

**OOCISTOS DE *Cryptosporidium* (APICOMPLEXA: CRYPTOSPORIDIIDAE) EM BOVINOS LEITEIROS DE UMA ÁREA ENDÊMICA NA MICRORREGIÃO DE ILHÉUS-ITABUNA, ESTADO DA BAHIA, BRASIL\***

*Cryptosporidium* OOCYSTS (APICOMPLEXA: CRIPTOSPORIDIIDAE) IN DAIRY CATTLE OF AN ENDEMIC AREA AT MICROREGION OF ILHEUS-ITABUNA IN THE STATE OF BAHIA, BRAZIL

Elza de Souza Muniz Neta<sup>1</sup>, Daniel Colen Sampaio<sup>2</sup>, Gideão da Silva Galvão<sup>3</sup> e Alexandre Dias Munhoz<sup>4</sup>

**ABSTRACT.** Muniz Neta E. de S., Sampaio D.C., Galvão G. da S. & Munhoz A.D. [*Cryptosporidium* oocysts (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in dairy cattle of an endemic area at microregion of Ilheus-Itabuna in the State of Bahia, Brazil]. Oocistos de *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) em bovinos leiteiros de uma área endêmica na microrregião de Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32(2):75-78, 2010. Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Ilhéus-Itabuna, Km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA 45650-000, Brasil. E-mail: munhoz@uesc.br

The aim of this study was to verify the presence of oocysts of the genus *Cryptosporidium* in dairy cows at Municipalities of Ilheus and Uruçuca in the State of Bahia, Brazil, in order to determine the predisposing factors and to evaluate the relationship between parasitic overload, age and clinical signs. Eleven dairy farms were selected in own benefit, in which places, fecal samples of 156 animals were collected and were distinguished in groups in accordance of animals age. The centrifugal-flotation with Phase Contrast and Ziehl-Neelsen techniques were used to visualize and to identify the oocysts. The statistical analysis was performed by using the Qui-square ( $\chi^2$ ) with Yates' correction and the Fishers exact test. All rural properties were positive. In a total of 156 animals studied, 136 (87.2%) were positive. Among these, 9 (6.6%) animals had scours. There was no statistically significant association among gender, age and breeding, such as management. Young animals excreted more oocysts than the adult ones. *Cryptosporidium* oocysts were observed in the feces of animals independent of the management used in each analyzed farm. The studied region was considered as endemic for such parasitosis without clinical signs where they were considered as carriers.

**KEY WORDS.** Cryptosporidiosis, Ziehl-Neelsen, zoonosis, dairy farms.

**RESUMO.** Este estudo tem como objetivo verificar a ocorrência de oocistos, do gênero *Cryptosporidium*, em bovinos leiteiros na microrregião de Ilhéus-Itabuna,

Estado da Bahia, Brasil, bem como determinar os fatores predisponentes e associar a carga parasitária com a idade e a sintomatologia clínica. Foram selecionados por

---

\*Recebido em 16 de outubro de 2009

Aceito em 03 de março de 2010

<sup>1</sup> Médica-veterinária, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Rod. Ilhéus-Itabuna, Km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA 45662-000, Brasil.

<sup>2</sup> Médico-veterinário, UESC, Rod. Ilhéus-Itabuna, Km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA 45662-000, Brasil.

<sup>3</sup> Médico-veterinário Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, UESC, Rod. Ilhéus-Itabuna, Km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA 45662-000, Brasil.

<sup>4</sup> Médico-veterinário, Dr.CsVs, Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, UESC, Rodovia Ilhéus-Itabuna, Km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA 45650-000, Brasil. E-mail: munhoz@uesc.br

conveniência 11 propriedades, nas quais foram coletadas amostras de fezes de 156 animais que foram categorizados em grupos de acordo com a faixa etária. Utilizaram-se as técnicas de Centrífugo-Flutuação, com Contraste de Fase e Ziehl-Neelsen Modificada com a leitura de três lâminas para visualização e identificação dos oocistos. Os testes estatísticos utilizados foram o Qui-quadrado ( $c^2$ ) com correção de Yates e o Teste Exato de Fisher. Todas as propriedades resultaram positivas. Dos 156 animais, 136 (87,2%) foram positivos. Não houve associação frente a sexo, idade e raça, assim como manejo. Entre os positivos, apenas 09 (6,6%) apresentaram fezes diarréicas. Os animais mais jovens apresentaram maior eliminação de oocistos. Foram observados oocistos de *Cryptosporidium* em fezes de animais independente do manejo realizado nas propriedades analisadas. A região estudada foi considerada endêmica para esta parasitose. Sem manifestação clínica, estes animais foram considerados portadores.

