

## Diagnóstico de *Cryptosporidium* spp. pela técnica de qPCR em gatos no estado do Rio de Janeiro, Brasil\*

Lara Patrícia Santos Carrasco<sup>1+</sup>, Renato Leão Sá de Oliveira<sup>1</sup>, Clarissa Martins do Rio Moreira<sup>1</sup>, Carla Regina Gomes Rodrigues Santos<sup>2</sup>, Kátia Barão Corgozinho<sup>3</sup> e Heloisa Justen Moreira Souza<sup>3</sup>

**ABSTRACT.** Carrasco L.P.S., Oliveira R.L.S., Moreira C.M.R., Santos C.R.G.R., Corgozinho K.B. & Souza H.J.M. [*Cryptosporidium* diagnosis by qPCR in cats at Rio de Janeiro state, Brazil.] Diagnóstico de *Cryptosporidium* spp. pela técnica de qPCR em gatos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(Supl.):22-26, 2016. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: carrasco.lara@gmail.com

*Cryptosporidium* spp. is recognized as an important etiologic agent of diarrhea in many countries. The aim of this study was to detect the presence of DNA of the parasite *Cryptosporidium* spp. in feces of cats with history of chronic diarrhea attended in the Feline Medicine Sector of the Veterinary Hospital of the Federal Rural University of Rio de Janeiro, by the polymerase chain reaction technique in real time (RT-PCR). In this study, 100 animals were admitted, of any breed or sex and from 8 weeks of age. As inclusion criteria, patients had to have diarrhea history for more than three weeks, with little success of clinical response to previously established therapies. From the samples obtained by collecting via washing the animal colon and spontaneous defecation, methods of direct examination of the feces, centrifugal flotation technique and real-time PCR were carried out. Of all cats selected for this study, 10% showed infection by *Cryptosporidium* spp. Most positive animals were aged over one year (70%) and only 30% had up to one year old. Cats were 50% purebred and 50% were domestic short hair cats. The clinical signs presented by these cats at the time of consultation were diarrhea (60%) and prolapsed rectum (40%). Four animals had co-infections with other enteropathogens (40%), such as *Giardia*, *Toxocara* sp. or *Tritrichomonas fetus* alone or combined. We concluded that infection by *Cryptosporidium* spp. is an important differential diagnosis in cats with chronic diarrhea, in cats of all ages and regardless of whether purebred or not, may have the infection and co-infection with other enteric pathogens needs to be investigated in all cases.

**KEY WORDS.** Cats, diarrhea, *Cryptosporidium* spp.

**RESUMO.** *Cryptosporidium* spp. é reconhecido como um importante agente etiológico de diarreia em diversos países. O objetivo deste trabalho foi detectar a presença do ADN do protozoário *Cryptosporidium* spp. em fezes de gatos com histórico

de diarreia crônica atendidos no Setor de Medicina Felina do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, através da técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). Neste estudo, foram admitidos 100 animais

\* Recebido em 8 de setembro de 2016.

Aceito para publicação em 6 de outubro de 2016.

<sup>1</sup> Médico-veterinário. Doutorando, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000. \*Autora para correspondência, E-mail: carrasco.lara@gmail.com

<sup>2</sup> Médica-veterinária Autônoma, Rua Adelia Chaves, 216, Rio de Janeiro, RJ 26216-010. E-mail: carlavetuff@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, UFRRJ, BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: justen@centroin.com.br

