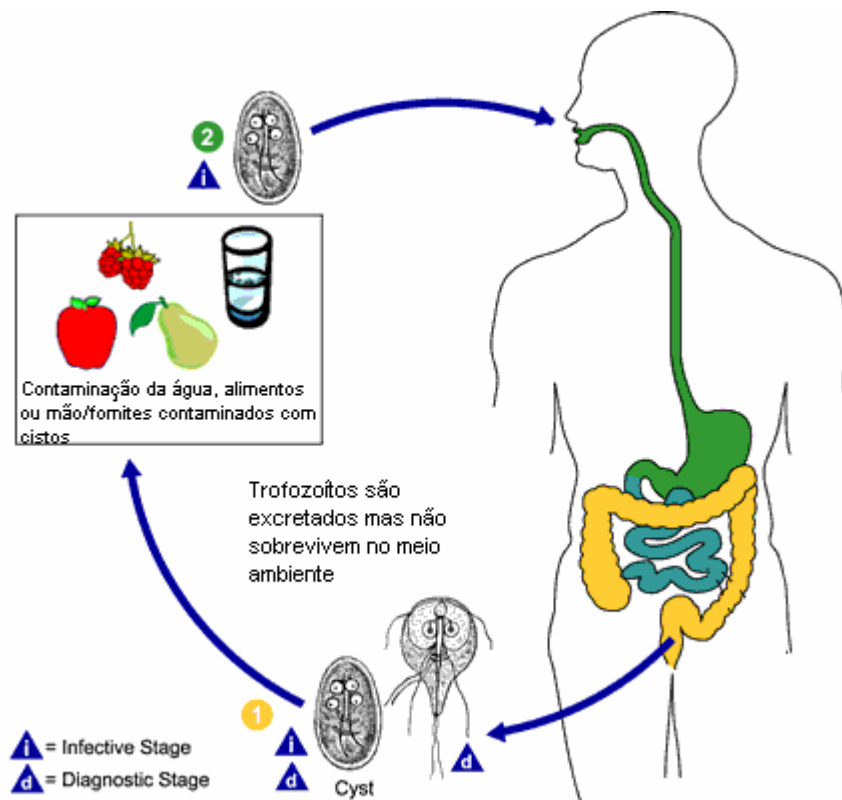


FIGURA 2 - Ciclo de vida da *G. intestinalis* (Centro de vigilância de São Paulo, 2009).

2.2.4 Epidemiologia

Na década de 80, a OMS considerou *G. duodenalis* como um parasito patogênico (FAUBERT, 2000) e em 2006, foi incluída na lista das doenças negligenciadas nas regiões em desenvolvimento do mundo (SAVIOLI et al., 2006).

Animais domésticos de produção, como ruminantes, suínos e eqüinos, representam também importantes hospedeiros do protozoário *G. lamblia* (BURET et al., 1990), mas a transmissão zoonótica é restrita apenas para os

genótipos AI e BIII das *assemblages* A e B, respectivamente (THOMPSON, 2004).

Em um levantamento da presença de *Giardia* spp. em humanos e em cães de uma mesma comunidade, foi possível observar, por meio da caracterização molecular, que todas as cepas isoladas dos humanos pertenciam à *assemblage* A ou B e, todas as cepas isoladas dos cães eram *assemblage* C e D, com exceção de um único cão, que apresentou infecção múltipla. Esta evidência zoonótica, está baseada na forte associação entre a prevalência de *Giardia* spp. em humanos e a presença no cão, todos em um mesmo domicílio (MACPHERSON, 2005; THOMPSON, 2004). É admitido que em comunidades com inadequadas condições de higiene, alguns genótipos de *Giardia* spp. possam circular entre o homem e o cão, porém não é claro quem é o reservatório primário neste contexto (HUNTER; THOMPSON, 2005; TRAUB et al., 2004).

Porém, devido a ocorrência de isolados morfollogicamente semelhantes a *G. duodenalis* e a associação de animais infectados com epidemias de veiculação hídrica em humanos, levou em 1979 a OMS, a classificar *Giardia* spp. como um parasito zoonótico (THOMPSON, 2004).

Na Noruega, por meio da técnica de Sheather e imunofluorescência observaram positividade de 1,5% (10/684) para *Giardia* spp. em leitões lactentes (HAMNES et al., 2007). Atwill et al. (1997) relataram que suínos poderiam servir como um reservatório ambiental de *Giardia* spp. mediante o encontro de 7,6% (17/ 221) de cistos de *Giardia* spp. na Califórnia ocidental .

Este protozoário apresentou maior positividade em filhotes com idade entre 11 a 18 dias (HAMNES et al., 2007).

Cistos de *Giardia* foram recuperadas do exoesqueleto de moscas que habitavam ambientes com pouca higiene, indicando a possibilidade desta forma de transmissão (ALI; HILL, 2003). Creches, hospitais e ambientes com deficiência de limpeza podem facilitar a contaminação pelo contato com objetos e superfícies (HUNTER; THOMPSON, 2005).

G. duodenalis foi considerada como o protozoário mais comum em creches (onde o contato direto pessoa à pessoa é frequente) do Estado de São Paulo e, mais prevalente em crianças de zero a quatro anos (CARVALHO et al., 2006).

Frutas e verduras consumidas cruas e moluscos de água doce ou marinha, são veículos potenciais deste parasito. Dos 357 mil casos de doenças parasitárias por veiculação alimentar que ocorreram nos Estados Unidos, *Giardia* spp. foi a causa de cerca de 64,0% destes surtos onde foram registradas 700 hospitalizações e oito mortes (SMITH et al., 2006 a). Na Thailandia, foram observados em amostras de 200g de comida crua, 6,6% a 35,0% de *Giardia assemblage* A e em alimentos processados, 10,0% de *Giardia assemblage* B (SUTTHIKORNCHAI et al., 2005).

A veiculação hídrica dos cistos é uma forma indireta de transmissão de *Giardia* spp. As epidemias, em países desenvolvidos, têm sido atribuídas ao tratamento inadequado da água, à sua contaminação com fezes humanas e de animais, especialmente em coleções de águas superficiais e lagos (SMITH et

al., 2006 b). Na última década, em surtos ocorridos nos EUA, 9,4% foram atribuídos a águas recreacionais e 16,2% à água potável contaminada (BERTRAND; SCHWARTZBROD, 2007).

A *G. lamblia* é um dos mais freqüentes flagelados do intestino da maioria dos mamíferos, sendo o mais comum parasito de humanos em países desenvolvidos, como EUA, Canadá e Austrália. Em grupos socialmente desfavorecidos e nações em desenvolvimento, como o Brasil, com condições higiênicas - sanitárias precárias, é tida como uma zoonose das mais importantes, mostrando uma ocorrência de 20,0 à 60,0% em determinadas áreas (GOLDIN et al., 1990; THOMPSON et al., 1990).

Em uma pesquisa sobre enteroparasitoses em pré – escolas de quatro comunidades faveladas da cidade do Rio de Janeiro foi verificada uma positividade de 54,5%, sendo que os parasitos mais frequentes foram *G.lamblia* e *Ascaris lumbricoides* (MACEDO et al., 1998).

Os principais fatores relacionados ao hospedeiro que determinam o grau da infecção são a imunidade, o estado nutricional e as infecções; em relação as cepas se destacam a virulência e patogenicidade (OLSON et al., 2002; THOMPSON et al., 1993).

2.2.5 Patogenia e Sinais Clínicos

A diarreia observada nas infecções por *Giardia* possui características de má absorção, pois as fezes podem estar amolecidas, esteatorréicas e com odor forte. O paciente também pode apresentar vômito, dor abdominal, letargia,

anorexia, náuseas, presença de muco nas fezes, perda de peso, flatulência ou ainda a forma assintomática (ADAM, 2001; MÜLLER; VON ALLMEN, 2005; REY, 2002; ZAJAC, 1992).

