

TRANSMISSÃO EXPERIMENTAL DE *Cryptosporidium baileyi* (APICOMPLEXA: CRYPTOSPORIDIIDAE) ISOLADO DE FRANGO DE CORTE À CODORNA JAPONESA (*Coturnix japonica*)*

SERGIAN V. CARDOZO¹; WALTER L. TEIXEIRA FILHO²; CARLOS WILSON G. LOPES²

ABSTRACT: - CARDOZO, S.V.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; LOPES, C.W.G. [Experimental transmission of *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) isolated of broiler chicken to Japanese quail (*Coturnix japonica*)]. Transmissão experimental de *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) isolado de frango de corte à codorna japonesa. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14, n. 3, p. 119-124, 2005. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Parasitologia Animal, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ, Brazil, 23890-000. E-mail: lopesw@ufrj.br

In this work, oocysts of *Cryptosporidium baileyi* were isolated and identified in broiler chickens from three different Municipalities of the State of Rio de Janeiro, where they were isolated and identified by using the centrifuge-flotation technique associated to bright-field. Staining techniques, such as: modified Ziehl-Neelsen and safranin-methylene blue, were carried out to confirm natural infection. Oocysts of *C. baileyi* from broiler chickens were able to infect *Coccidia*-free Japanese quails, by observation of endogenous stages at histological sections, and the elimination of oocysts in the feces with prepatent period of seven days and patent period of 21 days after infection. Oocysts of *C. baileyi* from broiler chickens and Japanese quails were similar on bright-field microscopy. With respect to the staining techniques used in this research, all of them left to significant changes in length and width of oocysts, but shape indexes were maintained. Bright-field microscopy was the best technique for oocysts comparison shed by broiler chickens and Japanese quail because of no different among oocysts were observed.

KEYWORDS: Cryptosporidiosis, oocysts comparison, broiler chickens, Japanese quails.

RESUMO

Neste trabalho, oocistos de *Cryptosporidium baileyi* obtidos de fezes de frangos de corte procedentes de três municípios do estado do Rio de Janeiro, foram isolados e identificados com o uso da técnica de centrifugo-flutuação em campo brilhante. Técnicas de coloração como a de Ziehl-Neelsen modificada e a de safranina-azul de metileno foram utilizadas para confirmar a infecção natural. Oocistos de *C. baileyi* dos frangos de corte foram capazes de infectar codornas japonesas livres de coccídios observando-se as fases endógenas do parasito em cortes

histológicos e pela eliminação de oocistos nas fezes. Os períodos pré-patente e patente para *C. baileyi* em codornas japonesas foram de sete dias e de 21 dias respectivamente. Os oocistos eliminados pelos frangos de corte e pelas codornas japonesas foram semelhantes ao microscópio óptico em campo brilhante. Com respeito às técnicas de diagnóstico utilizadas neste trabalho, todas modificaram os diâmetros maior e menor dos oocistos significativamente, mas os índices morfométricos permaneceram semelhantes. A técnica de solução saturada em campo brilhante para a comparação dos oocistos eliminados pelos frangos e pelas codornas japonesas não teve diferença significativa o que a torna uma técnica melhor para ser utilizada na comparação de oocistos.

PALAVRAS-CHAVE: Criptosporidiose, comparação de oocistos, frangos de corte, codornas japonesas.

INTRODUÇÃO

Infecções por espécies do gênero *Cryptosporidium* têm sido relatadas em mais de 30 espécies de aves (FAYER et al.,

* Sob os auspícios do CNPq

¹ Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Bolsista-CNPq. E-mail: sergian@ufrj.br

² Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Parasitologia Animal, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000. E-mails: leira@ufrj.br, lopesw@ufrj.br

1997; SRÉTER; VARGA, 2000) após sua primeira descrição em 1929 por Tyzzer *apud* Sréter e Varga (2000). Porém, apenas três espécies são consideradas como válidas, *C. baileyi* (CURRENT et al., 1986), *C. meleagridis* (SLAVIN, 1955) e mais recente *C. galli* por Ryan et al. (2003). Estas espécies foram validadas com base em diferenças morfológicas nos oocistos e esporocistos (LINDSAY et al., 1989) e em diferenças moleculares (XIAO et al., 1999; MORGAN et al., 2000, 2001).

