

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO *CRYPTOSPORIDIUM BAILEYI* CURRENT ET ALII, 1986 (APICOMPLEXA:CRYPTOSPORIDIIDAE) EM FRANGOS DE CORTE.

MARCELO VASCONCELOS MEIRELES¹ & PAULO CÉSAR DE FIGUEIREDO²

(1)Departamento de Medicina Veterinária - Faculdade de Odontologia - UNESP - Campus de Araçatuba. Rua José Bonifácio 1193 C.P. 533 16000;

(2)Departamento de Clínica e Cirurgia - Faculdade de Veterinária - UFF. Rua Vital Brazil Filho. 64 - Vital Brazil - Niterói/RJ, 24230.

SUMÁRIO: Oocistos de protozoários do gênero *Cryptosporidium*, isolados de frangos de corte, foram inoculados em pintos de 2 dias de idade, para verificação do curso da infecção, órgãos parasitados, padrão de eliminação dos oocistos e aspectos morfométricos para posterior identificação do parasito. Foram utilizados, para diagnóstico, as técnicas da Safranina-Azul de metileno e Ziehl-Neelsen modificada para esfregaços de fezes e raspados de mucosas, centrífugo-flutuação em solução de Sheather com exame em contraste de fase, além de cortes histológicos. Pela análise dos resultados, pôde-se concluir que o parasito isolado é o *Cryptosporidium baileyi*, sendo que as técnicas mais eficientes para o diagnóstico foram a centrífugo-flutuação em contraste de fase para amostras de fezes e Safranina-Azul de metileno para raspados de mucosas.

PALAVRAS CHAVE: *Cryptosporidium*, isolamento, diagnóstico, identificação, frangos de corte.

INTRODUÇÃO

Infecção por protozoários do gênero *Cryptosporidium* foi descrita em aves, pela primeira vez, por TYZZER (1929), sendo que até 1975, só foi detectada por SLAVIN (1955) em perus com diarreia e mais tarde na bursa de Fabrício de frangos de corte por FLETCHER *et alii* (1975).

Nos últimos 15 anos, foram publicados inúmeros relatos da criptosporidiose aviária, indicando que a infecção respiratória, intestinal e na bursa de Fabrício é comum em aves domésticas, especialmente em frangos de corte (GOODWIN, 1989).

A criptosporidiose já foi diagnosticada em Galliformes, Anseriformes, Passeriformes e Psittaciformes, na Ásia, Austrália, Europa e América do Norte (GOODWIN, 1989). No Brasil, oocistos e formas tissulares do *Cryptosporidium* foram observados em cortes histológicos da bursa de Fabrício por LUVIZOTTO *et alii* (1989) e MEIRELES *et alii* (1990).

A infecção respiratória em aves pode ser causa de doença clínica com ou sem aumento de mortalidade (HOERR *et alii*, 1978; DHILLON *et alii*, 1981; THAM *et alii*, 1982; O'DONOGHUE *et alii*, 1985), sendo atualmente considerada como parte do complexo respiratório das aves (BLAGBURN *et alii*, 1987).

O significado da infecção no intestino e/ou bursa de Fabrício permanece indefinido para a maioria das espécies aviárias, embora o parasitismo intestinal possa ser responsável por doença clínica com mortalidade em codornas (HOERR *et alii*, 1986) e perus (SLAVIN, 1955).

Quanto à taxonomia desse protozoário em relação às aves, somente 2 espécies, *C. baileyi* (CURRENT *et alii*, 1986) e *C. meleagridis* (SLAVIN, 1955), têm sido consideradas.

No Brasil pouco se sabe sobre a presença desse protozoário em aves, tornando-se necessários estudos para determinar sua ocorrência e importância para a indústria avícola nacional.

O presente trabalho teve como objetivos identificar um isolado de *Cryptosporidium* em frangos de corte no Estado do Rio de Janeiro, avaliar a eficiência de algumas técnicas de diagnóstico e o efeito dessas técnicas sobre a morfologia do parasito.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolamento, multiplicação e concentração dos oocistos

Foram utilizados oocistos de *Cryptosporidium* sp., obtidos de fezes de frangos de corte naturalmente infectados, oriundos do Município de Bom Jardim - RJ. As fezes foram coadas em gaze com 8 dobras e submetidas ao método de concentração por centrífugo-flutuação em solução de Sheather (ANDERSON, 1981).

