

Detecção de oocisto de *Cryptosporidium* spp. em bezerros leiteiros

THAÍS ESTÉRCIO¹; NIEVERSON PERSIO²; BRUNA BACCEGA²; ANDRIOS DA SILVA MOREIRA²; ELIZA SIMONE VIÉGAS SALLIS²; DANIELA ISABEL BRAYER PEREIRA³

¹Universidade Federal de Pelotas – thayseloiza@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – nieversonp79@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – brubaccega@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – andriossilvamoreira@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – esvsallis@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – danielabrayer@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Cryptosporidium spp. é um protozoário coccídio, que acomete animais domésticos e silvestres, incluindo o homem (FAYER et al., 2008). De distribuição mundial, é considerado um agente zoonótico, responsável pelo acometimento gastrointestinal autolimitado, por infecções no trato respiratório em indivíduos imunocompetentes e morte em indivíduos imunocomprometidos. (PETERSEN, 1993).

Criptosporidiose está comumente associada a enterites, as quais se caracterizam por diarreia aguda, aquosa e cólica (JEX et al., 2008). Os animais adultos assumem importância epidemiológica, uma vez que são portadores assintomáticos do parasito atuando como potencial fonte de infecção para o ambiente e outros hospedeiros suscetíveis (O'DONOGHUE, 1995, FAYER et al. 2000).

Grandes perdas econômicas estão associadas com a criptosporidiose em bovinos, devido aos custos com tratamentos e em casos extremos a perda com a morte dos animais (VERGARA & QUÍLEZ 2004).

Em bovinos constitui uma das principais causas de diarreia em neonatos, no município de Campo dos Goytacazes, localizado na Região Norte Fluminense (RJ), foi encontrada uma positividade de 61% para o gênero *Cryptosporidium* spp. em bezerros com até 12 meses de idade, com maior excreção de oocistos nos primeiros dias de vida (ALMEIDA et al., 2008).

As principais espécies de *Cryptosporidium* spp. que acometem os bovinos são *Cryptosporidium andersoni*, *Cryptosporidium bovis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium ryanae* ou/ e *Cryptosporidium* genótipo *deer-like*.

Alguns métodos de concentração podem ser utilizados com objetivo de aumentar a sensibilidade do exame e de diminuir os artefatos fecais (De CARLI, 1994). Algumas técnicas colorimétricas para detecção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. empregadas são: Auramina "O" Fenicada, Safranina Kinyoun e Ziehl-Neelsen, as quais podem ser feitas após a fixação de esfregaços de fezes frescas ou preservadas (De CARLI, 1994).

O presente estudo tem como objetivo determinar a ocorrência de protozoários do gênero *Cryptosporidium* spp. em bezerros leiteiros dos municípios de Capão do Leão, Jaguarão, Pelotas e Piratini, no estado do Rio Grande do Sul (RS).

2. METODOLOGIA

Foram analisadas amostras fecais de bezerros leiteiros (n=145) dos municípios de Piratini, Capão do Leão, Jaguarão e Pelotas, RS, durante os meses de abril, maio e junho de 2016. As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal, em animais com idade de 0 a 12 meses, independente de sexo, idade ou raça. As propriedades foram escolhidas aleatoriamente e respeitou-se o número mínimo de 2 amostras fecais/propriedade e uma amostra de fezes/animal.

Após coleta, o aspecto das fezes foi classificado de acordo com Silverlas et al., (2009) em consistência firme ou pastosa, normais, líquidas ou semi-líquidas e diarreicas. Todas as amostras foram acondicionadas em frascos plásticos e conservadas em solução de MIF (Merthiolate-Iodo-Formol), em temperatura de 2 a 8 °C. Primeiramente foi realizada a técnica de Ritchie et al. (1948) modificado por Young et al. (1979) para a sedimentação dos oocistos do parasito. Para isso, dois gramos de fezes foram homogenizados e liquefeitos em água destilada estéril. A partir desta solução, foram realizados os esfregaços em lâmina e subsequentemente corados pelo método de Auramina "O" Fenicada (HENDERSON et al., 1942). Todas as amostras foram processadas no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 145 amostras de fezes coletadas, 4,82% (n=07) eram diarreicas e 95,17% (n=138) foram classificadas como fezes normais ou não diarreicas.

Os resultados da identificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes de bezerros leiteiros na região sul do RS, através do método de Auramina "O" Fenicada será demonstrado, respectivamente, na Tabela 1. Dos 145 exames fecais analisados, 17 (11,72%) observou-se a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. Em animais sem diarreia, houve a detecção de oocistos do parasito em 11,03% (n=16) das amostras de fezes, assim os animais jovens podem atuar como portadores assintomáticos do parasito.