Os trofozoítos ao aderirem à bordadura em escova e à mucosa do intestino induzem uma resposta imune que provoca um aumento na produção de secreção e fluido com conseqüente dano intestinal e alterações do conteúdo biliar e da flora do duodeno propiciando a diarreia. Neste processo ocorre alteração da permeabilidade do epitélio e posterior inflamação e comprometimento da digestão e absorção, devido à injúria na bordadura em escova e indução de apoptose das células intestinais (MÜLLER; VON ALLMEN, 2005; NEVES et al., 2005; THOMPSON, 2004).

Em pacientes com diarreias crônicas, é documentada má absorção de gorduras, vitamina B₁₂ e do açúcar d-xilose (ADAM, 2001; MÜLLER; VON ALLMEN, 2005).

Na resposta imune de combate à *Giardia*, estão envolvidas principalmente as imunoglobulinas séricas IgA, IgM e IgG. As IgA(s) interferem na aderência do parasita à mucosa recobrando os trofozoítos, enquanto que a IgM(s) e a IgG(s) afetam a atividade de macrófagos e neutrófilos (THOMPSON et al., 1993).

Estudos citam que a giardíase provoca redução de 15 pontos do Quociente de inteligência (QI), interferindo no desenvolvimento cognitivo, sendo necessárias intervenções pedagógicas para contornar este problema (ALI; HILL, 2003).

Desnutrição energético-proteíca e avitaminose em crianças brasileiras foram notadas em associação com esta zoonose, com ocorrência de 30,4% (MUNIZ-JUNQUEIRA; QUEIROZ, 2002).

Alguns trabalhos mostram uma correlação do *assemblage* A com diarreia intermitente e, do *assemblage* B com diarreia persistente, fato observado em crianças com até cinco anos de idade (ALI; HILL, 2003; CACCIÒ et al., 2005; MONIS; THOMPSON, 2003).

2.2.6 Diagnóstico

Quando a diarreia se apresenta persistente, suspeita-se de giardíase. No diagnóstico parasitológico de fezes diarreicas encontramos mais facilmente as formas trofozoítas e aconselha-se o exame direto das fezes logo após a emissão das mesmas pelo hospedeiro infectado. Já em fezes formadas encontramos mais freqüentemente cistos isolados empregando as técnicas de flutuação (CHAIA, 1975).

Um resultado negativo não exclui a possibilidade de infecção por *Giardia*. Deve-se considerar o período de pré-patência (que geralmente é de uma a duas semanas) e a intermitência da eliminação deste parasito (HAMNES et al., 2007; ZAJAC, 1992). Em relação ao aspecto macroscópico das fezes pode-se verificar a presença de muco, sangue e de parasitas metazoários (SLOSS et al., 1999).

Flutuação em soluções saturadas de sulfato de zinco a 33,0% ou de açúcar, tem a vantagem de causar menos distorção nos cistos de *Giardia* que as soluções saturadas de sal (CONBOY, 1996).

Um teste alternativo é o imunoensaio enzimático (ELISA), método que apresenta sensibilidade superior ao da microscopia, segundo Motta et al. (2004). O ensaio em microplaca Alexon ProSect *Giardia* para a detecção do coproantígeno específico para a *Giardia* (GSA65) foi recentemente avaliado. No Brasil este teste foi utilizado pela primeira vez em amostras provenientes de pacientes de Belo Horizonte, mostrando-se sensível e específico para o diagnóstico (SOUZA et al., 2003).

A Imunoseparação Magnética, acoplada à Imunofluorescência (IMS-IFA) é uma técnica de rotina, que permite o processamento de várias amostras simultaneamente (SOUZA et al., 2003).

Dentro da espécie formalmente conhecida como *G. duodenalis*, numerosos grupos de isolados ou genótipos aparentemente exclusivos de determinadas espécies animais estão sendo reconhecidos, por meio de técnicas de identificação molecular, como PCR-RFLP e sequenciamento de fragmentos de genes codificadores da triose fosfato isomerase, glutamato desidrogenase, fração 16S de RNA ribossômico, β -giardina e fator de elongase 1 α (THOMPSON et al., 2000).

2.2.7 Controle

De maneira geral, a prevenção da giardíase inclui medidas sanitárias, educativas e de controle da infecção em animais domésticos (OLSON et al., 2002).

É necessário a implantação de programas sanitários, como o controle de cães errantes, a formulação de leis com a finalidade de se evitar o acesso de cães em áreas públicas (CAPUANO; ROCHA, 2006).

Como profilaxia, recomenda-se higiene pessoal, proteção dos alimentos e tratamento da água. Embora haja evidências de que os cistos resistem à cloração da água, eles são destruídos em água fervente. É recomendável verificar o parasitismo nos animais domésticos e tratá-los. Além disso, é importante o tratamento precoce do doente, procurando-se também diagnosticar a fonte de infecção e tratá-la (NEVES et al., 2005).

Esta enfermidade pode ser evitada empregando-se práticas de boa higiene, pela lavagem constante das mãos com água e sabão antes de comer, antes de preparar alimentos, após ir ao banheiro, após trocar fraldas e após lidar com animais de estimação. Também não é recomendável a ingestão de água não-tratada originada de corpos de água de superfície. No caso de um paciente infectado deve-se atentar para o risco de infecção por meio das fezes contaminadas (BRASIL, 2004).

Em granjas, a higienização dos pisos com água sob alta pressão, com desinfetantes como formol e o iodo, considerando suas propriedades

bactericidas e germicidas, e ainda a secagem das instalações, podem reduzir a presença deste protozoário (MADDOX-HYTTEL et al., 2006).

2.2.8 Tratamento

A giardíase pode ser tratada com o albendazol e o nitrofuram, que alteram a aderência e causam o desprendimento do parasito do epitélio e, nitazoxamida que exibe efeito semelhante ao metronidazol (bloqueio da síntese de DNA) (ALI; HILL, 2003; PÉREZ-ARRIAGA et al., 2006).

Mesmo sendo disponíveis e eficientes no combate a giardíase, estes fármacos causam efeitos colaterais que acarretam a interrupção do tratamento, possibilitando que os parasitos desenvolvam resistência aos mesmos (SAVIOLI et al., 2006).

A administração de vacina comercial contra *Giardia* em pequenos animais, ocasionou redução no tempo de excreção e no número de cistos de eliminados (OLSON et al., 2000).

3 OBJETIVOS

1. Verificar a ocorrência das infecções por *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em amostras fecais de leitões ao desmame em suinoculturas do Município de Araçatuba, SP.

2. Relacionar a infecção criptosporídica e ou giárdica com episódios de diarreias observados nos animais.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Amostragem

O grupo experimental foi constituído por 107 leitões com 45 dias de idade (15 dias após o desmame) sendo 60 fêmeas e 47 machos das raças Landrace ou mestiços (Landrace x Large White) de três suinoculturas de Araçatuba, São Paulo.

4.2 Descrição das Granjas

Da suinocultura A, com 30 matrizes, foram examinados 59 leitões e da suinocultura C, com oito matrizes, foram examinados 36 leitões. Ambas adotaram vazio sanitário de no mínimo sete dias e durante esse período foi feita a alternância de desinfetantes do tipo amônia quaternária, iodo e formol, sendo os animais introduzidos após a completa secagem das instalações. Vassoura de fogo foi utilizada três vezes ao ano. Na suinocultura B, com cinco matrizes, foram examinados 12 leitões; o tempo do vazio sanitário chegou a dois meses e a vassoura de fogo foi utilizada cinco vezes ao ano, com o uso de desinfetante a base de cresóis e fenóis (creolina) e cal virgem.