Para concentração do parasito, 3 ml do sobrenadante da solução de Sheather foram removidos, lavados por centrifugação com água destilada, com adição posterior de hipoclorito de sódio a 10% por 20' para esterilização (NACIRI *et alii*, 1989). Após este procedimento, os oocistos foram lavados em solução salina a 0,9% e inoculados, por via oral, em 10 pintos de 2 dias de idade.

De 5 a 12 dias após a inoculação (DAI), as fezes dessas aves foram colhidas, coadas em gaze com 8 dobras e armazenadas em solução de bicromato de potássio a 2,5% a 4°C (CURRENT *et alii*, 1986), sendo posteriormente utilizadas como fonte de oocistos.

Identificação da espécie do gênero *Cryptosporidium* **Aves**

Pintos de corte, oriundos de incubatório comercial e alojados em gaiolas de arame, com fornecimento de ração comercial para poedeiras (sem coccidiostáticos), foram utilizados para os procedimentos experimentais.

Inóculo

O inóculo foi preparado a partir da suspensão de oocistos obtidos através da multiplicação em pintos, sendo submetidos aos mesmos procedimentos de isolamento e concentração descritos anteriormente. O número de oocistos no inóculo foi determinado através de contagem dos mesmos presentes em esfregaço feito com 25 µl da suspensão e corado pelo método da Safranina-Azul de metileno - S-AM (BAXBY *et alii*, 1984), com calibragem posterior da suspensão de modo a conter aproximadamente 1×10^6 oocistos por 0,5 ml.

Inoculação

As aves foram inoculadas com auxílio de uma sonda uretral (Tom cat catheter, Sherwood Medical, USA), com 0,5 ml da suspensão diretamente no ingluvío. Quatro aves não inoculadas serviram como controle.

Períodos pré-patente e patente

Para sua determinação, 3 aves foram alojadas separadamente em gaiolas de arame e inoculadas com 0,5 ml da suspensão, procedendo-se à colheita diária das fezes, com início 2 DAI, até 48 hs após a última detecção dos oocistos.

Detecção do parasito

Centrifugo-flutuação em contraste de fase (CF-CF).

As fezes das aves inoculadas foram concentradas como descrito anteriormente. Com auxílio de uma pipeta Pasteur, 1 gota foi retirada do sobrenadante da solução de Sheather e examinada entre lâmina e lamínula em microscópio com contraste de fase (GARCIA *et alii*, 1983).

Exame dos esfregaços de fezes

Para detecção dos oocistos em esfregaços de fezes, 3 ml do sobrenadante da solução de Sheather foram colhidos e lavados por centrifugação em água destilada, com esfregaços sendo preparados a partir do sedimento e corados pelas técnicas da S-AM e Ziehl-Neelsen modificada - ZN-M (HENRIKSEN & POHLENZ, 1981).

Exame de cortes histológicos e raspados de mucosas.

Os fragmentos de tecido foram fixados em formalina tamponada a 10%, processados de acordo com a rotina e corados com hematoxilina - eosina. Os raspados de mucosa foram corados com as mesmas técnicas dos esfregaços de fezes.

Identificação dos órgãos parasitados

Dezesseis aves foram inoculadas aos 2 dias de idade. Nos dias 3, 4, 5, 7, 9, 11, 15 e 21 após a inoculação, 2 aves foram necropsiadas por vez. A determinação dos órgãos parasitados foi feita através da realização de cortes histológicos e

raspados de mucosa na traquéia, terços distais do duodeno, jejuno, íleo, ceco, reto, cloaca e bursa de Fabricius. As aves controle foram necropsiadas com 6, 12, 18, e 24 dias de idade, sendo utilizados para a detecção do parasito, os mesmos procedimentos das aves inoculadas, além da colheita diária das fezes a partir do 2º dia de vida.