**PALAVRAS-CHAVE.** Cryptosporidiose, Ziehl-Neelsen, Zoonose, granjas leiteiras.

## INTRODUÇÃO

A Criptosporidiose é uma zoonose de distribuição cosmopolita. Nos bovinos, principalmente em bezerros caracteriza-se por ocasionar episódios de diarreia e anorexia resultando em baixos índices de crescimento (Ramirez et al. 2004, Farizawati et al. 2005, Venturini et al. 2006).

Há uma variedade de espécies de *Cryptosporidium*, com muitos hospedeiros reconhecidos. *Cryptosporidium parvum* e *C. andersoni* são as principais que acometem os bovinos (Xiao et al. 2004), sendo *C. parvum* o mais frequentemente descrito em diversas espécies de mamíferos, incluindo o homem (Ramirez et al. 2004).

Embora os bezerros sejam mais acometidos, os animais adultos assintomáticos são importantes por serem consideradas principais fontes de infecção para o resto do rebanho e contaminação ambiental (Barco et al. 1991, Fayer et al. 2000, Ortolani & Soares 2003), vista sua importância em saúde pública, uma vez que os bovinos são apontados como fonte de infecção de *C. parvum* para humanos (Olson et al. 2004)

A infecção ocorre após a ingestão dos oocistos de *Cryptosporidium* que pode ser transmitida diretamente de um animal para outro, seguindo a via de transmissão feco-oral. Usualmente, isto ocorre quando os animais são alojados juntos, em superlotação ambiental, com a contaminação dos úberes e dos utensílios pelas fezes; ou indiretamente, através do consumo de alimentos ou água contaminados (Barco et al. 1991, Ramirez et al. 2004, Feltus et al. 2006).

Várias condições relacionadas ao animal ou mesmo à forma de como eles são manejados, podem contribuir para sua infecção por oocistos de *Cryptosporidium*. Dificilmente a presença dos oocistos de *Cryptosporidium* será erradicada, mas pode diminuir a contaminação e os índices de infecção nos hospedeiros susceptíveis, visto não haver drogas efetivas contra o parasito (Barco et al. 1991, Graaf et al. 1999, Vergara & Quílez, 2004, Maddox-Hyttel et al. 2006).

Diante do exposto objetivou-se no presente estudo determinar a presença e os fatores de risco associados ao diagnóstico de oocistos de *Cryptosporidium* nas fezes de bovinos naturalmente infectados, no Estado da Bahia, Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em 11 propriedades pertencentes aos municípios de Ilhéus (14°47'55"SS; 39°02'01"W) e Uruçuca (14°36'0"SS; 39°17'0"W) na microrregião de Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil. Um total de 156 amostras de fezes de bovinos, mestiços, Gir com Holandês, sendo 64 bezerros com idade a partir de sete dias até 12 meses, e 92 animais adultos de ambos os sexos, todos selecionados por conveniência. Os animais foram agrupados em quatro faixas etárias, sendo o grupo A constituído por animais com até 30 dias; o grupo B entre 30 dias e 6 meses; o grupo C entre 6 e 12 meses e o grupo D, com animais acima de 12 meses. Com auxílio de uma luva de palpação retal as fezes foram coletadas diretamente da ampola retal, e foram colocadas em sacos plásticos, identificados, acondicionadas em uma caixa isotérmica, e posteriormente enviadas ao laboratório.

