

# IMPORTÂNCIA DO MANEJO NA CRIPTOSPORIDIOSE EM CRIAÇÕES DE OVINOS

RACHEL I. J. COSENDEY<sup>1</sup>; VAGNER R. S. FIUZA<sup>1</sup>; FRANCISCO CARLOS R. DE OLIVEIRA<sup>2</sup>

**ABSTRACT:-** COSENDEY, R.I.J.; FIUZA, V.R.S.; OLIVEIRA, F.C.R. DE [Importance of the Handling in Cryptosporidiosis in Sheep Rearing]. Importância do manejo na criptosporidiose em criações de ovinos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.17, supl. 1, p. 209-214, 2008. Curso de Pós-Graduação em Produção Animal-Sanidade Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamago, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-602, Brasil. E-mail: rjuliboni@hotmail.com

With the objective to verify which are the risk factors in ovine cryptosporidiosis, 130 ovine fecal samples were collected in ten farms in Campos dos Goytacazes and Macaé and analyzed using the modified Ziehl-Neelsen technique. Hygiene, breeding system, clinic alteration, veterinary assistance and source of water which were furnished to the animals were analyzed by  $\chi^2$  Test and Fisher Exact Test, with Yates correction (when it was necessary) and 95% of confidence interval. Oocysts were observed in 47% of the farms. Clinic alteration as anorexia, apathy and diarrhea were not associated with cryptosporidiosis, however, due to a significative risk factors connected with animals breeding explained that the ovine handling is determinant in the presence of oocysts in ovine feces.

**KEY WORDS:** *Cryptosporidium* spp., Ziehl-Neelsen, handling, sheep.

## RESUMO

Com o objetivo de verificar quais são os fatores de risco na criptosporidiose ovina, 130 amostras fecais de ovinos da raça Santa Inês, de 10 propriedades das microrregiões de Campos dos Goytacazes e Macaé, foram examinadas, utilizando-se a técnica de Ziehl-Neelsen modificada. A higiene, sistema de criação, alterações clínicas, assistência veterinária e fonte de água fornecida aos animais foram avaliadas através do teste estatístico do Qui-quadrado e o Teste de Fisher (Fisher Exact Test), com correção de Yates (quando necessário), e intervalo de confiança de 95%. Foram observados oocistos em 47% das propriedades. Alterações clínicas, como anorexia, apatia e diarreia não foram associadas à criptosporidiose, no entanto, devido ao risco significativo de fatores relacionados aos cuidados com os animais, foi possível inferir que o manejo é determinante na presença de oocistos nas fezes dos ovinos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cryptosporidium* spp., Ziehl-Neelsen, manejo, ovino.

## INTRODUÇÃO

A criptosporidiose é conhecida mundialmente como uma doença nova e emergente, de distribuição cosmopolita que aco-

mete animais domésticos, silvestres e o homem. É capaz de causar apatia leve à moderada, febre, diarreia aquosa e desidratação (ANDERSON; BULGIN, 1981), ocorrendo com maior gravidade em indivíduos neonatos e em imunocomprometidos. Essa doença, causada pelo protozoário do gênero *Cryptosporidium*, tem importância em Saúde Pública por afetar a qualidade de vida das pessoas infectadas (MONIS; THOMPSON, 2003), pelo grande número de casos relatados, pelo maior número de pessoas em terapia com imunossuppressores e por haver um aumento do número de portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (FARTHING, 2000), por não existir nenhuma droga eficaz (HEIGES et al., 2006) e por não haver nenhuma forma de remoção eficaz do oocisto esporulados em água e alimentos contaminados por fezes de animais (JOACHIM, 2004).

No trato gastrointestinal de animais acometidos, é observado parasitismo nas bordas das microvilosidades dos intestinos delgado e grosso. Em consequência, uma diarreia é observada como principal sinal clínico, com perda de peso e baixa produtividade, causando elevados prejuízos econômicos (ANDERSON; BULGIN, 1981). Esses parasitas não são espécie-específicos, portanto pode haver transmissão de diferentes espécies de animais para humanos, diretamente, através da via fecal-oral. Outra forma de infecção é através da ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos oriundos de fezes eliminadas por hospedeiros infectados (BONNIN et al., 1996; CACCIÒ et al., 2005).