As três granjas apresentavam criação do tipo intensiva, com fornecimento de água e ração “ad libitum”, sendo os animais divididos em lotes e mantidos em baias suspensas ou em chão cimentado com higienização diária realizada com água sob alta pressão. O único anti-parasitário utilizado foi,

Ivermectina a 1% foi administrada às matrizes 15 dias antes do parto e aos leitões na desmama e a cada 80 dias.

Um registro de variáveis foi elaborado incluindo-se o sexo, raça, a consistência e grau de hidratação das amostras fecais de cada animal do estudo, bem como a infra-estrutura e manejo sanitário de cada granja.

4.3 Colheita do Material

4.3.1 Colheita das Fezes

Foram colhidas três amostras fecais de todas as leitegadas, para aumentar a probabilidade de encontro dos parasitos, entre o período de fevereiro a novembro de 2008. As fezes foram retiradas diretamente da ampola retal de cada animal devidamente identificadas e acondicionadas sob refrigeração, a temperatura de 4 a 8°C, até o momento do exame.

4.4 Exame Laboratorial

4.4.1 Pesquisa de Oocistos de *Cryptosporidium* spp. e de Cistos ou Trofozoítos de *Giardia* spp.

As amostras de fezes foram colhidas e encaminhadas ao Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais e Parasitologia, onde foram executadas as técnica de centrifugo – flutuação (FAUST et al., 1938) com solução de sulfato de zinco (densidade 1200g cm⁻³) para a detecção de cistos de *Giardia* spp. A seguir, os esfregaços fecais foram colorados pela técnica de Kinyoun

modificada (LENNETTE, 1985) para a observação dos oocistos de *Cryptosporidium* spp.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da técnica de Kinyoun observou-se uma ocorrência de 4,7% (5/107) para *Cryptosporidium* spp. (Figura 3) e pelo método de Faust foi verificada positividade concomitante de 1,9% (2/107) para *Giardia* spp., apenas na granja A.

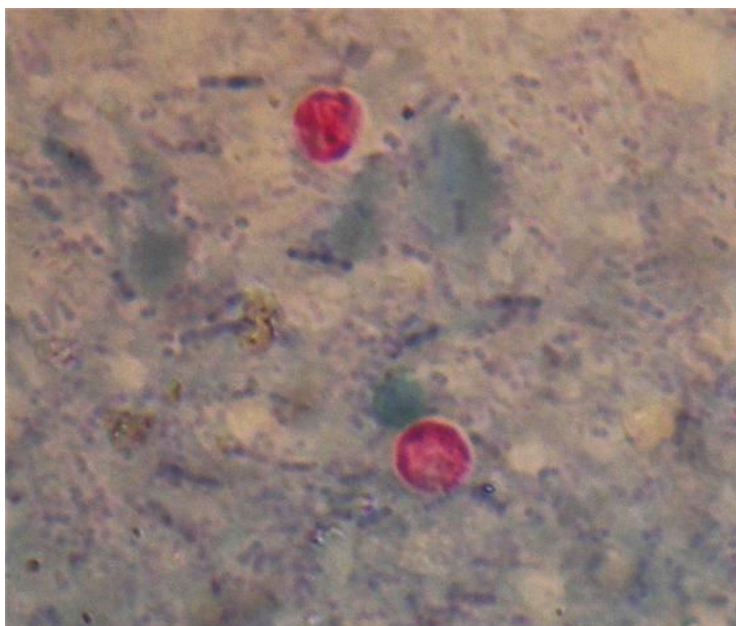


FIGURA 3 – Aspecto microscópico de dois oocistos de *Cryptosporidium* spp. em amostra de fezes de leitão pela Técnica de Kinyoun (obj 40 X).

Olson et al. (1997) por meio da técnica de imunofluorescência verificaram 11% (26/236) de positividade em leitões para *Cryptosporidium* spp. no Canadá. No Brasil, Quadros et al. (2006) não observaram positividade deste

coccídio em suínos com idades variadas, por meio da técnica de coloração por auramina e Ziehl Neelsen. A taxa de positividade para este coccídio é dez vezes mais alta em estudos que utilizam a PCR comparativamente a trabalhos com microscopia (RYAN et al., 2005). Johnson et al. (2008) na Austrália registraram ocorrência de 32,7% (51/156) deste parasito em animais entre quatro semanas a seis meses de idade, por meio de PCR.

Hamnes et al. (2007) na Noruega, por meio da técnica de Sheather e imunofluorescência observaram positividade de 1,5% (10/684) para *Giardia* spp. em leitões lactentes.

Estudos em muitos países, informaram uma ocorrência de *Cryptosporidium* spp. variando de 1,4% a 33,2% em porcos domésticos. Quilez et al. (1996) verificou na Espanha 21,9% (136/620) de positividade, Izumiyama et al. (2001) no Japão, 33,2% (77/232), Vitovec et al. (2006) na República Tcheca, 24.1% (201/835), Zintl et al. (2007) na Irlanda, 11,4% (39/342), Chen e Huang (2007) na China, 12% (178/1488), Wieler et al. (2001) na Alemanha, 1,4% (4/287).

A maior porcentagem de positividade observada na granja A, pode ser explicada pela mesma possuir um elevado número de animais.

Tabela 3: Correlação da presença ou ausência de diarreia com a positividade dos animais para *Cryptosporidium* e *Giardia* na granja A de acordo com o sexo e positividade nas colheitas.

Granja	Animal	Sexo	Colheita	Protozoário (s)	Diarréia
A	1	M	1 ^a	<i>Cryptosporidium</i>	Não
A	2	F	1 ^a	<i>Cryptosporidium</i>	Não
A	3	F	2 ^a	<i>Cryptosporidium</i>	Não
A	4	M	2 ^a	<i>Cryptosporidium</i> e <i>Giardia</i>	Sim
A	5	F	2 ^a	<i>Cryptosporidium</i> e <i>Giardia</i>	Sim

Suinoculturas fechadas não são influenciadas por mudanças climáticas sazonais, diferindo neste aspecto, de rebanhos ao ar livre (HAMNES et al., 2007). Amostras positivas para ambos os parasitas foram detectadas apenas no mês de julho. Hamnes et al. (2007) na Noruega, não observaram diferença significativa em relação à ocorrência de *Cryptosporidium* e *Giardia* durante as estações do ano.

Dos animais examinados, 60 eram fêmeas e 47 machos. Destes, três fêmeas e dois machos foram positivos para *Cryptosporidium*, e destes um macho e uma fêmea apresentaram infecção concomitante com *Giardia*, sendo os parasitados, encontrados na propriedade com maior número de animais. O pequeno número de animais positivos, não permitiu avaliar associação com o gênero e nem a variação sazonal.

Além da técnica de diagnóstico, o manejo pareceu influenciar esta positividade uma vez que, todos os animais examinados estavam confinados em camas suspensas com piso de concreto. Ocorrência mais elevada de

Giardia spp. e *Cryptosporidium* spp. foi observada em suinoculturas ao ar livre em relação às fechadas (BILIC; BILKEI, 2006; JOHNSON et al., 2008).

O período de 21 a 28 dias após o desmame é considerado uma fase crítica na produção de leitões, devido à ocorrência de fatores estressantes, como a separação da mãe, mudança da alimentação e do ambiente, que podem ter como consequência a diarreia destes (MORÉS; AMARAL, 2009). *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, rotavirus, *Isospora suis*, *Strongyloides ransomi* (SOBESTIANSKY; BARCELLOS, 2007; STRAW et al., 2006) podem ser incriminados como possíveis agentes etiológicos de manifestações entéricas.

Do total de animais, 85 apresentavam fezes com consistência normal e 22, em pelo menos em uma coleta, apresentaram diarreia. Destes, dois demonstraram positividade para *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. concomitantemente. Apesar dos achados positivos, não se pode afirmar a causa destas diarreias pois não foram realizados outros exames coproparasitológicos e microbiológicos nestes suínos. Hamnes et al. (2007) relataram associação significativa entre diarreia e positividade para *Cryptosporidium* em leitões.