As amostras foram processadas através as técnicas de Centrífugo-flutuação modificada segundo Cardozo et al. (2005) e posterior visualização em contraste de fase, e a preparação de esfregaços fecais, segundo Almeida (2006) corados pela técnica de Ziehl-Neelsen Modificada (ZNM) utilizando o *Kit* comercial da Newprov®, seguindo as especificações do fabricante. As lâminas foram observadas em microscópio óptico Olympus™ mod. BX-50, em aumento de 400X. Para a técnica de Ziehl-Neelsen Modificada (ZNM) foram preparadas e analisadas três lâminas para cada amostra.

Durante as coletas, o responsável da propriedade foi entrevistado de maneira semi-estruturada com base nos aspectos epidemiológicos da enfermidade. Os dados obtidos foram tabulados com base no pacote estatístico EPI INFO (3.5.1) (Dean & Arnet, 2008). Para a análise estatística, realizou-se uma análise bivariada utilizando os testes do Qui-quadrado ( $c^2$ ) com correção de Yates e o exato de Fisher (Sampaio 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as 11 propriedades mostraram animais positivos para oocistos de *Cryptosporidium* (Tabela 1), o que corrobora com outros estudos, que observaram alta prevalência nos rebanhos, independente ou não da presença de animais assintomáticos (Garcia & Lima 1994, Souza & Lopes 1995, Ederli et al. 2004, Almeida 2006, Venturini et al. 2006). A variação da positividade nas propriedades variou de 10 a 100%. Garcia & Lima (1994) encontraram uma variação de 9,1 a 50% e Venturini et al. (2006) observaram de 6,67 à 71,4%, ambos avaliando a presença de oocistos de *Cryptosporidium* em fezes de bezerros com até 60 dias de idade.

Dos 156 animais, foram visualizados oocistos de *Cryptosporidium* em 136 (87,2%). Estes achados foram superiores aos encontrados por Ederli et al. (2004) de 43,6%; Almeida (2006) de 61%; e Venturini et al. (2006) de 26,6%, sendo que estes autores avaliaram animais de faixas etárias com até um ano, que representam uma categoria mais predisposta à infecção pelo agente etiológico em questão. Desta forma, os resultados demonstram uma ampla distribuição nos animais, provavelmente observada em função da utilização em conjunto de duas técnicas e a leitura de três lâminas do ZNM, o que possibilitou um aumento na detecção (sensibilidade) do parasito, o que pode sugerir também valores subestimados nos outros estudos.

Não houve diferença significativa na ocorrência deste coccídio entre os animais jovens e adultos (Tabela 2) ( $p=0,88$ ), o que difere dos achados de Quadros & Araujo (2003) onde os animais com idade inferior a 12 meses tiveram o dobro de chances de apresentarem a infecção pelo parasito. Contudo o grupo A representou a faixa etária com maior positividade e maior média de OoPG nas fezes (Tabela 2), o que se assemelha em parte, aos resultados de Garcia & Lima (1994); Díaz de Ramírez et

Tabela 1. Diagnóstico da infecção por *Cryptosporidium* pelas técnicas de Contraste de fase e Ziehl-Neelsen modificado através da presença de oocistos nas fezes de bovinos leiteiros pertencentes à microrregião de Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia, Brasil.

Propriedades	Total de animais	Animais positivos (%)	
		Contraste de Fase	Ziehl-Neelsen
01	11	07 (63,6)	09 (81,8)
02	11	07 (63,7)	09 (81,8)
03	12	03 (25,0)	12 (100)
04	16	03 (18,8)	14 (87,5)
05	10	06 (60,0)	06 (60,0)
06	10	05 (50,0)	09 (90,0)
07	22	09 (40,9)	18 (81,8)
08	10	01 (10,0)	08 (80,0)
09	15	04 (26,7)	14 (93,3)
10	26	06 (23,1)	18 (69,2)
11	13	08 (61,5)	13 (100)
Total	156	59 (37,9)	130 (83,3)

Tabela 2. Distribuição da infecção por oocistos de *Cryptosporidium* nas fezes de bovinos leiteiros, distribuídos em diferentes faixas etárias, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia, Brasil.