Em ovinos, a infecção por *Cryptosporidium* foi inicial-

<sup>1</sup> Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). E-mail: rjuliboni@hotmail.com

<sup>2</sup> Setor de Clínica Médica dos Grandes Animais Domésticos, LSA, CCTA, UENF, Av. Alberto Lamago, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-602, Brasil. E-mail: foliveira@uenf.br

mente descrita na Austrália em animais de uma a três semanas de idade que apresentavam diarreia (BARKER; CARBONELL, 1974). Seu papel como um agente etiológico primário foi confirmado em experimentos realizados no início da década de 1980 (ANGUS et al., 1982; SNODGRASS et al., 1984). *Cryptosporidium parvum* é considerado um dos patógenos mais importantes em pequenos ruminantes, pois causa enterites graves que estão associadas com diarreia e morte tanto em animais experimentalmente quanto em naturalmente infectados (GOMA et al., 2007).

Para detecção de parasitos do gênero *Cryptosporidium*, são utilizados vários métodos de diagnóstico. O método de observação direta é utilizado pela visualização microscópica dos oocistos entre lâmina e lamínula a fresco, sendo observados em microscópio óptico com objetiva de imersão (DeCARLI, 1994). Com o objetivo de aumentar a sensibilidade do exame e de diminuir os artefatos fecais, este pesquisador cita a técnica de centrifugo-sedimentação pelo formaldeído-éter, técnica de Ritchie (1948) modificada por Allen e Ridley (1970). A técnica de Giemsa, de Ziehl-Neelsen e de Heine, consiste na coloração utilizada para melhor detecção dos oocistos de espécies do gênero *Cryptosporidium* (DeCARLI, 1994). Embora bastante sensíveis, essas técnicas não são capazes de identificar as espécies presentes em uma infecção. A técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) mostra ser altamente sensível e específica, e capaz de fazer o diagnóstico em amostras contendo apenas um oocisto (MORGAN; THOMPSON, 1998); no entanto, seu custo elevado limita a sua utilização em trabalhos epidemiológicos.

Segundo Barta e Thompson (2006), os oocistos são completamente insensíveis a drogas anticoccídias. Não existe, portanto, nenhuma quimio ou imunoterapia disponível totalmente eficaz contra a criptosporidiose (HEIGES et al., 2006). Em decorrência a limitada disponibilidade de drogas e da sua pouca eficácia contra a criptosporidiose, justifica-se uma pesquisa com o objetivo de identificar o grau de infecção dos ovinos do Norte Fluminense, possibilitando a implementação de medidas higiênico-sanitárias e um manejo adequado dos rebanhos, visto que essas são as melhores formas de combate à doença (GRAAF et al., 1999).

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em dez propriedades particulares, localizadas no município de Carapebus, que pertence à microrregião de Macaé, e nos municípios de São João da Barra e São Francisco do Itabapoana, pertencentes à microrregião de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, perfazendo um total de 130 ovinos da raça Santa Inês. As propriedades foram selecionadas por conveniência, sendo todas de finalidade comercial. Os proprietários ou responsáveis pelas propriedades foram entrevistados por meio de questionário, com intuito de se avaliar o tipo de criação, assistência veterinária, higiene, alterações clínicas e fonte de água. Para essas avaliações dos fatores de riscos, foram utilizados os seguintes