da espécie felina, de diferentes raças, de ambos os sexos e a partir de 8 semanas de idade. Como critério de inclusão, os pacientes deveriam apresentar histórico de diarreia a mais de três semanas, com pouco sucesso de resposta clínica para terapêuticas previamente instituídas. A partir das amostras de fezes obtidas por coleta via lavagem do cólon dos animais e pelo ato de defecação espontânea, foram realizados os métodos do exame direto das fezes, técnica de centrifugo flutuação e PCR em tempo real. Dos 100 gatos que foram selecionados para esta pesquisa, 10% apresentaram infecção por *Cryptosporidium* spp. A maioria dos animais positivos estavam na faixa etária acima de um ano (70%) e apenas 30% tinha até um ano de idade. Os gatos eram 50% de raça pura e 50% eram animais sem raça definida. Os sinais clínicos apresentados por esses gatos no momento da consulta foram diarreia (60%) e prolapso de reto (40%). Quatro animais apresentaram co- infecções com outros enteropatógenos (40%), um com *Giardia* sp., um com *Toxocara* sp., um com *Tritrichomonas foetus* e outro com *Toxocara* sp. e *Giardia* sp. Podemos concluir que a infecção por *Cryptosporidium* spp. é um importante diagnóstico diferencial em felinos com diarreia crônica, que gatos de qualquer idade e independente de ser de raça pura ou não, podem apresentar a infecção e que a co-infecção com outros enteropatógenos necessita ser investigada em todos os casos.

**PALAVRAS-CHAVE.** Gatos, diarreia, *Cryptosporidium* spp.

## INTRODUÇÃO

Diarreia é um achado comum na clínica de felinos, e as principais causas são intolerância alimentar, doenças intestinais primárias, estresse e agentes infecciosos (vírus, bactérias enteropatógenas, protozoários e parasitas). A criptosporidiose é uma enfermidade parasitária causada por um protozoário intracelular que coloniza a mucosa do intestino delgado. No gato doméstico, a espécie mais prevalente é o *Cryptosporidium felis*. Os principais animais acometidos são os jovens, imunocomprometidos e os que convivem em ambientes com alta densidade populacional. A infecção direta ocorre por via oral, sempre associada à contaminação da água e do alimento por fezes contendo oocistos esporulados (infectantes), e é considerada autolimitante (Scorza & Lappin 2015).

O parasitismo por *Cryptosporidium* spp. pode ser subclínico ou apresentar manifestações clínicas como diarreia do intestino delgado associada a grande volume de fezes com aspecto aquoso,

anorexia e perda de peso (Ballweber et al. 2009, Huber et al. 2002). A doença pode ser mais grave, prolongada e até com risco de vida em filhotes e gatos adultos imunocomprometidos. Os felinos com criptosporidiose podem apresentar co-infecções com outros enteropatógenos, como o Parvovírus felino, Coronavírus, *Cystispora* spp., *Giardia duodenalis* e *Tritrichomonas foetus*, o que dificulta a identificação do agente causador primário dos sinais clínicos (Paoletti et al. 2011).

O diagnóstico pode ser feito através de técnicas coproparasitológicas de centrifugo-flutuação. Outra forma de detecção dos oocistos é a partir de um fino esfregaço de fezes corado pela técnica de coloração ácida de Ziehl-Neelsen modificada, que permite a visualização dos oocistos rosados no exame microscópico. A técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) já está padronizada para amplificação de DNA de *Cryptosporidium* sp. Esta permite a genotipagem para determinar a espécie do coccídeo que está causando a doença. Um exame de fezes negativo não descarta a doença clínica. A eliminação de oocisto é intermitente, por isso muitas vezes são necessários exames coproparasitológicos seriados para se descartar a suspeita.

O objetivo deste trabalho é detectar a presença do ADN do protozoário *Cryptosporidium* spp. em fezes de gatos com histórico de diarreia crônica atendidos no Setor de Medicina Felina do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, através da técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas fezes de 100 gatos com histórico de diarreia por mais de três semanas, sem sucesso de resposta clínica para terapêuticas previamente instituídas, atendidos no setor exclusivo para o atendimento de felinos domésticos do Hospital Veterinário de Pequenos Animais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no município de Seropédica, RJ, no período de abril de 2014 até junho de 2015. Foram admitidos animais de diferentes raças, machos e fêmeas, a partir de 16 semanas de idade e independente do estado reprodutivo.