A coccidiose causada por espécies do gênero *Cryptosporidium* é caracterizada como problema emergente para a indústria avícola mundial (DILLINGHAM et al., 2002), sendo relatada em aves pertencentes à ordem dos Anseriformes, Charadriiformes, Columbiformes, Galliformes, Passeriformes, Psittaciformes, e Estrutiniiformes. Atualmente as espécies desse gênero são consideradas não somente como agentes etiológicos de doença do trato digestivo, mas fazendo parte também do complexo respiratório das aves como entidade primária ou secundária a outras etiologias (SRÉTER; VARGA, 2000). A criptosporidiose gastrointestinal nas aves ainda pode atingir glândulas salivares e esofágicas, tendo sido assinalada em perus, codornas, pombos, gaivotas, e aves domésticas (LINDSAY; BLAGBURN, 1990; FAYER et al., 1997).

No Brasil, pouco se sabe sobre a presença desse protozoário em aves, a não ser em *Gallus gallus domesticus* (MEIRELES; FIGUEIREDO, 1992) e em *Strutio camelus* (FAGUNDES et al., 2004) tornando-se necessários estudos para determinar sua ocorrência e importância em aves exóticas com potencial para a indústria avícola.

O presente trabalho teve como objetivos: isolar e identificar espécies do gênero *Cryptosporidium* em frangos de corte (*G. g. domesticus*); observar o efeito de técnicas de diagnóstico sobre a morfometria dos oocistos de *Cryptosporidium* procedentes de fezes das aves estudadas; e verificar a transmissão experimental de *C. baileyi* procedente de frangos de corte à codorna japonesa (*Coturnix japonica*).

MATERIALE MÉTODOS

Obtenção e identificação: Oocistos de *C. baileyi* foram obtidos das fezes de 99 frangos de corte da raça Cobe, naturalmente infectados, procedentes de três municípios do Estado do Rio de Janeiro. Destes, 35 de Magé, 34 de Seropédica e 30 do Rio de Janeiro, subprefeitura de Campo Grande. Todas as amostras foram divididas em dois frascos, um deles contendo dicromato de potássio a 2,5% para armazenamento e posterior preparação do inóculo, e outro contendo formalina a 10% para realização dos procedimentos de colorações e identificação dos oocistos.

As amostras foram acondicionadas em formalina a 10%, diluídas em PBS pH 7.2, filtradas em tamis de plástico e gaze dobrada em quatro, e submetidas às técnicas de centrifugo-flutuação de "Sheather" em solução saturada de açúcar (ANDERSON, 1981) - campo brilhante (CF-CB) e centrifugo-sedimentação formaldeído-éter (RICHTIE, 1948). Esfregaços em duplicata do sedimento foram feitos utilizando o material obtido pela técnica de Richtie (1948) e corados pelas técnicas

de safranina-azul de metileno (S-AM) (BAXBY et al., 1984) e Zihel-Neelsen modificada (ZN-M) (HENRIKSEN; POLENZ, 1981), ambas com algumas adaptações.

Preparação e quantificação do inóculo: O inóculo foi preparado a partir das amostras positivas armazenadas em dicromato de potássio a 2,5%. O material foi homogeneizado em água destilada, filtrado em tamis e gaze dobrada quatro vezes e centrifugado a 250g por 10 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi desprezado, e o sedimento foi acrescido de água destilada, e novamente centrifugado à mesma velocidade e tempo. Este procedimento foi realizado até que todo o dicromato fosse retirado, sendo repetido em média cinco vezes.

Ao sedimento foi adicionada solução saturada de açúcar (1,28g/ml), devidamente homogeneizado, e submetido à centrifugação a 250g por 5 minutos. O sobrenadante foi recolhido, diluído em água destilada (1:9) e centrifugado como anteriormente citado, concentrando os oocistos apenas no sedimento. Este sedimento foi diluído em 40 ml de água destilada para obtenção do inóculo.

O número de oocistos no inóculo foi determinado através da contagem dos oocistos presentes em 20µl da solução concentrada, de forma que este contivesse aproximadamente 140 oocistos/ml.