critérios: para criações intensivas foram considerados aquelas cujos animais não tinham acesso a pastos, sendo o volumoso e concentrados oferecidos no cocho; e semi-intensivas aquelas em que os animais permaneciam durante o dia no pasto e eram recolhidos nos apriscos à tarde, onde tinham acesso a volumoso e concentrado, voltando ao pasto na manhã seguinte; para a propriedade ser considerada como tendo assistência, ela tinha que ter um profissional contratado e com visitas regulares; no caso de visitas esporádicas e pontuais as propriedades eram enquadradas como sem assistência veterinária; para a propriedade ser considerada higiênica, tinha que ter seus cochos e bebedouros lavados diariamente e permitir um mínimo de contato dos animais com as próprias fezes, ou seja, possuir apriscos ripados ou ter troca regular da cama. Propriedades com aprisco de cama de areia sem troca ou recolhimento das fezes eram consideradas como sem higiene; durante a coleta das fezes, os animais eram observados quanto a sinais clínicos e eram considerados normais aqueles que não apresentavam sinais aparentes de quaisquer doenças; e para veiculação hídrica das doenças, consideraram-se as propriedades que recebiam água encanada oriundas de tratamento por concessionárias de água e esgoto das regiões como fonte de água tratadas e quando a origem da água era de córrego ou poços sem tratamento na propriedade, como a fonte de água não tratada. No período compreendido entre janeiro e dezembro de 2007, foram realizadas coletas de fezes, diretamente da ampola retal dos animais que, depois de acondicionadas em sacos plásticos individualmente identificados, foram levadas ao laboratório em caixa isotérmica e mantidas sob refrigeração até o momento da análise. As análises foram processadas no Laboratório de Sanidade Animal (LSA), setor de Clínica Médica dos Grandes Animais Domésticos do Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (HV-UENF).

Os diagnósticos dos oocistos do gênero *Cryptosporidium* nas fezes foram feitos através da Técnica de Ritchie (1948), modificada por Allen e Ridley (1970), sendo os oocistos corados pelo método de Ziehl-Neelsen, modificado por Henriksen e Pohlenz (1981) utilizado-se o azul de metileno como contracorante (conjunto de coloração de Ziehl-Neelsen – Newproo®). Após secagem completa, as lâminas foram observadas em microscópio óptico comum, em objetiva de 100x (imersão). Os fatores de risco foram analisados pelo teste estatístico do  $\chi^2$  e o Teste de Fisher (Fisher Exact Test), com correção de Yates (quando necessário), com intervalo de confiança de 95% (PIMENTEL GOMES, 2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observados oocistos de *Cryptosporidium* spp. (Figura 1) em 47% em 130 animais examinados de 10 propriedades (Tabela 1). Essa prevalência também foi observada em outros trabalhos de pesquisa. Na Polônia, um estudo foi realizado em 159 ovinos para verificar a presença de espécies de *Cryptosporidium* que foi observada em 16 desses animais através da técnica de Ziehl-Neelsen, modificada (MAJEWSKA et al.,

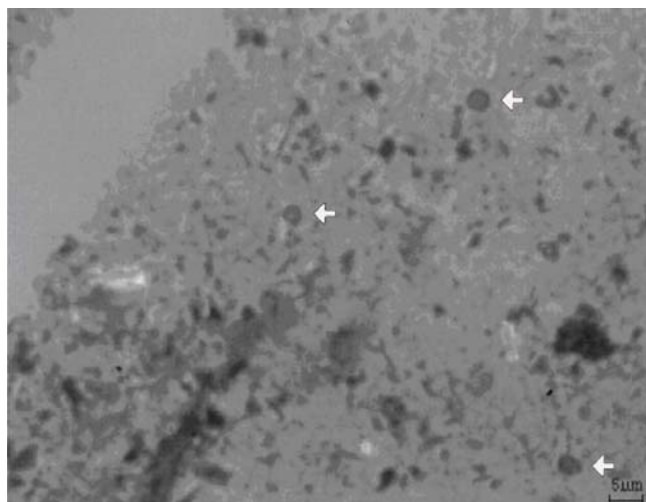


Figura 1. Diagnóstico de oocistos *Cryptosporidium* spp. realçados pela fuccina através da técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Tabela 1. Oocistos de *Cryptosporidium* spp. em fezes de ovinos da Raça Santa Inês na microrregião de Campos dos Goytacazes e de Macaé. Diagnóstico pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Propriedades*	(n°) <sup>a</sup>	Prevalência	
		Absoluta	Relativa (%)
A	10	8	80
B	10	7	70
C	10	8	80
D	10	4	40
E	20	5	25
F	10	8	80
G	10	2	20
H	20	5	25
I	15	7	47
J	15	7	47
Total	130	61	47

\* Municípios de Carapebus (A, B, C, E, F, G), São João da Barra (D e H), São Francisco do Itapapoana (I e J).