Foram avaliados o histórico e os parâmetros clínicos (como temperatura, hidratação, pelame, mucosa, perda de peso/escore de condição corporal). Cada gato teve seu escore de condição corporal classificado de acordo com uma adaptação da escala de LaFlame (Colliard et al. 2009) de um a cinco pontos que varia entre gatos com: 1- caquético, 2- magro, 3- ideal, 4- gordo e 5- 'obeso'

Os proprietários foram solicitados a responder um questionário com algumas perguntas, enquanto aguardavam o procedimento de coleta das fezes. O objetivo

deste foi determinar os possíveis fatores de risco relacionados à infecção por *Cryptosporidium* spp. e investigar o estilo de vida dos animais (gatos livres, domicializados ou semidomicializados), tais como tipo de moradia, número de gatos em casa, local de defecação, número de caixas de areia, compartilhamento das vasilhas sanitárias, escore fecal do felino no momento da consulta e nos últimos 6 meses e histórico de diarreia anterior. Além disso, o questionário apresentava uma parte com a avaliação clínica do gato, cujo preenchimento era de responsabilidade do veterinário.

Os exames parasitológicos das fezes dos gatos foram realizados através de três métodos laboratoriais: Direto, Centrifugo-Flutuação e pela técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real por um painel para enteropatógenos potenciais (Painel diarreia RealPCR™ Abrangente Plus - Felino, IDEXX®, EUA). Foram investigados *Trichomonas foetus*, *Giardia* spp., *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens* alfa toxina (CPA), *Clostridium perfringens* enterotoxina (CPE), *Cryptosporidium* spp., Coronavírus felino (FCoV), vírus da Panleucopenia felina; *Salmonella* spp. e *Toxoplasma gondii* (Carrasco et al. 2014, Gizzi et al. 2014).

A colheita das fezes frescas foi realizada impelindo dez mililitros de solução salina morna a 37°C lentamente para lavagem do colón por meio da introdução cuidadosa de uma sonda uretral número oito no reto. Este procedimento possibilitou a aspiração de uma solução fecal através de uma seringa e a emissão imediata de fezes. As amostras fecais foram acondicionadas em dois recipientes plásticos estéreis e mantidas refrigeradas a temperatura de 4°C para uso nas demais técnicas. A técnica de Centrifugo-Flutuação foi realizada para detecção de co-infecção por helmintos, coccídeos e outros protozoários. Na técnica de biologia molecular, os ácidos nucleicos totais foram extraídos com protocolos padrões usando uma plataforma comercial (CorbettXtractor- Gene). Um gene (18S rRNA) foi utilizado para quantificar o ADN e o cADN após a transcrição reversa para confirmar a integridade do ADN. Regiões de nucleotídeos conservadas foram selecionadas e dois iniciadores e uma sonda de hidrólise foram concebidas para hibridizar essas regiões, utilizando um software comercial (PrimerExpressVersion 3.0). O laboratório IDEXX não fornece informações sobre o primer e a sonda devido ao sigilo empresarial. A fim de reproduzir os resultados deste estudo, os ensaios podem ser obtidos a partir da empresa com os códigos de teste mencionados acima. O aspecto das fezes dos animais foi classificado baseado em um sistema de escore fecal, onde: 1- fezes duras e ressecadas; 2- fezes macias e úmidas; 3- fezes pastosas; 4- fezes sem formato e pastosas; 5- fezes com consistência líquida (adaptado do sistema de escore fecal para cães e gatos da Nestle-Purina). Valores da associação entre as variáveis foram calculados por meio do teste Exato de Fisher.

## RESULTADOS

Dos 100 animais admitidos no estudo, dez (10%) estavam infectados pelo protozoário *Cryptospori-*

*dium* spp. Cinco (50%) dos 10 gatos infectados eram de raça pura e cinco (50%) eram sem raça definida. As raças acometidas foram persa (4/10) e ragdoll (1/10). Os animais positivos se encontraram na faixa etária de 2 meses a 12 anos. A média de idade dos animais infectados foi de 36 ± 13 meses (média ± erro padrão da média). Quatro gatos (40%) apresentavam co-infecções, sendo um animal parasitado também por *Giardia* spp., um animal por *Toxocara* spp., um animal por *Trichomonas foetus* e outro animal por *Giardia* spp. e *Toxocara* spp.