A limpeza diária das baias com uso de água sob alta pressão, uso de desinfetantes, alimentação a base de ração, água de poço artesiano fornecida por bebedouros do tipo chupeta, chão cimentado ou camas suspensas e o hábito dos animais defecarem sempre em um mesmo ponto, são fatores que

desfavorecem a manutenção dos agentes no ambiente e que devem ter contribuído para a baixa ocorrência observada no presente estudo.

O Formol e o iodo possuem propriedades bactericidas e germicidas. A cal combinada com água, desenvolve grande quantidade de calor, apresentando elevado potencial desinfetante (SOBESTIANSKY, 1981; WIEST, 1984).

Maddox-Hyttel et al. (2006) observaram que a higiene empregada no piso (uso de água sob alta pressão, de desinfetantes e secagem das instalações antes da introdução dos animais) reduziram a excreção de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium*.

Os animais foram positivos para *Cryptosporidium* spp. ou *Giardia* spp. em apenas uma das três coletas, sendo os positivos para *Cryptosporidium* , dois na primeira coleta (45º dia) e três na segunda coleta (47º dia) e os positivos para *Giardia*, apresentaram o parasito apenas na segunda coleta (47º dia). Guselle et al. (2003) que avaliaram a criptosporidiose em suínos, encontraram eliminação descontínua do coccídeo. Hamnes et al. (2007) observaram intermitência na excreção de *Giardia* em outros animais, sendo provável o mesmo padrão em suínos.

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos é possível inferir que há ocorrência de *Cryptosporidium* e *Giardia* em leitões desmamados no Município de Araçatuba e que essa ocorrência é baixa devido ao manejo sanitário que inclui lavagem e desinfecção do ambiente além de instalações adequadas.

REFERÊNCIAS

- ABAZA, H.; EL-ZAYADI, A. R.; KABIL, S. M.; RISK, H. Nitazoxanide in the treatment of patients with intestinal protozoan and helminthic infections: a report n 546 patients in Egypt. **Curr. Ther. Res.**, v. 59, n.2, p.116-121,1998.
- ADAM, R. D. Biology of *Giardia lamblia*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 14, n. 3, p. 447-475, 2001.
- ALI, S. A.; HILL D. R. *Giardia intestinalis*. **Curr. Opin. Infec. Dis.**, v. 16, n.5, p. 453-460, 2003.
- ALVAREZ-PELLITERO, P.; SITJA-BOBADILLA, A. *Cryptosporidium molnarii* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting two marine fish species, *Sparus aurata* L. and *Dicentrarchus labrax* L. **Int. J. Parasitol.**, v.32, n. 8, p.1007-1021, 2002.
- ANDERSON, B. C. Moist heat inactivation of *Cryptosporidium* sp. **Am. J. Public Health**, v. 75, n. 12, p. 133-1434, 1985.
- APPELBEE, A. J.; THOMPSON, R. C.; OLSON, M. E. Giardia and Cryptosporidium in mammalian wildlife: current status and future needs. **Trends Parasitol.**, v. 21, n.8, p. 370–376, 2005.
- ARGENZIO, R. A.; LECCE, J.; POWELL, D. W. Prostanoids inhibit intestinal NaCl absorption in experimental porcine cryptosporidiosis. **Gastroenterology**, v. 104, n.2, p. 440–447, 1993.
- ASHBOLT, N. J. Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions. **Toxicology**, v. 198, n.1-3, p. 229-238, 2004.

ATWILL, E. R.; SWEITZER, R. A.; PEREIRA, M. G.; GARDNER, I. A.; VAN VUREN, D.; BOYCE, W. M. Prevalence of and associated risk factors for shedding *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Giardia* cysts within feral pig populations in California. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 63, n. 10, p. 3946–3949, 1997.

BAHR, S. E.; MORAIS, H. A. Pessoas imunocomprometidas e animais de estimação. **Clín. Vet.**, v.6, p. 17-22, 2001.

BALATBAT, A. B.; JORDAN, G. W.; TANG, Y. J.; SILVA JUNIOR, J. R. Detection of *Cryptosporidium parvum* DNA in human feces by nested PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v. 34, n. 7, p. 1769-1772, 1996.

BERTRAND, I.; SCHWARTZBROD, J. Detection and genotyping of *Giardia duodenalis* in wastewater: relation between assemblages and faecal contamination origin. **Wat. Res.**, v.41, n. 16, p. 3675-3682, 2007.

BEST CONSULTING. **Giardia.** Disponível em: <<http://www.bestconsulting.com/veterinaria/giardia/giardia.htm>>. Acesso em: 22 abr. 2002.

BIALEK, R.; BINDER, N.; DIETZ, K.; JOACHIMA, A.; KNOBLOCH, J.; ZELCK, V. E. Comparison of fluorescence, antigen and PCR assays to detect *Cryptosporidium parvum* in fecal specimens. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 43, n. 4, p. 283-288, 2002.

BILIC, H. R.; BILKEI, G. *Balantidium*, *Cryptosporidium* and *Giardia* species infections in indoor and outdoor pig production units in Croatia. **Vet. Rec.**, v. 158, n. 2, p. 61, 2006.

BOLTER-BITZER, J. I.; LEE, H.; TREVORS, J. T. Molecular targets for detection and immunotherapy in *Cryptosporidium parvum*. **Biotechnol. Adv.**, v. 25, n.1, p. 13-44, 2007.

BORGES, J. C. G.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. D. G. Criptosporidiose: uma revisão sobre a sua implica.ção na conservação dos mamíferos aquáticos. **Biota Neotrop.**, v.7, n. 3, p. 91-96, 2007.

BRACARENSE, A. P. F. R. L.; REIS, A. C. F.; SINHORINI, I. L. Aspectos ultraestruturais da criptosporidiose experimental em suínos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** [online], v.51, n.5, p. 441-444, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portal Saúde. **Doenças infecciosas parasitárias.** Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/guia_bolso_7_edicao_web.pdf> Acesso em: 2 jun. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Informativo de Saúde Pública. **Giardiase**, 2004. Disponível em: <http://www.mass.gov/Eeohhs2/docs/dph/cdc/factsheets/giardia_pt.pdf> acesso em: 29 maio 2009.

BURET, A.; DENHOLLANDER, N.; WALLIS, P. M.; BEFUS, D.; OLSON, M. E. Zoonotic potential of giardiasis in domestic ruminants. **J. Infect. Dis.**, v. 162, n.1, p.231- 238, 1990.

CACCIÒ, S. M.; DE GIACOMO, M.; AULICINO, F. A.; POZIO, E. *Giardia* cysts in wastewater treatment palnts in Italy. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, n.6, p. 3393-3398, 2003.

CACCIÒ, S. M.; THOMPSON, R. C. A.; McLAUCHLIN, J.; SMITH, H. V. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. **Trends Parasitol.**, v. 21, n. 9, p. 430-437, 2005.

CAPUANO, M. D.; ROCHA, G. M. Ocorrência de parasitas com potencial zoonótico em fezes de cães coletadas em áreas públicas do município de Ribeirão Preto. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v.9, n.1, p. 81-86, 2006.

CAREY, C. M.; LEE, H.; TREVORS, J. T. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. **Water Res.**, v. 38, n. 4, p. 818-862, 2004.

CARVALHO, T. T. R. Estado atual do conhecimento de *Cryptosporidium* e *Giardia*. **Ver. Patol. Trop.**, v. 38, n. 1, p. 1-16, 2009.