Mensuração dos oocistos

A mensuração dos oocistos foi feita com utilização de uma ocular micrométrica SK-15 WILD e microscópio DIALUX 20EB, através da análise do diâmetro polar (DP), diâmetro equatorial (DE) e índice morfométrico ($IM = DP/DE$) das amostras submetidas aos métodos de coloração e daquelas examinadas em contraste de fase, com 50 oocistos examinados para cada método.

Análise estatística

Os dados morfométricos dos oocistos foram analisados através da correlação linear, análise de variância, regressão linear e teste de Tukey.

RESULTADOS

Detecção do parasito nas fezes

Centrifugo-flutuação em contraste de fase

Em contraste de fase, os oocistos apareceram como estruturas brilhantes contra um fundo escuro, esféricas a ovais, às vezes com alguns pontos escuros em seu interior (Fig. 1). Os oocistos tiveram DP de $6,0 \pm 0,48 \mu m$ e DE de $4,6 \pm 0,4 \mu m$, com IM de $1,31 \pm 0,15$.

Técnica de Ziehl-Neelsen modificada

Por esta técnica os oocistos foram observados como estruturas esféricas e ovais, com coloração variando de rosa a vermelho e com aparência granulosa, devido à coloração dos esporozoítos, contrastando contra um fundo verde. Esses oocistos tiveram DP de $5,45 \pm 0,41 \mu m$ e DE de $4,23 \pm 0,26 \mu m$, com IM de $1,30 \pm 0,12$.

Técnica da Safranina-Azul de metileno

Nesta técnica os oocistos caracterizaram-se como estruturas esféricas a ovais, de cor alaranjada, contra um fundo azul. Como na técnica de ZN-M, apresentaram aspecto granuloso provocado pela coloração dos esporozoítos (Fig. 2). Os oocistos apresentaram DP de $5,3 \pm 0,38 \mu m$ e DE de $4,13 \pm 0,27 \mu m$, com IM de $1,28 \pm 0,11$.

Raspados de mucosas

Nas técnicas de coloração utilizadas para os raspados de mucosas, os oocistos apresentaram morfologia e coloração semelhantes àquelas presentes nos esfregaços de fezes. (Fig. 3).

Cortes histológicos

Os estágios endógenos do *Cryptosporidium* apareceram como pequenos corpos arredondados, levemente basofílicos, aderidos à superfície das células epiteliais ou soltos na luz dos órgãos, devido ao processamento (Fig. 4).

Identificação do *Cryptosporidium*

Períodos pré-patente e patente

Os oocistos estavam presentes nas fezes 3 DAI. Nas aves infectadas observou-se um pico de eliminação entre 9 a 11 DAI, com decréscimo progressivo até 30 DAI, após o que,

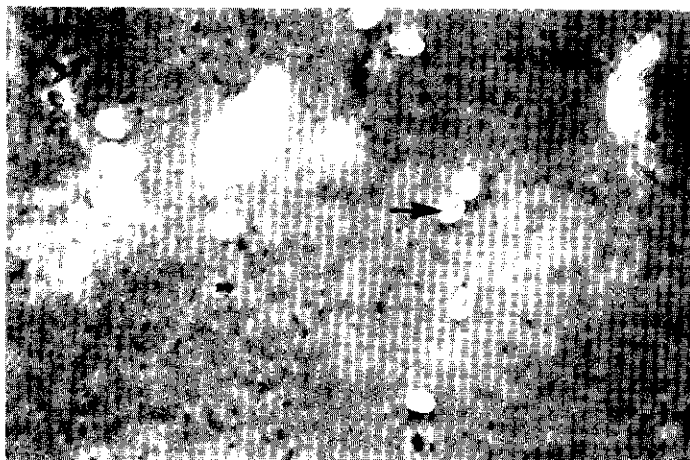


Figura 1 - Oocistos do *Cryptosporidium baileyi* (→) nas fezes de frangos de corte infectados experimentalmente. Centrifugo-flutuação em contraste de fase, 400X.