Estatisticamente, a presença de prolapso de reto esteve altamente relacionada ( $p < 0,001$ ) a infecção por *Cryptosporidium* spp. As variáveis relacionadas com a infecção estão apresentadas na tabela abaixo (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência absoluta (n) e relativa (%) de felinos domésticos submetidos à pesquisa de DNA do protozoário *Cryptosporidium* spp. nas fezes, através da técnica de qPCR, em relação à idade, raça, quadros diarreicos, prolapso de reto, co-infecções e convivência com outros animais. Rio de Janeiro - RJ, 2015.

	<i>Cryptosporidium</i> spp.						Valor de p
	Positivo		Negativo		Total		
	n	%	n	%	n	%	
Total	10	10%	90	90%	100	100%	
Idade							
≤ 1 ano	3	12,5%	21	87,5%	24	100%	p = 0,45
> 1 ano	7	9,2%	69	90,8%	76	100%	
Raça**							
SRD	5	11,9%	37	88,1%	42	100%	p = 0,41
CRD	5	8,6%	53	91,4%	58	100%	
Quadros diarreicos							
Sim	6	11,8%	45	88,2%	51	100%	p = 0,40
Não	4	8,2%	45	91,8%	49	100%	
Prolapso de reto							
Sim	4	57,1%	3	42,9%	7	100%	p < 0,001*
Não	6	6,4%	87	93,6%	93	100%	
Co-infecções							
Sim	4	16,7%	20	83,3%	24	100%	p = 0,19
Não	6	7,9%	70	92,1%	76	100%	
Convivência com outros animais							
Sim	6	10,5%	51	89,5%	57	100%	p = 0,70
Não	4	9,3%	39	90,7%	43	100%	

\* Diferença significativa ao nível de 5%.

\*\* Raça: SRD - Sem raça definida; CRD - Com raça definida.

## DISCUSSÃO

A infecção por *Cryptosporidium* spp. é um importante diagnóstico diferencial em gatos com diarreia crônica. Sua distribuição é cosmopolita, sendo a França o país de maior incidência atingindo 44,8 % (Scorza & Lappin 2015) e em seguida a Itália com 24% (Rambozzi et al. 2007), Japão com 3,8% (Arai et al. 1990) e Reino Unido com 8,1% (Mtambo et al. 1991). No Brasil, o estudo em questão obteve uma prevalência de 10% desse parasita se mostran-

do inferior ao encontrado por Silva et al. (2015), na cidade do Recife (18,8%) e Ferreira et al. (2012) (12,7%) no município de Teresópolis- RJ. Em contrapartida, na cidade de Andradina-SP, detectaram somente 3,9%, sendo esta frequência inferior o resultado obtido no estudo em questão (Coelho et al. 2009). Essas diferenças de casuística encontradas, podem ser explicadas, em parte, pela influência do ambiente e características específicas de cada região na epidemiologia destes agentes parasitários.

Gatos de qualquer idade podem apresentar infecção pelo protozoário, porém animais mais jovens tendem a ser mais susceptíveis a desenvolver sintomatologia clínica provavelmente pela presença de um sistema imunológico imaturo e à ausência de imunidade proveniente de exposições anteriores (Rambozzi et al. 2007). Apesar disso, não foi observado associação significativa relacionada à idade do animal e a presença do DNA do parasito nas fezes, dado semelhante ao encontrado por Silva et al. (2015) e Coelho et al. (2009). Estes dados sugerem que o diagnóstico de criptosporidiose não deve ser considerado improvável em gatos mais velhos com histórico e sinais clínicos compatíveis com a infecção.

Além disso, não foi encontrado também diferença significativa entre a presença do DNA do protozoário nas fezes de animais de raça pura e sem raça definida (SRD), indicando que qualquer gato, independente da raça, pode ser infectado por *Cryptosporidium* spp (Rambozzi et al. 2007, Coelho et al. 2009, Silva et al. 2015).

Sabe-se que a criptosporidiose provoca liberação de citocinas e quimiocinas associadas ao fator nuclear  $\kappa$ B, desempenhando uma resposta inflamatória na mucosa intestinal. Estudos anteriores relacionaram a presença deste parasito em aves-truzes com severo processo inflamatório causando prolapso de cloaca (Bezuidenhout et al. 1993, Santos et al. 2005). Neste estudo, foi encontrado essa mesma associação estatística entre a presença do protozoário *Cryptosporidium* spp e prolapso de reto nos felinos.