<sup>a</sup> número de animais analisados.

Tabela 2. Participação do sistema de criação na presença de oocistos do gênero *Cryptosporidium* nas fezes de ovinos da raça Santa Inês, procedentes da microrregião de Campos dos Goytacazes e de Macaé, Estado do Rio de Janeiro, pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Variáveis	Criações			$\chi^2$	Valor de P	Risco relativo (Rr)	Intervalo de confiança (95%) <sup>a</sup>
	Positiva	Negativa	Total				
Intensiva <sup>b</sup>	24 (18%)	16 (12%)	40 (31%)	0,0038	0,5902	0,3934-0,8853	a
Semi-Intensiva <sup>c</sup>	29 (22%)	61 (47%)	90 (69%)				
Total	53 (41%)	77 (59%)	130 (100%)				

<sup>a</sup> Com aproximação de Katz.

<sup>b</sup> Animais que recebiam volumoso e concentrado no cocho sem acesso à pastagem.

<sup>c</sup> Animais que recebiam concentrado no cocho e volumoso na forma de pastagem.

Tabela 3. Participação da Assistência Veterinária na presença de oocistos do gênero *Cryptosporidium* nas fezes de ovinos da raça Santa Inês, procedentes da microrregião de Campos dos Goytacazes e de Macaé, Estado do Rio de Janeiro, pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Variáveis	Criações			$\chi^2$	Valor de P	Risco relativo (Rr)	Intervalo de confiança (95%) <sup>a</sup>
	Positiva	Negativa	Total				
Sim <sup>c</sup>	20 (15%)	50 (38%)	70 (54%)	8,282	0,004	1,587	1,157 a 2,179
Não <sup>d</sup>	33 (25%)	27 (21%)	60 (46%)				
Total	53 (41%)	77 (59%)	130 (100%)				

<sup>a</sup> Com correção de Yates.

<sup>b</sup> Com aproximação de Katz.

<sup>c</sup> Propriedade com veterinário contratado para assistência regular.

<sup>d</sup> Propriedade sem assistência veterinária ou com assistência esporádica em casos pontuais.

Tabela 4. Participação da Higiene na presença de oocistos do gênero *Cryptosporidium*, nas fezes de ovinos da raça Santa Inês, procedentes da microrregião de Campos dos Goytacazes e de Macaé, Estado do Rio de Janeiro, pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Variáveis	Criações			$\chi^2$	Valor de P	Risco relativo (Rr)	Intervalo de confiança (95%) <sup>a</sup>
	Positiva	Negativa	Total				
Sim <sup>c</sup>	12 (9%)	48 (37%)	60 (46%)	18,34	<0,0001	1,931	1,422 a 2,622
Não <sup>d</sup>	41 (32%)	29 (22%)	70 (54%)				
Total	53 (41%)	77 (59%)	130 (100%)				

<sup>a</sup> Com correção de Yates.

<sup>b</sup> Com aproximação de Katz.

<sup>c</sup> Propriedades com limpeza diária dos cochos e bebedouros e com um mínimo de contato dos animais com as próprias fezes (apriscos ripados ou troca regular da cama).

<sup>d</sup> Propriedades com aprisco com cama de areia sem troca ou recolhimento das fezes.

2000). Em Maryland, EUA, em um trabalho realizado com 31 ovinos, foi verificada a prevalência de *C. parvum* em 77,4% destes animais através da técnica da PCR (SANTÍN et al., 2007).