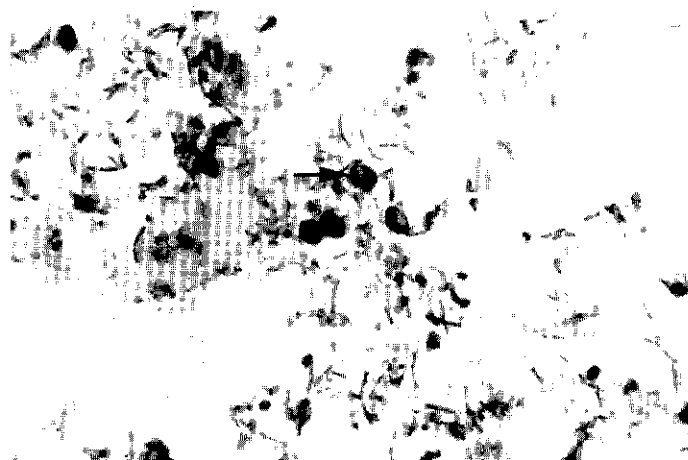


Figura 2 - Oocistos do *Cryptosporidium baileyi* (→) em esfregaços de fezes de frangos de corte infectados experimentalmente. Safranina-Azul de metileno, 1000X.

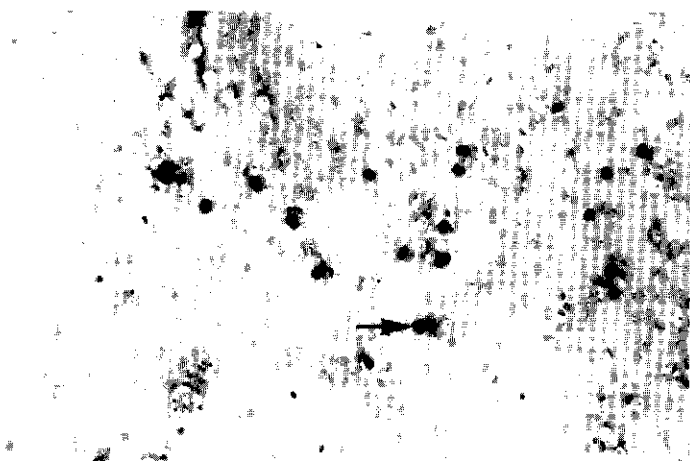


Figura 3 - Oocistos do *Cryptosporidium baileyi* (→) em raspados da mucosa da bursa de Fabricius de frangos de corte infectados experimentalmente. Ziehl-Neelsen modificada, 200X.

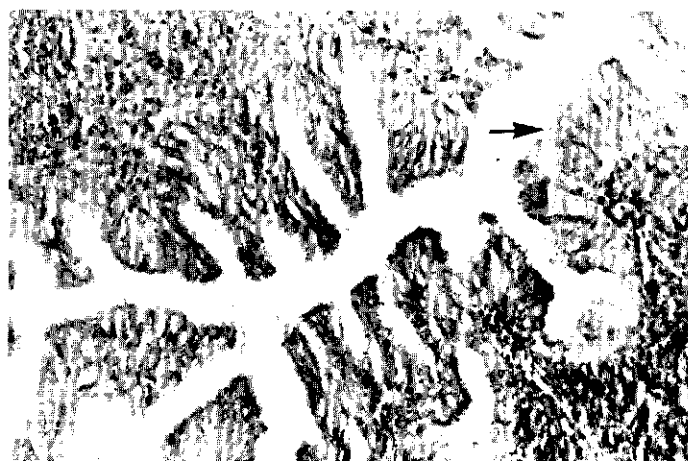
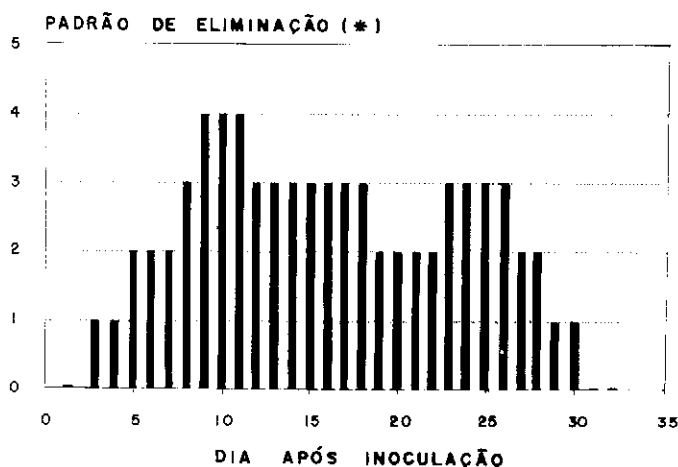


Figura 4 - *Cryptosporidium baileyi* (→) em corte histológico da bursa de Fabricius de frangos de corte infectados experimentalmente, H&E, 400X.