Origem das codornas: As codornas japonesas (*C. japonica*), foram procedentes de uma criação situada na localidade de São Miguel, Município de Seropédica no Estado do Rio de Janeiro. As aves após o nascimento foram alojadas em caixas de polietileno e devidamente aquecidas com lâmpadas incandescentes. O fornecimento de ração balanceada para poedeiras e água foi dado *ad libitum*.

Protocolo experimental: Um total de 16 aves, divididas em dois grupos de oito animais, foi examinado quanto à presença de coccídios diariamente até o término do experimento. Os animais passaram por um período de adaptação de cinco dias, sendo oito aves inoculadas aos seis dias de idade, e oito mantidas como controle. Nos dias dois, cinco, sete e 21 após a infecção (DAI), quatro aves, duas infectadas e duas controle, foram eutanasiadas conforme Conselho Federal de Medicina Veterinária (2002) e necropsiadas.

Inoculação: As aves foram inoculadas, com o auxílio de uma pipeta plástica tipo "Eppendorf" (com capacidade para 1,25 ml) com 1 ml da solução concentrada contendo aproximadamente 140 oocistos de *C. baileyi*, diretamente no inglúvio.

Períodos pré-patente e patente: Para determinação desses períodos foram coletadas diariamente e coletivamente as fezes dos oito animais infectados e processadas quanto à presença de coccídios. Este acompanhamento foi feito a partir do primeiro até o último dia do experimento.

Centrifugo-flutuação - campo brilhante (CF-CB): As fezes das aves inoculadas foram processadas pela técnica de centrifugo-sedimentação formaldeído-éter (Richtie, 1948), e ao sedimento foi adicionada solução saturada de açúcar, sendo a suspensão devidamente homogeneizada e em seguida centrifugada a 250g por 10 minutos. Após a centrifugação, o volume foi completado com a solução saturada até formar um

menisco, sobre o qual uma lamínula foi colocada. Após 15 minutos, efetuou-se a retirada desta lamínula, colocando-a sobre uma lâmina, para ser observada ao microscópio em campo brilhante.

Contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG): O conteúdo de 1g de fezes foi acrescido de 100 ml de água destilada, homogeneizado e passado em tamis com gaze dobrada quatro vezes, a seguir nova homogeneização foi feita e desta foram retirados 10 ml da suspensão água-fezes, que foram submetidos à centrifugação a 250g por 5 minutos. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento acrescido de solução saturada de açúcar, centrifugando-se novamente a mesma velocidade e tempo. O tubo foi completado com a mesma solução até formar um menisco, sobre o qual foi colocada uma lamínula. Após 15 minutos esta foi retirada colocada sobre lâmina para que fosse realizada a contagem dos oocistos.

As lâminas foram examinadas em toda sua extensão, onde todos os oocistos observados foram contados. O total de oocistos foi convertido ao volume total de 1g anteriormente diluído multiplicando-se por 10 para obtenção do número real de oocistos por grama de fezes.

Histologia: Para o estudo histológico foram utilizados fragmentos de tecidos obtidos do reto, cloaca, bursa de Fabricius, tonsilas cecais e traquéia. Estes foram fixados em formalina a 10% tamponada, processados conforme a rotina e corados pelo PAS (BEHMER et al., 1976).

Mensuração dos oocistos e fotomicrografia: A mensuração dos oocistos presentes nas fezes foi feita com utilização de uma lente ocular micrométrica K-15X-PZO (Polônia) acoplada ao microscópio binocular Carl Zeiss (RFA) em objetiva de imersão (100X), onde se obtiveram as medidas dos diâmetros maior (DM) e menor (dm) em μm , e o índice morfométrico (IM) de 100 oocistos, pelas técnicas CF-CB, ZN-M e S-AM.

Os oocistos e estádios endógenos do *C. baileyi* foram fotografados com o auxílio de um microscópio triocular JENAPOL (Zeiss Jena, antiga RDA) acoplado com câmera fotográfica modelo f-KAS Automatic-2 e filmes Kodacolor ISO 100 (Kodak, México) ou câmera digital Sony® Mavica modelo MVC-CD250 (Japão).