Foi observado aumento no risco da infecção por espécies do gênero *Cryptosporidium* em ovinos submetidos ao sistema intensivo (Tabela 2). O fato dos animais ficarem mais tempo nas instalações favoreceu a presença do protozoário, concordando com a maioria dos trabalhos publicados (CAUSAPÉ et al., 2002; BOMFIM et al., 2005) que citam que o ambiente de confinamento é mais favorável à infecção pelo aumento de dejetos e umidade no local de criação. Assim, pode-se inferir que os ovinos criados intensivamente correm mais riscos de infecção por espécies do gênero *Cryptosporidium* na região Norte Fluminense.

A assistência técnica especializada é um fator importante, visto que a sua ausência na propriedade é fator de risco para a



presença de *Cryptosporidium* spp. (Tabela 3). Segundo Almeida (2006), a presença ou ausência de veterinário não contribui para presença do parasito, discordando dos resultados obtidos no presente trabalho. A explicação dada por Almeida (2006) é que os oocistos de *Cryptosporidium* spp. são resistentes garantindo assim sua manutenção no ambiente e consequente circulação entre os animais em propriedades mesmo com assistência técnica. Embora essas afirmações sejam interessantes e observadas também em outros trabalhos com outros agentes patógenos (MAINAR-JAIME; VÁZQUEZ-BOLAND, 1999), não se pode descartar a influência da infecção por falta de assistência em criações de ovinos.

Ocorreram diferenças significativas quanto à presença de *Cryptosporidium* spp. nos animais avaliados nesta pesquisa (Tabela 4) em relação à higiene das instalações, da mesma maneira que o trabalho de Majewska et al. (2000). Essa pesquisa desenvolvida na Polônia, cita que as más condições de higiene aumentam a influência de exposição dos animais à

Tabela 5. Participação das Alterações clínicas na presença de oocistos do gênero *Cryptosporidium* nas fezes de ovinos da raça Santa Inês, procedentes da microrregião de Campos dos Goytacazes e de Macaé, Estado do Rio de Janeiro, pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Variáveis	Criações			$\chi^2$	Valor de P	Risco relativo (Rr)	Intervalo de confiança (95%) <sup>a</sup>
	Positiva	Negativa	Total				
Sim <sup>b</sup>	31 (24%)	39 (30%)	70 (54%)	-	0,4742	0,8797	0,6621 a 1,169
Não <sup>c</sup>	22 (17%)	38 (29%)	60 (46%)				
Total	53 (41%)	77 (59%)	130 (100%)				

<sup>a</sup> Com aproximação de Katz.

<sup>b</sup> Animais que apresentavam separadamente ou em associação os seguintes sinais clínicos apatia, anorexia ou diarreia.

<sup>c</sup> Animais com aparência normal.

Tabela 6. Participação da Fonte de água na presença de oocistos do gênero *Cryptosporidium* nas fezes de ovinos da raça Santa Inês, procedentes da microrregião de Campos dos Goytacazes e de Macaé, Estado do Rio de Janeiro, pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Variáveis	Criações			$\chi^2$	Valor de P	Risco relativo (Rr)	Intervalo de confiança (95%) <sup>a</sup>
	Positiva	Negativa	Total				
Com Tratamento <sup>c</sup>	25 (19%)	50 (38%)	75 (58%)	3,364	0,0666	1,358	0,9929 a 1,857
sem Tratamento <sup>d</sup>	28 (22%)	27 (21%)	55 (42%)				
Total	53 (41%)	77 (59%)	130 (100%)				

<sup>a</sup> Com correção de Yates.

<sup>b</sup> Com aproximação de Katz.

<sup>c</sup> Água encanada e com tratamento padrão das concessionárias de água e esgoto locais.

<sup>d</sup> Água oriunda de poços ou córregos sem qualquer tratamento.

infecção por *Cryptosporidium* spp., assim como os trabalhos realizados por Causapé et al. (2002) em ovinos. Outros trabalhos relatam que as condições desfavoráveis, como a alta umidade e temperaturas inferiores a 20° C (CAREY et al., 2004), contribuem para a sobrevivência dos oocistos de *C. parvum* no ambiente por seis meses (FAYER et al., 1998).