(1+) 1 a 10 oocistos por lâmina; (2+) 1 a 5 oocistos por campo em aumento de 256X; (3+) 6 a 20 oocistos por campo em aumento de 256X; (4+) Mais de 20 oocistos por campo em aumento de 256X.

* Utilização da centrifugo-flutuação em contraste de fase

Figura 5 - Padrão de eliminação média de oocistos do *Cryptosporidium baileyi* nas fezes de frango de corte infectados experimentalmente.

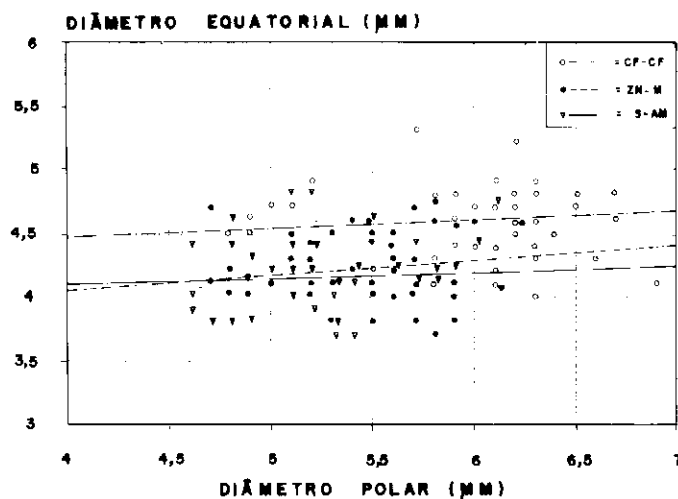


Figura 6 - Regressão linear dos diâmetros polar e equatorial de oocistos do *Cryptosporidium baileyi* isolados de frangos de corte, nas técnicas da Safranina-Azul de metileno (S-AM), Ziehl-Neelsen modificada (ZN-M) e Centrifugo-flutuação em contraste de fase (CF-CF).

TABELA 1 - Intensidade de parasitismo* pelo *Cryptosporidium baileyi* em raspados de mucosa feitos em diferentes órgãos, em frangos de corte infectados experimentalmente, de acordo com a evolução da infecção.

DAI	AVE	Tra- quéia	Duo- deno	Jeju- no	Íleo	Ceco	Reto	Bursa	Cloaca
3	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-
4	3	-	-	-	-	1+	2+	1+	-
	4	-	-	-	-	1+	1+	-	-
5	5	-	-	-	-	2+	1+	2+	1+
	6	-	-	-	-	2+	1+	2+	1+
7	7	-	-	-	-	1+	1+	4+	2+
	8	-	-	-	1+	1+	2+	4+	1+
9	9	-	-	-	-	2+	2+	4+	3+
	10	-	-	-	-	2+	2+	4+	3+
11	11	1+	-	-	-	2+	2+	4+	3+
	12	1+	-	-	1+	2+	2+	4+	3+
15	13	-	-	-	-	1+	1+	4+	3+
	14	-	-	-	-	1+	1+	4+	4+
21	15	-	-	-	-	-	-	3+	3+
	16	-	-	-	-	-	-	3+	3+

*(-) Infecção ausente;

(1+) 1 a 10 oocistos por lâmina;

(2+) 1 a 5 oocistos por campo em aumento de 200X;

(3+) 6 a 20 oocistos por campo em aumento de 200X;

(4+) mais de 20 oocistos por campo em aumento de 200X.

não foram mais encontrados nas fezes (Fig. 5). As fezes, raspados de mucosas e cortes histológicos das aves controle foram negativos para a presença do *Cryptosporidium*.