Análise estatística: As médias dos oocistos foram comparadas, utilizando-se os testes de "t" de Student e t de Tukey. (SAMPAIO, 2002)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diagnóstico do parasito no material fecal dos frangos de corte: Foram encontrados apenas oocistos de *C. baileyi*, pelas técnicas utilizadas, nos três diferentes municípios estudados. A utilização da CF-CB foi o método mais rápido e eficiente para a detecção de oocistos nas fezes, concordando com os achados de Wilson e Acres (1982) e Miranda et al. (1997). Apesar de Garcia et al. (1983) afirmarem ser os métodos de coloração permanente os mais efetivos.

Os resultados obtidos neste estudo, pela técnica de CF-CB, mostraram os oocistos como estruturas ligeiramente róseas

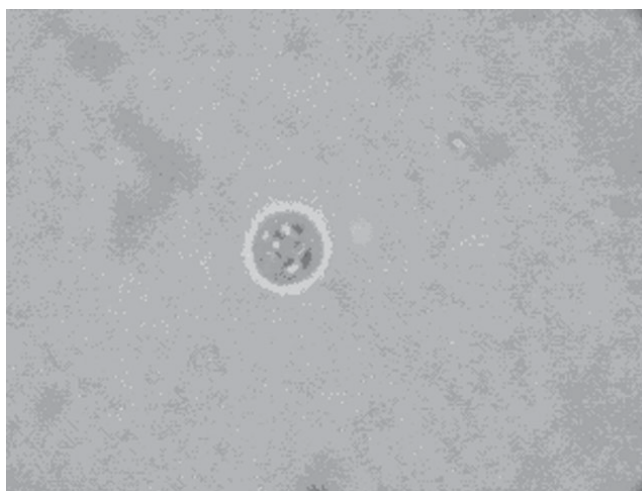


Figura 1. Oocistos de *Cryptosporidium baileyi* oriundos das fezes de frangos de corte naturalmente infectados. Centrifugo-flutuação em solução saturada de açúcar em campo brilhante. 1200X.

e brilhantes, sub-esféricas a oval, contra um fundo translúcido, às vezes com alguns pontos escuros em seu interior (Figura 1), concordando com os dados obtidos por Current e Garcia (1991). Nesta técnica os oocistos de *C. baileyi* tiveram DM de $5,72 \pm 0,46$ e dm de $4,65 \pm 0,48 \mu\text{m}$, com IM de $1,23 \pm 0,96$. Os resultados encontrados neste experimento são semelhantes aos observados por Fayer et al. (2000).

Sréter et al. (2000) mostraram que os oocistos de *C. baileyi* e *C. meleagridis* podiam ser claramente distinguidos com base nas suas características morfométricas, utilizando também a técnica de centrifugo-flutuação. Também através de dados morfométricos, Ryan et al. (2003) relataram que *C. baileyi*, *C. meleagridis* e *C. galli* foram estatisticamente diferentes ($P < 0,05$), redescrivendo assim, *C. galli* como uma espécie morfológicamente distinta das outras descritas para aves, pois seus oocistos mediram $8,3 \times 6,3 \text{ mm}$, enquanto os de *C. baileyi* mediram $6,2 \times 4,6 \text{ mm}$, e os de *C. meleagridis* mediram $5,2 \times 4,6 \text{ mm}$.

Quanto aos oocistos corados pela técnica de ZN-M, estes se apresentaram como estruturas sub-esféricas a oval, com coloração variando de rosa a vermelho e com aparência granulosa, devido à coloração dos esporozoítos, contrastando com fundo verde, concordando com os resultados encontrados por Arrowood (1997). Estes oocistos tiveram DM de $7,33 \pm 0,95 \text{ mm}$ e dm de $6,74 \pm 0,90 \text{ mm}$, com IM de $1,09 \pm 0,07$.

Pela técnica de S-AM, os oocistos também se caracterizaram como estruturas subesféricas a oval, de cor alaranjada, contra um fundo azul. Como na técnica de ZN-M, apresentaram aspecto granuloso causado pela coloração dos esporozoítos. Os oocistos apresentaram DM de $6,54 \pm 0,54 \text{ mm}$ e dm de $6,04 \pm 0,50 \text{ mm}$, com IM de $1,08 \pm 0,06$.

Comparação das técnicas utilizadas na identificação dos oocistos nas fezes. Neste trabalho, observou-se que a visualização pela técnica de CF-CB foi melhor quando comparada às técnicas de coloração utilizadas. Segundo Sterling e Arrowood (1993) a técnica de centrifugo-flutuação é mais sen-

Tabela 1. Medidas dos oocistos de *Cryptosporidium baileyi* obtidas no presente estudo por centrífugo-flutuação campo brilhante e por outros autores.