CARVALHO, T. B.; CARVALHO, L. R.; MASCARINI, L. M. Occurrence of enteroparasites in day care centers in botucatu (são paulo state, brazil) with emphasis on *Cryptosporidium* sp., *Giardia duodenalis* and *Enterobius vermicularis*. **Rev. Inst. Med. trop. São Paulo**, v. 48, n. 5, p. 269-273, 2006.

CAUSER, L. M.; HANDZEL, T.; WELCH, P.; CARR, M.; CULP, D.; LUCHT, R.; MUDAHAR, K.; ROBINSON, D.; NEAVEAR, E.; FENTON, S.; ROSE, C.; CRAIG, L.; ARROWOOD, M.; WAHLQUIST, S.; XIAO, L.; LEE, Y.M.; MIREL, L.; LEVY, D.; BEACH, M. J.; POQUETTE, G.; DWORKIN, M. S. An outbreak of *Cryptosporidium hominis* infection at an Illinois recreational waterpark. **Epidemiol. Infect.**, v. 134, n. 1, p. 147-156, 2006.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Cryptosporidiosis**. Disponível em: <http://www.dpd.cdc.gov/DPDX/HTML/Cryptosporidiosis.htm> Acesso em: fev. 2009

CENTRO DE VIGILÂNCIA DE SÃO PAULO. **Giardia lamblia**. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Giardiose.htm>> Acesso em: fev. 2009.

CHAIA, G. **Atlas de parasitologia**, São Paulo: Johnson & Johnson, 1975. p. 35- 37.

CHEN, F.; HUANG, K. Prevalence and phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* in pigs in eastern china. **Zoonoses Public Health**, v. 54, n. 9-10, p. 393–400, 2007.

CHERMETTE, R.; BOUFASSA-OUZROUT, S. **Cryptosporidiosis: a cosmopolitan disease in animals and in man**, 2. ed. Paris: OIE, 1988. p. 122.

CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. São Paulo: Atheneu. 1. ed. 1999. 375p.

CLANCY, J. L.; BUKHARI Z.; STERLING, C. R.; MARSHALL, M. M.; KORICH, D. G.; SCHAEFER III, F. W.; ROSEN J. S. Cell culture method not yet viable. **J. Am. Water Works Assoc.**, v. 92, n. 4, p. 4-6, 2000.

CLARK, D. P.; SEARS, C. L. The pathogenesis of cryptosporidiosis. **Parasitol. Today.**, v. 12, n. 6, p. 221-225, 1996.

CONBOY, G. Diagnostic parasitology. **Can. Vet. J.**, v.37, n.3, p.181 – 182,1996.

CRAUN, G. F.; HUBBS, S. A.; FROST, F.; CALDERON, R. L.; VIA, S. H. Waterborne outbreaks of cryptosporidiosis. **J. Am. Water Works Assoc.**, v. 90, n. 9, p. 81-91, 1998.

CURRENT, W. L. *Cryptosporidium* Species. In: FOWLER, M. E.; MILLER, R. E. **Zoo and wild animal medicine current therapy**. 4th. ed. Philadelphia, Pennsylvania: W.B Saunders, 1999. p. 121-131.

CURRENT, W. L. Techniques and laboratory maintenance of *Cryptosporidium*. In: DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; FAYER, R. **Cryptosporidiosis of man and animals**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 59-82.

CURRIERO, F. C.; PATZ, J. A.; ROSE, J. B.; LELE, S. The association between extreme precipitation and waterborne disease outbreaks in the United States, 1948-1994. **Am. J. Public Health**, v.91, n. 8, p. 1194-1199, 2002.

DÍAZ, V.; CAMPOS, M.; LOZANO, J.; MANAS, J.; GONZALES, J. Aspects of animal giardiasis in Granada province (Southern Spain). **Vet. Parasitol.**, v.64, n. 3, p.171-176, 1996.

DIETZ, V.; VUGIA, D.; NELSON, R.; WICKLUND, S.; NADLE, J.; MCCOMBS, K. G.; REDDY, S. Active. Multisite, laboratory -based surveillance for *Cryptosporidium parvum*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.62, n. 3, p. 368-372, 2000.

DILLINGHAM, R. A.; LIMA, A. A.; GUERRANT, R. L. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. **Microbes Infect.**, v. 4, n. 10, p. 1059-1066, 2002.

DITRICH, O.; PALKOVIC, L.; STERBA, J.; PROKOPIC, J.; LOUDOVÁ, J.; GIBODA, M.: The first finding of *Cryptosporidium baileyi* in man. **Parasitol. Res.**, v. 77, n.1, p. 44-47, 1991.

DUFFY, G.; MORIARTY, E. M. *Cryptosporidium* and its potential as a food-borne pathogen. **Anim. Health Res. Rev.**, v. 4, n. 2, p. 95-107, 2003.

ELLIOT, A.; MORGAN UNA M.; THOMPSON, R. C. A. Improved staining method for detecting *Cryptosporidium* oocysts in stools using malachite green. **J. Gen. Appl. Microbiol.**, v. 45, n. 3, p. 139–142, 1999.

FAUBERT, G. Immune response to *Giardia duodenalis*. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 13, n. 1, p. 35-54, 2000.

FAUST, E. C.; D' ANTONI, J. S.; ODON, V.; MILLER, M. S.; PERES, C.; SAWITZ, W.; TOMEN, L. F.; WALKER, J. H. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. I-Preliminary communication. **Am. J. Trop. Med.**, v. 18, p. 169-183, 1938.

FAYER, R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. **Vet. Parasitol.**, v. 126, n. 1-2, p.37-56, 2004.

FAYER, R.; UNGAR, B. L. P. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. **Microbiol. Rev.**, v. 50, n. 41, p. 458-483, 1986.

FAYER, R.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Zoonotic protozoa: from land to sea. **Trends Parasitol.**, v. 20, n.11, p. 531-536, 2004.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **Int. J. Parasitol.**, v. 30, n. 12-13, p. 1305-1322, 2000.

FAYER, R.; TROUT, J. M.; JENKINS, M. C. Infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts stored in water at environmental temperatures. **J. Parasitol.**, v. 84, n. 6, p. 1165-1169, 1998

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

FAYER, R.; LEWIS, E. J.; TROUT, J. M.; GRACZYK, T. K.; JENKINS, M. C.; HIGGINS, J.; XIAO, L.; LAL, A. A. *Cryptosporidium parvum* in oysters from commercial harvesting sites in the Chesapeake bay. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 5, n.5, p. 706-710, 1999.

FELTUS, D. C.; GIDDINGS, W. C.; SCHNECK, B. L.; MONSON, T.; WARSHAUER, D.; MCEVOY, J. M. Evidence supporting zoonotic transmission of *Cryptosporidium* spp. in Wisconsin. **J. Clin. Microbiol.**, v. 44, n. 12, p. 4303-4308, 2006.

GATEI, W.; DAS, P.; DUTTA, P.; SEN, A.; CAMA, V.; LAL, A. A.; XIAO, L. Multilocus sequence typing and genetic structure of *Cryptosporidium hominis* from children in Kolkata, Índia. **Inf. Genet. Evol.**, v. 7, n. 2, p. 197-205, 2007.

GELLETLIE, R.; STUART, J.; SOLTANPOOR, N.; ARMSTRONG, R.; NICHOLS, G. Cryptosporidiosis associated with school milk. **Lancet**, v. 350, n. 9083, p. 1005-1006, 1997.

GOLDIN, A. J.; WERNER, A. P. T.; AGUILERA, X.; ZULANTAY, I.; WARHUST, D. C.; MILLE, M. A. Efficient diagnosis of Giardiasis among nursery and primary school children in Sanrtiago, Chile by capture ELISA for detection of fecal Giardia antigens. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 42, n. 6, p. 538–545, 1990.