Órgãos Parasitados

O *Cryptosporidium* foi observado na traquéia, íleo, ceco, reto, bursa de Fabricius e cloaca, com infecções variando de poucos estágios endógenos presentes a infecções severas (Tabelas 1 e 2).

Aspectos morfométricos

A análise estatística, através de correlação linear, mostrou que a correlação entre os DP e DE dos oocistos, na CF-CF ($r = 0,08$), técnica da S-AM ($r = 0,06$) e ZN-M ($r = 0,17$) não foi significativa. Foi observada distorção na morfologia dos

TABELA 2 - Distribuição histológica e intensidade de parasitismo* pelo *Cryptosporidium baileyi*, em frangos infectados experimentalmente, de acordo com a evolução da infecção.

DAI	AVE	Tra- quéia	Duo- deno	Jeju- no	Íleo	Ceco	Reto	Bursa	Cloaca
3	1	-	-	-	-	1+	-	1+	-
	2	-	-	-	-	1+	-	2+	1+
4	3	-	-	-	-	1+	1+	2+	1+
	4	-	-	-	-	-	-	2+	2+
5	5	-	-	-	-	-	2+	4+	3+
	6	-	-	-	-	1+	1+	4+	3+
7	7	-	-	-	1+	-	2+	4+	3+
	8	-	-	-	2+	1+	2+	4+	3+
9	9	-	-	-	-	1+	2+	4+	1+
	10	-	-	-	1+	-	2+	4+	2+
11	11	-	-	-	1+	1+	2+	4+	4+
	12	-	-	-	-	-	2+	4+	3+
15	13	-	-	-	-	1+	1+	4+	2+
	14	-	-	-	-	-	-	4+	4+
21	15	3+	-	-	-	-	-	3+	1+
	16	-	-	-	-	-	-	3+	2+

*(-) Infecção ausente

(1+) Infecção rara;

(2+) Infecção leve;

(3+) Infecção moderada

(4+) Infecção intensa.

oocistos na técnica da S-AM e ZN-M, com conseqüente alteração dos dados morfométricos. Já na CF-CF, os oocistos, quando examinados pouco tempo após a preparação da lâmina, tiveram pouca ou nenhuma alteração na sua morfologia (Tabela 3). As retas de regressão linear ilustram essas modificações estruturais entre as diferentes técnicas (Fig. 6).

DISCUSSÃO

O *Cryptosporidium* é considerado, atualmente, um agente que assume importância crescente dentro da indústria avícola. Dados atuais sugerem que a criptosporidiose é uma enfermidade comum entre as aves domésticas (GOODWIN,

TABELA 3 - Dados morfométricos¹ de oocistos do *Cryptosporidium baileyi*, isolados de frangos de corte, em diferentes técnicas de diagnósticos.

Técnica	Valores ²	
	Diâmetro Polar(µm)	Diâmetro Equatorial(µm)
Centrífugo-Flutuação em contraste de fase	6,00 ± 0,48 _a	4,60 ± 0,34 _a
Ziehl-Neelsen modificada	5,45 ± 0,41 _{bc}	4,23 ± 0,27 _b
Safranina-Azul de metileno	5,29 ± 0,38 _c	4,13 ± 0,27 _c

¹ Os dados são referentes à medidas de 50 oocistos para cada técnica, com os valores sendo expressos em $\bar{X} \pm S(\bar{X})$

² Valores com letras diferentes diferem significativamente ao nível de 1% pelo teste de Tukey.

1989), sendo que na maioria das vezes a infecção passa despercebida, provavelmente pelo fato de que nos laboratórios de Ornitopatologia comumente não são utilizadas técnicas de diagnóstico apropriadas para esse parasito. Além disso, não está incluído entre os agentes reconhecidamente patogênicos para as aves.

Neste experimento, todas as técnicas utilizadas para o diagnóstico foram eficientes. A utilização da CF-CF mostrou ser o método mais rápido e eficiente para a detecção de oocistos nas fezes, concordando com os achados de WILSON & ACRES (1982). Já GARCIA *et alii* (1983) citam que métodos de coloração permanente são os mais efetivos.