Hospedeiro	Diâmetros (µm)		Índice morfométrico	Autores
	Maior	Menor		
<i>Gallus gallus</i>	6,2	4,6	1,4	Current et al., 1986
<i>G. gallus</i>	6,2	4,6	-	Fayer et al., 2000
<i>G. gallus</i>	6,4	4,8	1,3	Sréter et al., 2000
<i>G. gallus</i>	6,0±0,48	4,6±0,40	1,31±0,15	Meireles; Figueiredo, 1992
<i>G. gallus</i>	5,72±0,46	4,65±0,48	1,23±0,96	Presente trabalho
<i>Coturnix japonica</i>	5,49±0,46	4,48±0,58	1,25±0,19	Presente trabalho

sível, quando comparada com os métodos de coloração, por aumentarem as chances de se encontrar oocistos, principalmente em animais assintomáticos, nos quais a quantidade de oocistos eliminados nas fezes é bem menor quando comparadas aos animais sintomáticos. Resultados semelhantes foram observados por Bomfim e Lopes (1998) em ratasanas para *C. muris*.

As medidas dos oocistos de *C. baileyi* de frangos de corte obtidas pela técnica de CF-CB, quando comparadas com as mensurações obtidas por outros autores (Tabela 1) para a mesma espécie hospedeira, guardaram semelhanças morfológicas entre si. As mensurações obtidas por Meireles e Figueiredo (1992) foram semelhantes às do presente estudo independente da origem do material.

Pela comparação dos oocistos de *C. baileyi* dos frangos de corte, se verificou não haver diferença significativa, quando a técnica de CF-CB foi utilizada, entre as amostras de fezes procedentes dos três municípios estudados do Estado do Rio de Janeiro (Tabela 2). Quando as técnicas de diagnóstico utilizadas, foram comparadas, levaram a alterações

Tabela 2. Medidas dos oocistos de *Cryptosporidium baileyi* obtidos nas fezes de frangos de corte e examinados em campo brilhante.

Medidas (µm) ^a	Localidade ^b		
	Magé	Seropédica	Rio de Janeiro
Diâmetro maior	5,61±0,42	5,77±0,46	5,75±0,44
Diâmetro menor	4,48±0,45	4,71±0,43	4,67±0,47
Índice morfométrico	1,24±0,97	1,22±0,95	1,23±0,96

^a Número de oocistos igual a 100

^b Não significativo com $p > 0,05$ pelo Teste de Comparação de Tukey.

Tabela 3. Comparação dos oocistos de *Cryptosporidium baileyi* oriundos das fezes de frangos de corte.

Medidas (µm) ^a	Técnica ^b		
	Campo Brilhante	ZN-M	S-AM
Diâmetro maior	5,72±0,46 ^A	7,33±0,95 ^B	6,54±0,54 ^C
Diâmetro menor	4,65±0,48 ^A	6,74±0,90 ^B	6,04±0,50 ^C
Índice morfométrico	1,23±0,96	1,09±0,07	1,08±0,06

^a Número de oocistos igual a 100.

^b Letras diferentes em linha, diferença significativa com $p < 0,001$ pelo Teste de Comparação de Tukey.

morfométricas significativas nos oocistos ($p < 0,001$) quanto ao DM e dm; entretanto, o índice morfométrico manteve sua forma constante (Tabela 3).

A comparação dos aspectos morfológicos dos oocistos de *C. baileyi* procedentes das duas espécies de aves, quando utilizada a técnica de CF-CB, não foram significativos ($p > 0,05$) (Tabela 4). Esta semelhança morfométrica entre os oocistos de *C. baileyi* das aves estudadas estão de acordo com o já encontrado (Tabela 1), o que indicou que CF-CB não causou alteração aos oocistos.

Infecção experimental de *Cryptosporidium baileyi* em codornas japonesas.