GONÇALVES, E. M. N.; SILVA, A. J.; EDUARDO, M. B. P.; UEMURA, I. H.; MOURA, I. N. S.; CASTILHO, V. L. P.; CORBERTT, C. E. P. Multilocus genotyping of *Cryptosporidium hominis* associated with diarrhea outbreak in a day care unit in São Paulo. **Clinics**, v. 6, n. 2, p.119-126, 2006.

GONÇALVES, E. M.; ARAÚJO, R. S.; ORBAN, M.; MATTÉ, G. R.; MATTÉ, M. H.; CORBETT, C. E. Protocol for DNA extraction of *Cryptosporidium* spp. oocysts in fecal samples. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 50, n. 3, p. 165-167, 2008.

GRACZYK, T. K.; EVANS, B. M.; ZIF, C. J.; KARREMAN, H. J.; PATZ, J. A. Environmental and geographical factors contributing to watershed contamination with *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Environ. Res.**, v. 82, n. 3, p. 263-271, 2000.

GRACZYK, T. K.; FAYER, R.; LEWIS, E. J.; TROUT, J. M.; FARLEY, C. A. *Cryptosporidium* oocysts in bent mussels (*Ischadium recurvum*) in the Chesapeake bay. **Parasitol. Res.**, v. 85, n. 7, p. 518-520, 1999.

GRACZYK, T. K.; SUNDERLAND, D.; TAMANG, L.; SHIELDS, T. M.; LUCY, F. E.; BREYSEE, P. N.: Quantitative evaluation of the impact of bather density on levels of human-virulent microsporidian spores in recreational water. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 73, n. 13, p. 4095-4099, 2007.

GUSELLE, N.; APPELBEE, A. J.; OLSON, M. E. Biology of *Cryptosporidium parvum* in pigs: from weaning to market. **Vet. Parasitol.**, v. 113, n. 1, p.7-18, 2003.

GUY, R. A.; XIAO, C.; HORGAN, P. A. Real-time PCR assay for detection and genotype differentiation of *Giardia lamblia* in stool specimens. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, n. 7, p. 3317-3320, 2004.

HAMNES, I. S.; GJERDE, B. K.; FORBERG, T.; ROBERTSON, L. J.; Occurrence of *cryptosporidium* and *Giardia* in sucking piglets in Norway. **Vet. Parasitol.**, v. 144, n. 3-4, p. 222-233, 2007.

HARPER, C. M.; COWELL, N. A.; ADAMS, B. C.; LANGLEY, A. J.; WOHLSEN, T. D. Outbreak of *Cryptosporidium* linked to drinking unpasteurised milk. **Commun. Dis. Intell.**, v.26, n. 3, p.449-450, 2002.

HUNTER, P. R.; THOMPSON, R. C. The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. **Int. J. Parasitol.**, v. 35, n. 11-12, p.1181-1190, 2005.

IZUMIYAMA, S.; FURUKAWA, I.; KUROKI, T.; YAMAI, S.; SUGIYAMA, H.; YAGITA, K.; ENDO, T. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infections in weaned piglets and fattening porkers in Kanagawa prefecture, Japan. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v. 54, n. 1, p.23-26, 2001.

JENKINS, M. C. Advances and prospects for subunit vaccines against protozoa of veterinary importance. **Vet. Parasitol.**, v. 101, n. 3-4, p. 291-310, 2001.

JENKINS, M. C.; TROUT, J. M.; HIGGINS, J.; DORSCH, M.; VEAL, D.; FAYER, R. Comparison of tests for viable and infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Parasitol. Res.**, v. 89, n. 1, p. 1-5, 2003.

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. **Biotechnol. Adv.**, v. 26, n.4, p. 304-317, 2008.

JOHNSON, D. C.; REYNOLDS, K. A.; GERBA, C. P.; PEPPER, I. L.; ROSE, J. B. Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* in marine waters. **Water Sci. Technol.**, v. 31, n. 5-6, p. 439- 442, 1995.

JOHNSON, J.; BUDDLE, R.; REID, S.; ARMSON, A.; RYAN, M. Prevalence of *Cryptosporidium* genotypes in pre and post-weaned pigs in Australia. **Exp. Parasitol.**, v. 119, n. 3, p. 418-421, 2008.

KANJO, Y.; KIMATA, I.; MIYANAGA, S.; OKADA, H.; BANNO, C.; MATSUMOTO, M.; SHIMADA, Y. Inactivation of *Cryptosporidium* spp. oocysts with ozone and ultraviolet irradiation evaluated by in vitro excystation and animal infectivity. **Water Sci. Technol.**, v. 41, n. 7, p. 119-125, 2000.

KING B. J.; HOEFEL D.; DAMINATO D. P.; FANOK S.; MONIS P. T. Solar UV reduces *Cryptosporidium parvum* oocyst infectivity in environmental waters. **J. Appl. Microbiol.**, v. 104, n. 5, p. 1311-1323, 2008.

KOYAMA, Y.; SATOH, M.; MAEKAWA, K.; HIKOSAKA, K.; NAKAI, Y. Isolation of *Cryptosporidium andersoni* Kawatabi type in a slaughterhouse in the northern island of Japan. **Vet. Parasitol.**, v.130, n. 3-4, p. 323-326, 2005.

LEAV, B. A.; MACKAY, M.; WARD, H. D. *Cryptosporidium* species: new insights and old challenges. **Clin. Infect. Dis.**, v. 36, n. 7, p. 906-908, 2003.

LEE, S. H.; LEVY, D. A.; CRAUN, G. F.; BEACH, M. J.; CALDERON, R. L. Surveillance for waterborne-disease outbreaks: United States, 1999-2000. **MMWR Surveill Summ.**, v.51, n. 8, p.1-47, 2002.

LEIB, M. S.; ZAJAC, A. M. Giardiasis in dogs and cats. **Vet. Med.**, v.94, p.793-802, 1999.

LENNETTE, E. H. **Manual of clinical microbiology**. 4. ed. Washington: Am. Soc. Microbiol., 1985. p. 1149.

MACEDO, L. M. C.; SILVA, J. R. M.; SILVA, R. R.; OLIVEIRA, L. M.; VIANNA, M. S. R. Enteroparasitoses em pré-escolares de comunidades favelizadas da cidade do Rio de Janeiro. **Cad. Saúde Pública**, v. 14, n. 4, p. 851-855, 1998.

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. **N. Engl. J. Med.**, v. 331, n. 3, p. 161-167, 1994.

MACPHERSON, C. N. L. Human behavior and epidemiology of parasitic zoonoses. **Int. J. Parasitol.**, v. 35, n.11-12, p. 1319-1331, 2005.

MADDOX-HYTTEL, C.; LANGKJAER, R. S.; RIKKE, B.; ENEMARK, H. L.; HEIDI, L.; VIGRE, P. H. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs: occurrence and management associated risk factors. **Vet. Parasitol.**, v. 141, n. 1-2, p. 48-59, 2006.

MILLARD, P. S.; GENSHEIMER, K. F.; ADDISS, D. G.; SOSIN, D. M.; BECKETT, G. A.; HOUCK-JANKOSKI, A.; HUDSON, A. An outbreak of cryptosporidiosis from fresh-pressed apple cider. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 272, n. 10, p. 1592-1196, 1994.

MONGE, R.; CHINCHILLA, M. Presence of *Cryptosporidium* oocysts in fresh vegetables. **J. Food Protec.**, v. 59, n. 2, p. 202-203, 1996.

MONIS, P. T.; THOMPSON, R. C. A. *Cryptosporidium* and *Giardia*-zoonoses: fact or fiction? **Infect. Genet. Envolv.**, v. 3, n. 4, p. 233-244, 2003.

MORAES, R. G.; GOULART E. G.; LEITE, I. C. **Parasitologia e micologia humana**. 4. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2000.

MORES, N.; AMARAL, A L. **Patologias associadas ao desmame**. disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/abrasesc/pdf/Palestras2001/Nelson_Mores.pdf acesso em: 17 ago. 2009.