As principais manifestações clínicas observadas pela criptosporidiose são: apatia, anorexia, dores abdominais e diarreia (ANDERSON, 1982; ANGUS et al., 1982; SNODGRASS et al., 1984; ORTEGA-MORA; WRIGHT, 1994; KOUDELA; JIRI, 1997). Com relação a essas alterações, não houve diferença estatística (Tabela 5) para aqueles animais que apresentavam ou não esses sinais, demonstrando assim que a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp., nas fezes de ovinos, não está diretamente atribuída a sinais clínicos aparentes. Segundo Majewska et al. (2000), tanto ovinos jovens quanto adultos parasitados mostravam-se assintomáticos. Na Espanha, Causapé et al. (2002) acharam a prevalência de *Cryptosporidium* spp. de 7,8% e 59% em ovinos assintomáticos adultos e jovens, respectivamente. Segundo Ortega-Mora et al. (1999), os adultos são reservatórios subclínicos de *Cryptosporidium* spp., e os jovens, aparentemente sadios, podem ser fontes de infecção para os outros animais (NASSIF et al., 2002). Através de estudos realizados por Ryan et al. (2005), na Austrália, foi verificado que não houve diferença significativa entre diarreia e a presença de *Cryptosporidium* spp. nas fezes de ovinos.

Não foi observada diferença significativa quanto ao risco relativo para ovinos que bebiam água com e sem tratamento em relação às fontes de água e à presença de *Cryptosporidium* spp. (Tabela 6). A ocorrência de oocistos do gênero *Cryptosporidium* no ambiente aquático tem sido verificada em vários países. Vários surtos da doença foram atribuídos ao consumo de água contaminada, sejam elas submetidas ou não ao tratamento por cloro ou outros processos tais, como coagulação, sedimentação e filtração em areia (CETESB, 2000). Na Costa Rica, 14 amostras de águas superficiais foram analisadas, sendo sete de água não tratada e sete de água tratada sem cloração, e verificou-se que o parasito estava presente em 85,7% das amostras de água não-tratada e em 57% das amostras de água tratada (LUMA et al., 2002). No Brasil, dados obtidos por Gamba et al. (2000) e Franco et al. (2001) mostraram a presença de oocistos em poços localizados na cidade de Itaquaquecetuba, SP, e nas águas superficiais do Rio Atibaia em Campinas, SP. Todos estes trabalhos reforçam a tese de risco da criptosporidiose em ovinos por veiculação hídrica.

## CONCLUSÃO

Após análise dos resultados, pode-se concluir que oocistos de *Cryptosporidium* spp. estão presentes de forma enzoótica nas criações de ovinos da microrregião de Campos dos Goytacazes e Macaé, no Estado do Rio de Janeiro, o manejo nas criações em sistema intensivo é responsável por manter a contaminação no rebanho estudado e onde a aparente normalidade clínica dos animais não impedem o desenvolvimento de espécies de parasitas do gênero *Cryptosporidium* nos reba-