Faixa etária	Animais		
	Positivos(%)	Negativos (%)	OoPG valores médios
A	12 (92,3)	1 (7,7)	133,7
B	11 (84,6)	6 (15,4)	26,1
C	32 (84,2)	2 (15,8)	20,0
D	81(88,0)	11(12,0)	16,8
Total	136(87,2)	20 (12,8)	

$p=0,88$

al. (2007), Brook et al. (2008), que verificaram a predisposição à doença relacionada à idade em animais com até 30 dias e também, com os dados observados por Maddox-Hyttel et al. (2006) que constataram a dificuldade de identificar animais adultos assintomáticos por não eliminarem quantidades detectáveis de oocistos nas fezes (Ramirez et al. 2002).

Embora a eliminação de oocistos neste estudo tenha sido baixa, não se deve subestimar o potencial como fonte de contaminação permanente para a região estudada, pelo volume de fezes eliminadas diariamente por estes animais e pelo fato dos oocistos sobreviverem no ambiente por 52 dias (Farizawati et al. 2005) o que representa uma fonte de infecção, inclusive para humanos.

As variáveis relacionadas ao ambiente e manejo como taxa de lotação, condições higiênico-sanitárias, presença de bebedouros, possuir assistência veterinária, tipo de bezerreiros, tipo de aleitamento dos bezerros e quantidade de ordenhas realizadas diariamente dos animais não mostraram ter influência, nas propriedades estudadas, na dinâmica da infecção por *Cryptosporidium*, assim como o sexo dos animais corroborando com Trotz-Williams et al. (2005), Díaz de Ramírez et al. (2007) e Almeida (2006).

Soma-se ao fato que não foi considerada a hipótese dos animais positivos estarem sob efeito de tratamentos sintomáticos com antibióticos e quimioterápicos e por consequência se mostrarem sem manifestações clínicas, pois, segundo os proprietários entrevistados a síndrome diarreica raramente ocorre nestas propriedades o que foi confirmado pela ausência de medicamentos específicos em suas farmácias, o que demonstra que a criptosporidiose nestes animais se manifesta de maneira subclínica.

Quanto à consistência das fezes dos 136 (87,2%) animais positivos para oocistos de *Cryptosporidium*, apenas nove (6,6%) apresentaram fezes diarreicas. Os resultados que mais se aproximaram aos deste estudo foram os de Ederli et al. (2004) que encontraram uma frequência de 8,7% de animais com fezes diarreicas. Nossos resultados diferem dos encontrados por Garcia & Lima (1994), Souza & Lopes (1995), Feitosa et al. (2004), Díaz de Ramírez et al. (2007), Nguyen et al.

(2007), que observaram mais de 40% dos animais com fezes diarréicas, provavelmente em função dos diversos estudos terem utilizados apenas bezerros na determinação de oocistos nas fezes, que consequentemente são mais susceptíveis à infecção com manifestações clínicas mais severas, onde diferentemente dos nossos achados, apenas três animais com idade inferior a 12 meses apresentavam síndrome diarréica.