Os gatos adultos, na maioria das vezes, podem se apresentar assintomáticos ou manifestarem sinais brandos, porém sob uma situação de estresse podem desenvolver sintomatologia clínica de diarreia do intestino delgado (Scorza & Lappin 2015). No estudo em questão, não houve diferença significativa entre a presença de diarreia e a presença de *Cryptosporidium* spp. nas fezes dos gatos infectados, resultado semelhante aos registrados em estudos anteriores (Ferreira et al. 2012, Silva

et al. 2015). No entanto, este dado discorda dos resultados obtidos por Rambozzi et al. (2007), no qual foi detectado associação significativa entre a infecção por *Cryptosporidium* spp. e a ocorrência de diarreia em felinos. Esses animais, mesmo assintomáticos são uma importante fonte de infecção para outros felinos jovens ou animais com comprometimento do sistema imune (Scorza & Lappin, 2015). A identificação e tratamento desse grupo de gatos é importante não só para controlar a disseminação da infecção entre os animais mas também possivelmente para os seres humanos. Este protozoário já foi sugerido por diversos autores como atuante em infecções intestinais em pacientes imunossuprimidos, servindo de alerta para a saúde pública (Pereira & Ferreira, 2012; Teunis & Havelaar, 2002; Tzipori, 1983).

Segundo Gizzi et al. (2014), os agentes envolvidos em uma co-infecção podem interagir sinergicamente, aumentando a virulência um do outro, resultando em maior patogênese e contribuição para piora dos sinais clínicos. Apesar disso, neste estudo, não foi observado piora da sintomatologia clínica nos animais que apresentaram infecção simultânea com outros enteropatógenos, dados igualmente encontrados por Coelho et al. (2009). A presença de infecção múltipla também pode apresentar um risco para a saúde pública, visto que alguns enteropatógenos comumente encontrados em associação com *Cryptosporidium* spp. possuem potencial zoonótico, como *Giardia* spp. (Spain et al. 2001).

Outro fator importante relacionado com a transmissão da doença é que o número de oocistos de *Cryptosporidium* spp. no ambiente aumenta à medida que cresce a densidade populacional de animais por residência (Pereira & Ferreira, 2012). A transmissão desse protozoário ocorre facilmente pelo contato direto de animais ou pessoas imunocomprometidas com as fezes do animal infectado (Ballweber et al. 2009). Apesar deste estudo, não ter encontrado correlação entre a infecção e a convivência com outros felinos os proprietários foram orientados sobre a necessidade do aumento do número de vasilhas sanitárias de acordo com o número de animais na casa, para diminuir a chance de compartilhamento do mesmo local de defecação, além da necessidade de uma alta frequência de limpeza das vasilhas sanitárias, já que a superlotação e a falta de higiene são os principais responsáveis pela predisposição à infecção. E por fim, foi conversado também sobre a importância de se tentar manter o felino infectado separado dos demais até

o final do tratamento para prevenir a transmissão e a reinfecção (Carrasco et al. 2014).

## CONCLUSÃO

A infecção por *Cryptosporidium* spp. em gatos é uma enfermidade que deve ser considerada no diagnóstico da diarreia crônica. Embora a doença seja tipicamente caracterizada por causar diarreia do intestino delgado, pode cursar com co-infecções. A utilização de ferramentas moleculares, principalmente na forma de painéis, aumenta a sensibilidade diagnóstica e possibilita a detecção de pacientes infectados por um ou mais agentes. Em função do seu potencial zoonótico torna-se necessário um diagnóstico correto para o estabelecimento mais consistente de conduta terapêuticas e manejo de gatos infectados.