nhos, garantindo, assim, a perpetuação da cadeia epidemiológica da criptosporidiose em rebanhos ovinos da região Norte Fluminense.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, A. V. H.; RIDLEY, D. S. Further observations on the formol etherconcentration technique parasites. *Journal of Clinical Pathology*, v. 23, n. 6, p.545-546, 1970.
- ALMEIDA, A.J. *Diagnóstico e fatores de risco da criptosporidiose Bovina na microrregião de Campos dos Goytacazes – RJ, e identificação de Cryptosporidium parvum pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)*. 2006. 80f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2006.
- ANDERSON, B.C.; BULGIN, M.S. Enteritis caused by Cryptosporidium in calves. *Veterinary Medicine Small Animal Clinician*, v. 76, n. 6, p.865-868, 1981.
- ANDERSON, B.C. Cryptosporidiosis in Idaho lambs: natural and experimental infections. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 181, n. 2, p. 151-153, 1982.
- ANGUS, K. W.; TZIPORI, S.; GRAY, E. W. Intestinal lesions in specific-pathogen-free lambs associated with Cryptosporidium from calves with diarrhea. *Veterinary Pathology*, v. 19, n. 1, p. 67-68, 1982.
- BARKER, I. K.; CARBONELL, P. L. Cryptosporidium agni sp. n. from lambs and Cryptosporidium bovis sp. n. from a calf with observations on the oocyst. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, v. 44, n. 4, p. 289-298, 1974.
- BARTA, J.R.; THOMPSON, R.C.A. What is Cryptosporidium? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. *Trends in Parasitology*, v. 22, n. 10, p. 463-468, 2006.
- BOMFIM, T.C.B.; HUBER, F.; GOMES, R.S.; ALVES, L.L. Natural infection by Giardia sp. And Cryptosporidium sp. in dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties. *Veterinary Parasitology*, v.134, n. 1-2, p. 9-13, 2005.
- BONNIN, A.; FOURMAUX, M.N.; DUBREMETZ, J.F.; NELSON, R.G.; GOBET, P.; HARLY, G.; BUISSON, M.; PUYGAUTHIER-TOUBAS, D.; GABRIEL-POSPISIL, F.; NACIRI, M.; CAMERLYNCK, P. Genotyping human and bovine isolates of *Cryptosporidium parvum* by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of a repetitive DNA sequence. *Microbiology Letters*, v. 137, n. 2-3, p. 207-211, 1996.
- CACCIÒ, S.M.; THOMPSON, R.C.A.; McLAUCHLIN, J.; SMITH, H.V. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends in Parasitology*, v. 21, n. 9, p. 430-437, 2005.
- CAREY, C.M.; LEE, H.; TREVORS, J.T. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocysts. *Water Research*, v.38, n. 4, p. 818-862, 2004.
- CAUSAPE, A.C.; QUILEZ, J.; SANCHEZ-ACEDO, C.; Del CACHO, E.; LOPES-BERNARD, F. Prevalence and analysis of potencial risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeastern Spain). *Veterinary Parasitology*, v. 104, n. 4, p. 287-298, 2002.
- CETESB. Microbiologia ambiental (Norma Técnica L5.), São Paulo. 2000.
- DeCARLI, G.A.D. Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas – Métodos e Técnicas. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda, 313 p., 1994.
- FARTHING, M.J. Clinical aspects of human cryptosporidiosis. *Contributions to Microbiology*, v. 6, n. 1, p. 50-74, 2000.
- FAYER, R.; GASBARRE, L.; PASQUALI, P.; CANALS, A.; ALMERIA, S.; ZARLENGA, D. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *International Journal for Parasitology*, v. 28, n. 1, p. 49-56, 1998.
- FRANCO, R.M.B.; ROCHA-EBERHARDT, R.; CANTUSIO NETO, R. Occurrence of *Cryptosporidium* Oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia River, Campinas, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 43, n. 2, p. 109-111, 2001.
- GAMBA, R.C.; CIAPINA, E.M.; ESPINDOLA, R.S.; PACHECO, A.; PELLIZARI, V.H. Detection of *Cryptosporidium* sp. oocysts in groundwater for human consumption in Itaquaquecetuba city, São Paulo-Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 31, n. 2, p. 151-153, 2000.
- GOMA, F.Y.; GEURDEN, T.; SIWILA, J.; PHIRI, I.G.K.; GABRIEL, S.; CLAEREBOU, E.; VERCRUYSE, J. The prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in small ruminants in Zambia. *Small Ruminant Research*, v. 72, n. 1, p. 77-80, 2007.
- GRAAF, D.C.; VANOPDENBOSCH, E.; ORTEGA-MORA, L.M.; ABBASSI, H.; PEETERS, J.E. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 8, p. 1269-1287, 1999.
- GOMES, F.P. *Curso de Estatística Experimental*. 14a Ed., São Paulo: Nobel, 2000. 468p.
- HEIGES, M.; WANG, H.; ROBINSON, E.; AURRECOECHEA, C.; GAO, X.; KALUSKAR, N.; RHODES, P.; WANG, S.; HE, C.; SU, Y.; MILLER, J.; KRAEMER, E.; KISSINGER, J.C. CryptoDB: a *Cryptosporidium* bioinformatics resource update. *Nucleic Acids Research*, v. 34, 419-422, 2006.
- HENRIKSEN, S.; POHLENZ, I.J. Staining of cryptosporidia by a modified Zielh-Neelsen technique. *Acta. Veterinaria Scandinavica*, v. 22, n. 3-4, p. 594-596, 1981.
- JOACHIM, A. Human Cryptosporidiosis: an update with special emphasis on the situation in Europe. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, v. 51, n. 6, p. 251-259, 2004.
- KOUDELA, B.; JIRI, V. Experimental cryptosporidiosis in kids. *Veterinary Parasitology*, v. 71, n. 4, p. 273-281, 1997.
- LUMA, S.; REYES, L.L.; CHINGILLA, M.; CATARINELLA, G. Presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en agua de consumo humano en la zona de estudio de la ciudad de Bogotá, Colombia. *Revista Colombiana de Microbiología e Inmunología*, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2000.