As duas técnicas de coloração mostraram ser eficientes em esfregaços de fezes, conforme demonstrado por HENRIKSEN & POHLENZ (1981). A utilização dessas técnicas em raspados de mucosa mostrou que as mesmas são um meio rápido e simples de diagnóstico. A técnica de ZN-M já havia sido utilizada por HENRIKSEN & POHLENZ (1981), não havendo relatos da aplicação da técnica da S-AM em raspados de mucosas.

Segundo BAXBY *et alii* (1984), a técnica da S-AM é mais simples e rápida que a de ZN-M, que apesar de um bom contraste, é longa e apresenta uma etapa crítica de descoloração. Essas mesmas desvantagens da técnica de ZN-M também foram observadas no presente trabalho.

Alterações na morfologia dos oocistos, provocadas pelos métodos de coloração, foram analisadas por BOMMIM (1989) em oocistos provenientes de suínos, havendo concordância com os resultados do presente experimento, onde se verificou uma maior alteração ocasionada pelos 2 métodos de coloração e pouca, ou nenhuma, pela CF-CF. Essas alterações devem ser consideradas durante a classificação do *Cryptosporidium* com base em dados morfométricos de oocistos submetidos a métodos de coloração.

Na maioria das aves houve coincidência entre os resultados dos cortes histológicos e dos raspados de mucosas. Algumas diferenças observadas podem ser devido à colheita de

fragmentos em locais não parasitados (GARCIA *et alii*, 1983), ou mesmo raspados de mucosa feitos em sítios não colonizados pelo parasito.

A localização do *Cryptosporidium*, no presente trabalho, apresenta algumas diferenças em relação a outros relatos. Na maioria dos casos de infecções naturais, o parasito foi encontrado principalmente na traquéia, bursa de Fabrício, cloaca, em menor grau no ceco e reto e raramente no intestino delgado (GOODWIN, 1989).

Infecções experimentais com oocistos isolados de frangos de corte, por via oral, geralmente resultaram em infecção na bursa de Fabrício, cloaca e também em menor grau no ceco, reto e traquéia (GOODWIN, 1989).

A maior concentração do parasito, neste experimento, foi observada na bursa de Fabrício e cloaca, dado que está de acordo com a distribuição tecidual observada por CURRENT *et alii* (1986) para o *C. baileyi*.

O *C. meleagridis* parasita somente o terço distal do intestino delgado de perus (SLAVIN, 1955) e embora o mesmo possa infectar frangos (LINDSAY *et alii*, 1989), não existem estudos sobre a distribuição tecidual nessa espécie.

O período pré-patente e o pico de eliminação dos oocistos nas fezes foram semelhantes aos encontrados por CURRENT *et alii* (1986) e LINDSAY *et alii* (1988) para o *C. baileyi*, o mesmo não ocorrendo com o período patente, que foi mais prolongado.

Os dados morfométricos dos oocistos analisados em CF-CF aproximaram-se mais dos descritos para oocistos de *C. baileyi* por CURRENT *et alii* (1986) e LINDSAY *et alii* (1989), do que daqueles descritos para oocistos do *C. meleagridis* por LINDSAY *et alii* (1989) que são menores e mais esféricos.

SUMMARY

Cryptosporidium oocysts of a broiler isolate were used to inoculate two day-old chickens to determine the course of the infection, tissue specificity, pattern of shedding and morphometric data of oocysts, for posterior identification of the parasite. Four techniques were used as modified Ziehl-Neelsen and Safranin-Methylene blue techniques for faecal smears and mucosal scrapings. Furthermore concentrated preparations from faecal flotation in Sheather sugar solution were observed in phase contrast microscopy, besides examination of histologic sections. Analysis of studied characteristics showed that the isolated parasite was *C. baileyi*. The best visualization of the parasite oocysts was provided by mucosal scrapings stained with Safranin-Methylene blue technique and faecal-flotation preparations observed in phase contrast microscopy.