MORGAN, U. M.; THOMPSON, R. C. A. PCR detection of *Cryptosporidium*: the way forward? **Parasitol. Today**, v. 14, n. 6, p. 241-245, 1998.

MORGAN, U. M.; XIAO, L.; FAYER, R.; LAL, A. A.; THOMPSON, R. C. A. Variation in *Cryptosporidium*: towards a taxonomic revision of the genus. **Int. J. Parasitol.**, v. 29, n. 11, 1733-1751, 1999.

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*. **J. Eukaryotic Microbiol.**, v. 49, n. 6, p. 433-440, 2002.

MOTTA, J. A. C.; PENNA, F. J.; MELO, M. C. B. Parasitoses intestinais. In: LEÃO E.; CORRÊA E.J.; VIANNA M.B.; MOTTA J.A.C. (Eds.) **Pediatria ambulatorial**. 5. ed. Belo Horizonte: Coopmed, 2004.

MÜLLER, N.; VON ALLMEN, N. Recent insights into the mucosal reactions associated with *Giardia lamblia* infections. **Int. J. Parasitol.**, v. 35, n. 13, p. 1339-1347, 2005.

MUNIZ-JUNQUEIRA, M. I.; QUEIROZ, E. F. O. Relationship between protein-energy malnutrition, vitamin A and parasitoses in children living in Brasília. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 2, p. 133-142, 2002.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 494p.

O'HANDLEY, R. M.; COCKWILL, C.; MCALLISTER, T. A.; JELINSKI, M.; MORCK, D. W.; OKHUYSSEN, P. C.; CHAPPELL, C. L.; CRABB, J. H.; STERLING, C. R.; DUPONT, H. L. Virulence of three distinct *Cryptosporidium*

parvum isolates for healthy adults. **J. Infect. Dis.**, v. 180, n. 4, p. 1275-1281, 1999.

OLSON, B. E.; OLSON, M. E.; WALLIS, P. M. **Giardia, the cosmopolitan parasite**. United Kingdom: Cabi, 2002.

OLSON, M. E.; CERI, H.; MORCK, D. W. *Giardia* vaccination. **Parasitol. Today**, v. 16, n. 5, p. 213-217, 2000.

OLSON, M. E.; O'HANDLEY, R. M.; RALSTON, B. J.; MCALLISTER, T. A.; THOMPSON, R. C. A. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. **Trends Parasitol.**, v. 20, n. 4, p. 185-191, 2004.

OLSON, M. E.; THORLAKSON, C. L.; DESELLIERS, L.; MORCK, D. W.; MCALLISTER, T. A. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. **Vet. Parasitol.**, v. 68, n. 4, p. 375-381, 1997.

ORTEGA, Y. R.; SHEEHY, R. R.; CAMA, V. A.; OISHI, K. K.; STERLING, C. R. Restriction fragment length polymorphism analysis of *Cryptosporidium parvum* isolates of bovine and human origin. **J. Protozool.**, v. 38, n. 6, p. 40S-41S, 1991.

PÉREZ-ARRIAGA, L.; MENDOZA-MAGAÑA, M. L.; CORTÉS-ZÁRALE, R.; CORONA-RIVERA, A.; BOBADILLA-MORALES, L.; TROYO-SANROMÁN, R.; RAMÍREZ-HERRERA, M. A. Cytotoxic effect of curcumin on *Giardia lamblia* trophozoites. **Acta Trop.**, v. 98, n. 2, p. 152-161, 2006.

PESSOA, S. B.; MARTINS, A. V. **Parasitologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. p. 56-59.

QUADROS, R. M.; MARQUES, S. M. T.; AMENDOEIRA, C. R.; SOUZA, L. A.; AMENDOEIRA, P. R.; COMPARIN, C. C. Detection of *Cryptosporidium* oocysts by auramine and Ziehl Neelsen staining methods. **Parasitol. Latinoam.**, v. 61, n. 3-4, p. 117 - 120, 2006.

QUILEZ, J.; SANCHEZ-ACEDO, C.; CLAVEL, A.; DEL CACHO, E.; LOPEZ-BERNAD, F. Prevalence of *Cryptosporidium* infections in pigs in Aragon (northeastern Spain). **Vet. Parasitol.**, v.67, n. 1-2, p.83-88, 1996.

RAMIREZ, N. E.; WARD, L. A.; SREEVATSAN, S. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. **Microbes Infect.**, v. 6, n. 8, p. 773-785, 2004.

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 379p.

REY, L. **Parasitologia**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1973. p. 228-230.

ROCKWELL, R.L. ***Giardia lamblia* e giardiasis with particular attention to the Sierra Nevada**. 2003. Disponível em <<http://www.yosemit.org/naturenotes/archive.htm>>. Acesso em: Jan 2007.

ROSE, J.B.; HUFFMAN, D.E.; GENNACCARO, A. Risk and control of waterborne cryptosporidiosis. **FEMS Microbiol. Rev.**, v. 26, n. 2, p. 113-123, 2002.

ROSSI, P.; RIVASI, F.; CODE LUPPI, M.; CATANIA, A.; TAMBURRINI, A.; RIGHI, E.; POZIO, E. Gastric involvement in AIDS associated cryptosporidiosis. **Gut**, v. 43, n. 4, p. 476-477, 1998.

ROSSIT, A. R. B.; ALMEIDA, M. T.; NOGUEIRA, C. A.; COSTA OLIVEIRA, J. G.; BARBOSA, D. M.; MOSCARDINI, A. C.; MASCARENHAS, J. D.; GABBAY, Y. B.; MARQUES, F. R.; CARDOSO, L. V.; CAVISINI, C. E.; MACHADO, R. L. Bacterial, yeast, parasitic, and viral enteropathogens in HIV-infected children from São Paulo State, Southeastern Brazil. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 57, n. 1, p. 59-66, 2007.

RYAN, U. M.; BATH, C.; ROBERTSON, I.; READ, C.; ELLIOT, A.; MCINNES, L.; TRAUB, R.; BESIER, B. Sheep may not be an important zoonotic reservoir for *Cryptosporidium* and *Giardia* parasites. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.71, p.4992-4997, 2005.

RYAN, U. M.; MONIS, P.; ENEMARK, H. L.; SULAIMAN, I.; SAMARASINGHE, B.; READ, C.; BUDDLE, R.; ROBERTSON, I.; ZHOU, L.; THOMPSON, R. C. A.; XIAO, L. *Cryptosporidium suis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in pigs (*Sus scrofa*). **J. Parasitol.**, v. 90, n.4, p. 769-773, 2004.

SANTÍN, M.; TROUT, J.M.; FAYER, R. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* species and genotypes in sheep in Maryland. **Vet. Parasitol.**, v. 146, n. 1-2, p. 17-24, 2007.

SARGENT, K. D.; MORGAN, U. M.; ELLIOT, A.; THOMPSON, R. C. A. Morphological and genetic characterization of *Cryptosporidium* oocysts from domestic cats. **Vet. Parasitol.**, v. 77, n. 4, p. 221-227, 1998.

SAVIOLI, L.; SMITH, H.; THOMPSON, A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the Neglected Diseases Initiative'. **Trends Parasitol.**, v. 22, n. 5, p. 203-208, 2006.

SLAPETA J. *Cryptosporidium* species found in cattle: a proposal for a new species. **Trends Parasitol.**, v. 22, n. 10, p. 469-474, 2006.

SLOSS, M. W.; KEMP, A. L.; ZAJAC, A. M. **Parasitologia clínica veterinária**, 6. ed. São Paulo: Manole, 1999. p.03-15.

SMITH, A.; REACHER, M.; SMERDON, W.; ADAK, G. K.; NICHOLS, G.; CHALMERS, R. M. Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992 – 2003. **Epidemiol. Infect.**, v. 134, n. 6, p. 1141-1149, 2006 a.