Períodos pré-patente e patente: Os oocistos de *C. baileyi* estiveram presentes nas fezes sete dias após a infecção (DAI). As aves apresentaram três picos de eliminação dos mesmos, um no 7º DAI e outro no 15º DAI, com decréscimo na sua eliminação até 21º DAI quando houve o último pico de eliminação, após este período não foram mais observados oocistos nas fezes (Figura 2). Tais resultados foram semelhantes aos encontrados por Taylor et al. (1994) em frangos, que apresentaram um período pré-patente entre 6 e 8 dias, com um pico na eliminação de oocistos entre 13 e 17 dias e um período de patência de 21 dias. O período patente e o pico de eliminação dos oocistos nas fezes neste experimento foram semelhantes aos observados por Current et al. (1986) e Lindsay et al. (1988) para *C. baileyi* em frangos, o mesmo não ocorrendo com o período pré-patente, que foi mais longo nas codornas utiliza-

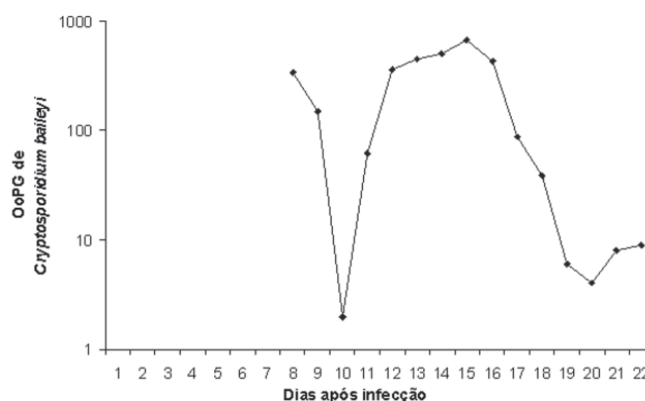


Figura 2. Curva de eliminação de oocistos de *Cryptosporidium baileyi* oriundos de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) experimentalmente infectadas.

Tabela 4. Morfometria dos oocistos de *Cryptosporidium baileyi* nas aves em campo brilhante.

Medidas (μm) ¹	Origem ²	
	Frangos	Codornas
Diâmetro maior	5,72 \pm 0,46	5,49 \pm 0,46
Diâmetro menor	4,65 \pm 0,48	4,48 \pm 0,58
Índice morfométrico	1,23 \pm 0,96	1,25 \pm 0,19

¹ Número de oocistos igual a 100.² Não significativo entre as médias pelo Teste "t" de Student.

das no presente trabalho.

Tanto as fezes quanto os cortes histológicos das aves controle, foram negativos para a presença do parasito.

Diagnóstico do parasito nas codornas: Após a utilização da técnica de CF-CB, foram observados apenas oocistos de *C. baileyi*, como corpos sub-esféricos a ovais, com coloração ligeiramente rósea e brilhante, contrastando com um fundo translúcido, às vezes com alguns pontos escuros em seu interior. As medidas dos oocistos (Tabela 4) foram semelhantes às encontradas nos frangos de corte, não se observando nenhum dado significativo.

Fases endógenas de *Cryptosporidium baileyi* em codornas: Na maioria dos casos de infecções naturais, *Cryptosporidium* foi encontrado principalmente na traquéia, bursa de Fabrício, cloaca, em menor grau no ceco e reto, e raramente no intestino delgado. Infecções experimentais com oocistos isolados de frangos de corte, por via oral, geralmente resultaram em infecções na bursa de Fabrício, cloaca e também em menor grau no ceco, reto e traquéia (GOODWIN, 1989).

Neste experimento, nos cortes histológicos corados pelo PAS, os estádios endógenos do *C. baileyi* apareceram como pequenos corpos arredondados, levemente basofílicos, aderidos à superfície das células epiteliais, ou soltos na luz dos órgãos (Figura 3). No 7º DAI, fases endógenas foram observadas na bursa de Fabrício e cloaca, resultado este que se assemelha aos obtidos por Current et al. (1986) em frangos e que os diferem de *C. meleagridis*, parasita do terço distal do