KEY WORDS: *Cryptosporidium*, diagnostic, identification, broiler.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, B.C. (1981) Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 178: 892-894.
- BAXBY, D.; BLUNDELL, N.; HART, C.A. (1984) The development and performance of a simple, sensitive method

- for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. *J. Hyg.*, 92: 317-323.
- BLAGBURN, B.L.; LINDSAY, D.S.; GIAMBRONE, J.J.; SUNDERMANN, C.A.; HOERR, F.J. (1987) Experimental cryptosporidiosis in broiler chickens. *Poultry Sci.*, 66: 442-449.
- BOMFIM, T.C.B. (1989) *Cryptosporidium muris*, Tyzzer 1907 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) em suínos: identificação, diagnóstico e alguns aspectos epidemiológicos. Tese de mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí-RJ., 113 p.
- CURRENT, W.L.; UPTON, S.J.; HAYNES, T.B. (1986) The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. *J. Protozool.*, 33: 289-296.
- DHILLON, A.S.; THACKER, H.I.; DIETZEL, A.V.; WINTERFIELD, R.D. (1981) Respiratory cryptosporidiosis in broiler chickens. *Avian Dis.*, 25: 747-751.
- FLETCHER, O.J.; MUNNEL, J.F.; PAGE, R.K. (1975) Cryptosporidiosis of the bursa of Fabricius of chickens. *Avian Dis.*, 19: 630-639.
- GARCIA, L.S.; BRUCKNER, D.A.; BREWER, T.C.; SHIMIZU, R.Y. (1983) Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 18: 185-190.
- GOODWIN, M.A. (1989) Cryptosporidiosis in birds: a review. *Avian Pathol.*, 18: 365-384.
- HENRIKSEN, S.A.; POHLENZ, J.F.L. (1981) Staining of cryptosporidia by modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet. Scand.*, 22: 594-596.
- HOERR, F.J.; RANCK, F.M.; HASTINGS, T.F. (1978) Respiratory cryptosporidiosis in turkeys. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 173: 1591-1593.
- HOERR, F.J.; CURRENT, W.L.; HAYNES, T.B. (1986) Fatal cryptosporidiosis in a quail. *Avian Dis.*, 30: 421-425.
- LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; SUNDERMANN, C.A. (1989) Morphometric comparison of the oocysts of *Cryptosporidium baileyi* from birds. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 56: 91-92.
- LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; SUNDERMANN, C.A.; GIAMBRONE, J.J. (1988) Effect of broiler chicken age on susceptibility to experimentally induced *Cryptosporidium baileyi* infection. *Am. J. Vet. Res.*, 49: 1412-1414.
- LUVIZOTTO, M.C.R.; MEIRELES, M.V.; ANDREATTI F^o., R.L.; BORETTI, L.P. (1989) Lesões histopatológicas na bursa de Fabricius de frangos de corte determinadas por *Cryptosporidium* spp. In: JORNADA CIENTÍFICA DA ASSOCIAÇÃO DOS DOCENTES DO CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP, 1989, Botucatu. *Anais. Botucatu* p. 120.
- MEIRELES, M.V.; RODRIGUES, R.L.; CARVALHO, E.C.Q. (1990) Criptosporidiose em frangos de corte no município de Bom Jardim, RJ. In: CONGRESSO FLUMINENSE DE MEDICINA VETERINÁRIA, 6, Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 12: 41-42.
- NACIRI, M.; MAZZELLA, O.; COUDERT, F. (1989) Interactions cryptosporidies-virus sauvage ou vaccinal de la maladie de Marek chez le poulet. *Rec. Méd. Vét.*, 165: 383-387.
- O'DONOGHUE, P.J. (1985) *Cryptosporidium* infection in man, animals, birds, and fish. *Aust. Vet. J.*, 62: 253-258.
- SLAVIN, D. (1955) *Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.) *J. Comp. Pathol.*, 65: 262-266.
- THAM, V.L.; KNIESBERG, S.; DIXON, B.R. (1982) Cryptosporidiosis in quails. *Avian Pathol.*, 11: 619-626.
- TYZZER, E.E. (1929) Coccidiosis in gallinaceous birds. *Am. J. Hyg.*, 10: 269-383.
- WILSON, D.W.; ACRES, S.D. (1982) A comparison of dichromate solution flotation and fecal smears for diagnosis of cryptosporidiosis in calves. *Can. Vet. J.*, 23: 240-246.

(Received October 15, 1992)