SMITH, H. V.; ROSE, J. B. Waterborne Cryptosporidiosis: current status. **Parasitol. Today**, v. 14, n. 1, p. 14-22, 1998.

SMITH, H. V.; CACCIÒ, S. M.; COOK, N.; NICHOLS, R. A. B.; TAIT, A. *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. **Vet. Parasitol.**, v. 149, n. 1-2, p. 29-40, 2007.

SMITH, H. V.; CACCIÒ, S. M.; TAIT, A.; MCLAUCHLIN, J.; THOMPSON, R. C. A. Tools for investigation the environmental transmission of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in humans. **Trends Parasitol.**, v. 22, n. 4, p. 160-167, 2006 b.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. E. S. N. **Doenças de suínos**. Goiânia: Cânone Editorial, 2007.

SOBESTIANSKY, J.; SILVEIRA, P. R. S.; WENTZ, I.; PROTAS, J.F. Limpeza e desinfecção na suinocultura: aspectos técnicos e econômicos. Concórdia, SC, Circular Técnica, n.3. EMBRAPA, CNPSA, 1981. 36p.

SOUZA, D. M.; BARREIROS, J. T.; PAPP, K. M.; STEINDEL, M.; SIMÕES, C. M. O.; BARARDI, C. R. M. Comparação entre a imuno – separação magnética, acoplada à imunofluorescência, e as técnicas de Faust et al. e de Lutz para o

diagnóstico de *Giardia lamblia* em fezes humanas. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 123, n. 6, p. 339-342, 2003.

SRÉTER, T.; VARGA, I. Cryptosporodiosis in birds a review. **Vet. Parasitol.**, v.87, n. 4, p.261-279, 2000.

STRAW, B. E.; ZIMMERMANN, J. J.; D'ALLAIRE, W. L.; TAYLOR, D. J. (Eds.) **Diseases of swine**. 9. ed. Oxford: Blackwell Science, 2006.

STEINER, T. S.; THIELMAN, N. M.; GUERRANT, R. L. Protozoal agents: what are the dangers for the public water supply? **Annu. Rev. Med.**, v. 48, p. 329-340, 1997.

SUTTHIKORNCHAI, C.; JANTANAVIVAT, C.; THONGRUNGIAT, S.; HARNROONGROJ, T.; SUKTHANA, Y. Protozoal contamination of water used in Thai frozen food industry. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health**, v.36, Suppl.4, p. 41-45, 2005.

TESSIER, J. L.; DAVIES, G. A. L. Giardiasis. Primary Care Update OB/GYNS, v.6, n. 1, p. 8-11, 1999.

THOMPSON, R. C. A. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. **Vet. Parasitol.**, v.126, n. 1-2, p. 15–35, 2004.

THOMPSON, R. C. A.; MONIS, P. T. Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology. **Adv. Parasitol.**, v. 58, p. 69–137, 2004.

THOMPSON, R. C. A.; HOPKINS, R. M.; HOMAN, W. L. Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. **Parasitol. Today**, v.16, n.5, p.210-213, 2000.

THOMPSON, R. C. A.; PALMER, C. S.; O'HANDLEY. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. **Vet. J.**, v. 177, n.1, p. 18-25, 2007.

THOMPSON, R. C. A.; REYNOLDS, J. A.; MENDIS, A. H. *Giardia* and giardiasis. **Adv. Parasitol.**, v.32, p.71-160, 1993.

THOMPSON, R. C. A.; LYMBERG, A. J.; MELONI, B. P.; BINIZ, N. The zoonotic transmission of *Giardia* species. **Vet. Rec.**, v. 126, n.20, p.513-514, 1990.

TIBAYRENC, M. Sixth International Meeting on Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases, Paris, 23-27 July 2002. **Infect. Gen. Evol.**, v.2, n. 4, p.231-234, 2003.

TRAUB, R.J.; MONIS, P.; ROBERTSON, I.; IRWIN, P.; MENCKE, N.; THOMPSON, R. C. A. Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. **Parasitology**, v. 128, pt.3, p. 253-262, 2004.

TRAVERSA, D.; IORIO, R.; OTRANTO, D.; MODRY, D.; SLAPETA, J. *Cryptosporidium* from tortoises: genetic characterisation, phylogeny and zoonotic implication. **Mol. Cel. Probes**, v.22, n. 2, p. 122-128, 2008.

TYZZER, E. E. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.5, p. 12-13, 1907.

UNGAR, B. L. P. Cryptosporidiosis in humans (*Homo sapiens*). In: DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; FAYER, R. **Cryptosporidiosis of man and animals**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 59-82.

USDA, Foreign Agricultural Service, World markets and trade. Disponível em <<http://http://www.fas.usda.gov/dlp/circular/2007/livestockpoultry04-2007.pdf>>. acesso em: 14 ago. 2007.

VASQUEZ, I. H. G.; RESTREPO, M. I.; BOTERO, D. Cryptosporidiosis. **Biomédica**, v. 6, n. 12, p. 48-70, 1986.

VITOVEC, J.; HAMADEJOVA, K.; LANDOVA, L.; KVAC, M.; KVETONOVA, D.; SAK, B. Prevalence and pathogenicity of *Cryptosporidium suis* in pre- and post-weaned pigs. **J. Vet. Med. Series B**, v.53, n. 5, p.239–243, 2006.

WARD, L. A.; WANG, Y. Rapid methods to isolate *Cryptosporidium* DNA from frozen feces for PCR. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 41, n. 1-2, p. 37-42, 2001.

WIELER, L. H.; ILIEFF, A.; HERBST, W.; BAUER, C.; VIELER, E.; BAUERFEIND, R.; FAILING, K.; KLOS, H.; WENGERT, D.; BALJER, G.; ZAHNER, H. Prevalence of enteropathogens in suckling and weaned piglets with diarrhoea in southern Germany. **J. Vet. Med. Series B**, v. 48, n. 2, p.151–159, 2001.

WIEST, J. M. Desinfecção e desinfetantes. In: GUERREIRO, M.G. **Bacteriologia especial: com interesse em saúde animal e saúde pública**. Porto Alegre: Sulina, 1984. Cap. 5, p.51-65.

XIAO, L.; FAYER, R. Molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. **Int. J. Parasitol.**, v. 38, n. 11, p.1239-1255, 2008.

XIAO, L.; FENG, Y. Zoonotic cryptosporidiosis. **FEMS Immunol. Microbiol.**, v. 52, n. 3, p. 309-323, 2008.

XIAO, L.; RYAN, M. A. Cryptosporidiosis: an update in molecular epidemiology.

Current Opini. Infecti. Dis., v. 17, n. 5, p. 483-490, 2006.

XIAO, L.; HERD, R. P.; RINGS, D. M. Concurrent infections of Giardia and Cryptosporidium on two Ohio farms with calf diarrhea. **Vet. Parasitol.**, v.51, n.

1-2, p. 41–48, 1993.

XIAO, L.; FAYER, R.; RYAN, U.; UPTON, S. J. *Cryptosporidium* taxonomy:

recent advances and implications for public health. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 17, n. 1, 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 coevolution in *Cryptosporidium*: implications for taxonomy and public health. **Int. J. Parasitol.**, v. 32, n. 4, p. 1773-1785, 2002.

ZAJAC, A. M. Giardiasis. **Comp. Contin. Educ. Pratic. Vet.**, v.14, n.5, p.605-606, 1992.

ZINTL, A.; NEVILLE, D.; MAGUIRE, D.; FANNING, S.; MULCAHY, G.; SMITH,

H. V.; DE WAAL, T. Prevalence of Cryptosporidium species in intensively farmed pigs in Ireland. **Parasitol.**, v.134, p.1575-1582, 2007.