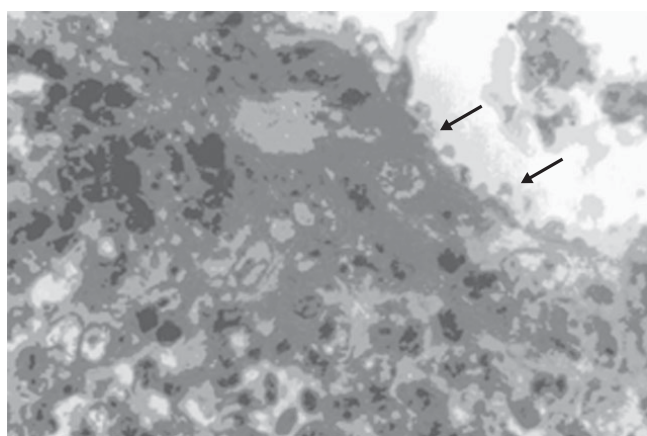


Figura 3. Estádios endógenos (→) de *Cryptosporidium baileyi* oriundos de codornas japonesas experimentalmente infectadas em bursa de Fabrício. PAS. Aumento de 1000x.

intestino delgado de perus (SLAVIN, 1955), embora o mesmo possa infectar frangos (LINDSAY et al., 1989) e aos de *C. galli* que segundo Ryan et al. (2003), infectou apenas o proventrículo em várias espécies de aves.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, B. C. Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 178, n. 9, p. 892-984, 1981.
- ARROWOOD, M. J. Diagnosis. In: Fayer, R. (Ed.). *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 43-60.
- BAXBY, D.; BLUNDELL, N.; HART, C. A. The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. *Journal of Hygiene*, v. 93, n. 2, p. 317-323, 1984.
- BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; NETO, A. G. F. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: EDART, 1976. p. 84-85.
- BOMFIM, T. C. B. do; LOPES, C. W. G. Comparative aspects of *Cryptosporidium muris*, Tyzzer, 1907 (Apicomplexa: cryptosporidiidae) oocysts on *Rattus norvegicus* from two different habitats. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 7, n. 2, p. 129-136, 1998.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução nº 714 de 20 de junho de 2002. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Disponível em: <<http://www.crmv-rj.com.br/new/index.html>> Acesso em: 23 jul 2003.
- CURRENT, W. L.; GARCIA, L. S. Cryptosporidiosis. *Clinical Microbiology Review*, v. 4, n. 3, p. 325-358, 1991.
- CURRENT, W. L.; UPTON, S. J.; HAYNES, T. B. The life cycle *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting chickens. *Journal of Protozoology*, v. 33, n. 2, p. 289-296, 1986.
- DILLINGHAM, R. A.; LIMA, A. A.; GUERRANT, R. L. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes Infection*, v. 8, n. 9, p. 1059-1066, 2002.
- FAGUNDES, T. F.; BATH, F. V. C.; SOLEIRO, C. A.; FAMADAS, K. M.; MENEZES, R. C. A. A. Inquérito preliminar sobre parasitas de aves (Sthruetio camelus) de um criatório localizado no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, supl. 1, p. 368, 2004.
- FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*, v. 30, n. 12-13, p. 1305-1322, 2000.
- FAYER, R.; SPEER, C. A.; DUBEY, J. P. General biology of *Cryptosporidium*. In: Fayer, R. *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 1-242.
- GARCIA, L. S.; BRUCKNER, D. A.; BREWER, T. C. et al. Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 18, n. 1, p. 185-190, 1983.