## CONCLUSÃO

A região de estudo é considerada endêmica, com um grande número de portadores, assintomáticos, independente do tipo de manejo utilizado, tendo nos indivíduos jovens os mais susceptíveis a infecção por *Cryptosporidium*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida A.J.D.S. *Diagnóstico e fatores de risco da criptosporidiose bovina na microrregião de Campos dos Goytacazes-RJ, e identificação de Cryptosporidium parvum através da reação em cadeia da polimerase (PCR)*. Tese de Doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2006. 67p.
- Barco M.D.C., González A.L. & Suárez-Varela M. Consideraciones Epidemiológicas sobre Criptosporidiosis. *Rev. Sanid. High. Pub.*, 65:363-370, 1991.
- Brook E., Hart C.A., French N. & Christley R. Prevalence and risk factors for *Cryptosporidium* spp. infection in young calves. *Vet. Parasitol.*, 152:46-52, 2008.
- Dean A.G. & Arner T. Epi Info: Epidemiology of program office. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>>. Acesso em: 20 Abril 2007.
- Díaz De Ramírez A., Iglesia L.N.R., Luque J.G.M. & Bastidas A.J.B. Infección com *Cryptosporidium* sp. y su asociación con diarrea becerros de ganadería de doble propósito. *Zoot. Trop.*, 25:29-36, 2007.
- Ederli B.B., Carvalho C.B. & Sales L.G. Ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* em bezerros na microrregião de Campos dos Goytacazes no Norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 13:45-48, 2004.
- Fayer R., Trout J.M., Graczyk T.K. & Lewis E.J. Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Eimeria* infections in post-weaned and adult cattle on three Maryland farms. *Vet. Parasitol.*, 93:103-112, 2000.
- Farizawati S., Lim Y.A.L., Ahmad R.A., Fatimah C.T.N.I. & Siti-Nor Y. Contribution of cattle farms towards river contamination with *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in Sungai Langkat Basin. *Trop. Biomed.*, 22:89-98, 2005.
- Feitosa F.L.F., Shimamura G.M., Roberto T., Meireles M.V., Nunes C.M., Ciarlini P.C. & Borges A.S. Prevalência de criptosporidiose em bezerros na região de Araçatuba, Estado de São Paulo, Brasil. *Ci. Rur.*, 34:189-193, 2004.
- Feltus D.C., Giddings C.W., Schneck B., Monson T., Warshauer D. & McEvoy J.M. Evidence Supporting Zoonotic Transmission of *Cryptosporidium* spp. in Wisconsin. *J. Clin. Microbiol.*, 44:4303-4308, 2006.
- Garcia A.M. & Lima J.D. Prevalência de *Cryptosporidium* spp. em rebanhos leiteiros de Pará de Minas (MG) e sua relação com práticas de manejo. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 3:23-28, 1994.
- Graaf D.C., Vanopdenbosch E., Ortega-Mora L.M., Abbassi H. & Peeters J.E. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Int. J. Parasitol.*, 29:1269-1287, 1999.
- Maddox-Hyttel C., Langkjaer R.B., Enemark H.L. & Vigre H. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs-Occurrence and management associated risk factors. *Vet. Parasitol.*, 141:48-59, 2006.
- Olson M.E., O'handley R.M., Ralston B.J., McAllister T.A. & Thompsom R.C.A. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. *Trends Parasitol.*, 20:185-191, 2004.
- Ortolani E.L. & Soares P.C. Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis em becerros de rebaño lecheros. *Parasitol. Latinoam.*, 58:122-127, 2003.
- Quadros R.M. & Araujo F.A.P. Ocorrência de *Cryptosporidium* SP. Tyzzer, 1907 detectada pelo método de imunofluorescência através da técnica de coloração da auramina em bovinos em propriedades rurais do município de Lages (SC), Brasil. *Rev. Cienc. Agrovet.*, 2:68-73, 2003.
- Ramírez A.D., Ramírez-Iglesias L.N., Plaza R.M.G. & Román R. Excreción de oocistos de *Cryptosporidium* spp. durante el posparto, em vacas mestizas de doble propósito. *Rev. Cient.*, 12 (Supl. 2):614-616, 2002.
- Ramirez N.E., Ward L.A. & Sreevatsan S. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microb. Infect.*, 6:773-785, 2004.
- Sampaio I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. Belo Horizonte, 1998. 221p.
- Souza J.C.P. & Lopes C.W.G. Criptosporidiose em bezerros de rebanhos da bacia leiteira Sul-Fluminense, Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 4:33-36, 1995.
- Trotz-Williams L.A., Javier B.D., Martin S.W., Leslie K.E. & Peregrine A.S. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Can. Vet. J.*, 46:349-351, 2005.
- Venturini L., Bacigalupe D., Basso W., Unzaga J.M., Venturini M.C. & Moré G. *Cryptosporidium parvum* em animales domésticos y em monos de um zoológico. *Parasitol. Latinoam.*, 61:90-93, 2006.
- Vergara C. & Quílez J. Criptosporidiosis: una zoonosis parasitaria. *MVZ-Córdoba*, 9:363-372, 2004.
- Xiao L., Fayer R., Ryan U. & Upon S.J. *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. *Clin. Microb. Rev.*, 17:72-97, 2004.