## REFERÊNCIAS

- Arai H., Fukuda Y., Hara T., Funakoshi Y., Kaneko S., Yoshida T., Asahi H., Kumada M., Kato K. & Koyama T. Prevalence Of *Cryptosporidium* Infection Among Domestic Cats in the Tokyo Metropolitan District, Japan. *Japanese Journal of Medical Science & Biology*, 43:7-14, 1990.
- Ballweber L.R., Panuska C., Huston C.L., Vasilopoulos R., Pharr G.T. & Mackin A. Prevalence of and risk factors associated with shedding of *Cryptosporidium felis* in domestic cats of Mississippi and Alabama. *Veterinary Parasitology*, 160:306-10, 2009.
- Bezuidenhout A.J., Penrith M.L. & Burger W.P. Prolapse of the phallus and cloaca in the ostrich (*Struthio camelus*). *Journal of the South African Veterinary Association*, 64:156-8, 1993.
- Carrasco L.P.S., Spitz C., Souza H.J.M., Jesus V.L.T. & Gizzi A.B. *Trichostrongylus axei* como agente etiológico de diarreia em gatos - relato de dois casos. *Revista Clínica Veterinária*, 19:34-41, 2014.
- Coelho W.M.D., Amarante A.F.T., Soutello R.V.G., Meireles M.V. & Bresciane K.D.S. Ocorrência de parasitos gastrintestinais em amostras fecais de felinos no município de Andradina, São Paulo. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 18:46-49, 2009.
- Colliard L., Paragon B., Lemuet B., Benet J. & Blanchard G. Prevalence and risk factors of obesity in an urban population of healthy cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11:135-140, 2009.
- Ferreira A.P., Horta M.A.P. & Pereira C.R.A. Análise da prevalência de *Cryptosporidium* spp. em animais de companhia de idosos. Estudo de caso: Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Baiana Saúde Pública*, 36:328-342, 2012.
- Gizzi A., Oliveira S., Leutenegger C.M., Estrada M., Kozemjakin D., Stedile R., Marcondes M. & Biondo A. Presence of infectious agents and co-infections in diarrheic dogs determined with a real-time polymerase chain reaction-based panel. *BMC Veterinary Research*, 10:23, 2014.
- Huber F., Bomfim T.C.B. & Gomes R.S. Comparação entre infecção por *Cryptosporidium* sp e por *Giardia* sp em gatos sob dois sistemas de criação. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 11:7-12, 2002.
- Mtambo M.M., Nash A.S., Blewett D.A., Smith H. V. & Wright S. *Cryptosporidium* infection in cats: prevalence of infection in domestic and feral cats in the Glasgow area. *The Veterinary Record*, 129:502-4, 1991.
- Paoletti B., Otranto D., Weigl S., Giangaspero A., Cesare A. & Di Traversa D. Prevalence and genetic characterization of *Giardia* and *Cryptosporidium* in cats from Italy. *Research in Veterinary Science*, 91:397-399, 2011.
- Pereira C.R.A. & Ferreira A.P. Ocorrência e fatores de risco da criptosporidiose em felinos de companhia de idosos. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 15:681-691, 2012.
- Rambozzi L., Menzano A., Mannelli A., Romano S. & Isaia M. Prevalence of cryptosporidian infection in cats in Turin and analysis of risk factors. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9:392-396, 2007.
- Santos M., Peiró J. & Meireles M. *Cryptosporidium* infection in ostriches (*Struthio camelus*) in Brazil: clinical, morphological and molecular studies. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 7, 2005.
- Scorza V. & Lappin M.R. Criptosporidiose e Ciclosporíase, p. 876-888. In: Greene C.E. (Org.), Doenças Infeciosas em Cães e Gatos. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2015.
- Silva G.R., Santana I.M., Ferreira A.C.M.S., Borges J.C.G., Alves L.C. & Faustino M.A.G. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em Felinos de Recife, PE, Brasil. *Veterinária e Zootecnia*, 22:408-417, 2015.
- Spain C.V., Scarlett J.M., Wade S.E. & McDonough P. Prevalence of Enteric Zoonotic Agents in Cats less than 1 Year Old in Central New York State. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15:33-38, 2001.
- Teunis P.F.M. & Havelaar A.H. Risk assessment for protozoan parasites. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 50:185-193, 2002.
- Tzipori S. Cryptosporidiosis in animals and humans. *Microbiological Review*, 47:84-96, 1983.