- GOODWIN, M. A. Cryptosporidiosis in birds: a review. *Avian Pathology*, v. 18, p. 365-384, 1989.
- HENRIKSEN, S. A.; POHLENZ, J. F. L. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 22, n. 3-4, p. 594-596, 1981.
- LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L. Crptosporidiosis in birds. In: DUBEY, J. P., SPEER, C. A., FAYER, R. *Cryptosporidiosis of man and animals*. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 133-148.
- LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L.; SUNDERMANN, C. A.; GIAMBRONE, J. J. Effect of broiler chicken age on susceptibility to experimentally induced *Cryptosporidium baileyi* infections. *American Journal of Veterinary Research*, v.49, n. 8, p. 1412-1414, 1988.
- LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L.; SUNDERMANN, C. A. Morphometric comparison of the oocysts of *Cryptosporidium meleagridis* and *Cryptosporidium baileyi* from birds. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, v.56, p.91-92, 1989.
- MEIRELES, M. V.; FIGUEIREDO, P. C. Isolamento e identificação de *Cryptosporidium baileyi* Current et al. 1986 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) em frangos de corte. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 1, n. 2, p. 125-130, 1992.
- MIRANDA, C.; ALBUQUERQUE, Y.M.; ARCOVERDE, C.; MAGALHÃES, V.; MELO, V.; SANTOS, A. Q. Ocorrência de cryptosporidiose e isosporiase intestinal em pacientes infectados pelo HIV atendidos no hospital das clínicas da UFPE e avaliação comparativa de três métodos laboratoriais para o seu diagnóstico. *Revista Brasileira de Medicina*, v. 54, n. 11, p. 916-921, 1997.
- MORGAN, U. M.; MONIS, P. T.; XIAO, L.; LIMOR, J.; SULAIMAN, I.; RAIDAL, S.; O'DONOGHUE, P.; GASSER, R.; MURRAY, A.; FAYER, R.; BLAGBURN, B. L.; LAL, A. A.; THOMPSON, R. C. A. Molecular and phylogenetic characterisation of *Cryptosporidium* from birds. *International Journal for Parasitology*, v. 31, n. 3, p. 289-296, 2001.
- MORGAN, U. M.; XIAO, L.; LIMOR, J.; GELIS, S.; RAIDAL, S.; FAYER, R.; LAL, A.; ELLIOT, A.; THOMPSON, R. C. A. *Cryptosporidium meleagridis* in an Indian ring-necked parrot (*Psittacula krameri*). *Australian Veterinary Journal*, v. 78, n. 3, p. 182-183, 2000.
- RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bulletin of the United State Armed, Medical Department*, v. 8, p. 326, 1948.
- RYAN, U. M.; XIAO, L.; READ, C.; SULAIMAN, I. M.; MONIS, P.; LAL, A. A.; FAYER, R.; PAVLASEK, I. A redescription of *Cryptosporidium galli* Pavlasek, 1999 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from birds. *Journal of Parasitology*, v. 89, n. 4, p. 809-813, 2003.
- SAMPAIO, I. B. M. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, 2002. 265 p.
- SANTOS, M. M. A. B.; MEIRELES, M. V. Caracterização molecular de *Cryptosporidium* de bovinos e aves. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, supl. 1, p. 225, 2004.
- SLAVIN, D. *Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.). *Journal of Comparative Pathology*, v.65, n. 3, p. 262-266, 1955.
- SRÉTER, T.; KOVÁCS, G.; DA SILVA, A. D.; PIENIAZEK, N. J.; SZÉLL, Z.; DOBOS-KOVÁCS, M.; MÁRIALIGETI, K.; VARGA, I. Morphologic, host specificity, and molecular characterization of a Hungarian *Cryptosporidium meleagridis* isolate. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, n. 2, p. 735-738, 2000.
- SRÉTER, T.; VARGA, I. Cryptosporidiosis in birds – a review. *Veterinary Parasitology*, v. 87, n. 4, p. 261-279, 2000.
- STERLING, C. R.; ARROWOOD, M. J. Cryptosporidia. In: Kreier, J. P. *Parasitic Protozoa*. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1993. v. 9, p. 159-213.
- TAYLOR, M. A.; CATCHPOLE, J.; NORTON, C. C.; GREEN, J. A. Variations in oocyst output associated with *Cryptosporidium baileyi* infections in chickens. *Veterinary Parasitology*, v. 53, n. 1-2, p. 7-14, 1994.
- TYZZER, E. E. Coccidiosis in gallinaceous birds. *American Journal of Hygiene*, v.10, p. 269-383, 1929.
- XIAO, L.; MORGAN, U. M.; LIMOR, J.; ESCALANTE, A.; ARROWOOD, M.; SHULAW, W.; THOMPSON, R. C. A.; FAYER, R.; LAL, A. A. Genetic diversity within *Cryptosporidium parvum* and related *Cryptosporidium* species. *Applied in Environmental Microbiology*, v. 65, n. 8, p. 3386-3391, 1999.
- WILSON, P. J.; ACRES, S. D. A comparison of dichromate solution flotation and fecal smears for diagnosis of cryptosporidiosis in calves. *Canadian Veterinary Journal*, v. 23, p. 240-246, 1982.

Recebido em 15 de março de 2005.

Aceito para publicação em 30 de agosto de 2005.