- poridium* spp. em águas superficiais em Costa Rica. *Parasitologia Latinoamericana*, v. 57, n. 1-2, p. 63-65, 2002.
- MAINAR-JAIME, R.C.; VÁZQUEZ-BOLAND, J.A. Associations of veterinary services and farmer characteristics with the prevalences of brucellosis and border disease in small ruminants in Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 40, n. 3-4, p.193-205, 1999.
- MAJEWSKA, A.C.; WERNER, A.; SULIMA, P.; LUTY, T. Prevalence of *Cryptosporidium* in sheep and goats bred on five farms in West central region of Poland. *Veterinary Parasitology*, v. 89, n. 4, p. 269-275, 2000.
- MONIS, P.T.; THOMPSON, R.C.A. *Cryptosporidium* and *Giardia*-zoonoses: fact or fiction? Infectious, Genetic and Evolution: *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, v. 3, n. 4, p. 233-244, 2003.
- MORGAN, U.M.; THOMPSON, R.C.A. PCR detection of *Cryptosporidium*, the way forward? *Parasitology Today*, v. 14, n. 6, p. 241-245, 1998.
- NASSIF, M.N.; AMER, S.A.; OSMAN, S.A. Some studies on ovine and caprine cryptosporidiosis concerning prevalence and electrophoretic pattern of blood serum protein. *Assiut Veterinary Medicine Journal*, v. 47, n. 1, p. 249-262, 2002.
- ORTEGA-MORA, L.M.; WRIGHT, S.E. Age-related resistance in ovine cryptosporidiosis: patterns of infection and humoral immune response. *Infection and Immunity*, v. 62, n. 11, p. 5003-5009, 1994.
- ORTEGA-MORA, L.M.; REQUEJO-FERNÁNDEZ, J.A.; PILAR-IZQUIERDO, M.; PEREIRA-BUENO, J. Role of adult sheep in transmission of infection by *Cryptosporidium parvum* to lambs: confirmation of periparturient rise. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 8, p. 1261-1268, 1999.
- RITCHIE, L.S. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bulletin United States Army. Medical Department*, v.8, n.4, p.326, 1948.
- RYAN, U.M.; BATH, C.; ROBERTSON, I.; READ, C.; ELLIOT, A.; MCINNES, L.; TRAUB, R.; BESIER, B. Sheep may not be an important zoonotic reservoir for *Cryptosporidium* and *Giardia* parasites. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 9, p. 4992-4997, 2005.
- SANTÍN, M.; TROUT, J.M.; FAYER, R. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* species and genotypes in sheep in Maryland. *Veterinary Parasitology*, v. 146, n. 1-2, p. 17-24, 2007.
- SNODGRASS, D.R.; ANGUS, K.W.; GRAY, E.W. Experimental cryptosporidiosis in germ-free lambs. *Journal of Comparative Pathology*, v. 94, n. 1, p. 141-152, 1984.

Recebido em 30 de abril de 2008.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2008.