Tabela 1. Detecção de oocistos do gênero *Cryptosporidium* spp.

Animais	Com Diarreia	Sem Diarreia	Total
Positivos*	01 (0,68%)	16 (11,03%)	17 (11,72%)
Negativos**	06 (4,13%)	122 (84,13%)	128 (88,27%)
Total	07 (4,82%)	138 (95,17%)	145 (100%)

* Positivos para a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp.

** Negativos para a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Nas propriedades leiteiras incluídas no estudo, os animais em sua maioria, eram criados individualmente com uso de estacas (58,82%). Este tipo de manejo facilita a contaminação do ambiente por patógenos eliminados pelas fezes. De acordo com Ortolani (1988), o tipo de manejo proporciona a permanência do parasito no ambiente, uma vez que aspectos como densidade populacional, estratificação dos animais por idade e condições de higiene podem influenciar na maior ocorrência de infecções.

O diagnóstico para detecção de oocistos é feito por meio de métodos que se baseiam na identificação morfológica do parasito após diferentes técnicas de coloração. Neste trabalho, foi utilizada a coloração de Auramina "O" Fenicada para facilitar a detecção dos oocistos que se apresentam fluorescentes quando observados ao microscópio de fluorescência.

A detecção de 11,72% de oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes analisadas com o emprego do método Auramina "O" Fenicada é similar aos estudos prévios de Garcia e Lima (1993) e Carneiro et al. (1995) que apontaram a presença de 11,32% e 12,02% de *Cryptosporidium* spp. em bovinos leiteiros.

Porém os resultados obtidos no estudo se diferem dos dados encontrados por Caldasso (1996) que apresentou uma positividade de 36,8%, e por Moraes et al. (1994) com 27,87% pelo método de fluorescência em bezerros leiteiros.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se com este trabalho que embora tenha sido observada uma baixa ocorrência do parasito nas fezes dos animais diarreicos, bezerros assintomáticos sadios podem albergar e atuar como fonte de infecção de contaminação ambiental e infecção de animais sensíveis, sobretudo neonatos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA A.J., OLIVEIRA F.C.R. & TEIXEIRA C.S. Risco relativo da infecção por parasitos do gênero *Cryptosporidium* em bezerros bovinos no norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 17(Supl.1):243-248,2008.

CALDASSO, C.C. *Cryptosporidium parvum* (Tyzzer, 1907) em bovinos: estudo de ocorrência em uma propriedade rural no município de Cristal-RS. Porto Alegre:UFRGS,1996. 81p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre).

CARNEIRO,J.R.; RODRIGUES,N.; LIMA, J.D. et al. Prevalência de *Cryptosporidium parvum* em bezerros procedentes da microrregião de Goiânia-GO. **Revista de Patologia Tropical**, v. 24, n.2, p. 255-267, 1995.

DeCARLI, G.A.D. Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas – Métodos e Técnicas. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda, 313p. 1994.

FAYER, R., SANTIN, M. AND TROUT, J. M. *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplex: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). **Veterinary Parasitology** 156, 191–190.2008.

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.

GARCIA, A. M.; LIMA, J. D. Prevalência de *Cryptosporidium* spp em rebanhos leiteiros de Para de Minas-MG e sua relação com a prática de manejo. **Arq. Bras. Par. Vet.**,v.3,n.1,p 23-28,1994.

HENDERSON, H.J.; SPAULDING, E.H.; GAULT, E.S. Demonstration of globi and leprosy bacilli by fluorecence microscopy. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., v.50, p.91-2, 1942.

JEX, A. R.; PANGASA, A.; CAMPBELL, B.E.; WHIPP, M.; HOGG, G.; SINCLAIR, M.I.; STEVENS, M.; GASSER, R.B. Classification of *Cryptosporidium* Species from Patients with Sporadic Cryptosporidiosis by Use of Sequence-Based Multilocus Analysis following Mutation Scanning. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 7, p. 2252-2262, 2008.

MORAES, R.Q. et al. Presença de *Cryptosporidium* sp e fezes de bovinos da raça Jersey em uma granja de Santa Maria-RS. In: CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO CONE SUL, 1. CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, A2.1994. Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, 1994. P 79.

O'DONOGHUE, P. J. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis in Man and Animals. **International Journal for Parasitology**, v. 25, n. 2, p. 139-195, 1995.

ORTOLANI, E.L. Padronização da tecnica de Ziehl-Neelsen para pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium*: estudo de alguns aspectos epidemiológicos de criptosporidiose em bezerros de rebanhos leiteiros no estado de São Paulo. 1988. 85f. Tese (**Doutorado**) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1988.

PETERSEN C. Cellular biology of *Cryptosporidium parvum* . **Parasitology Today** 9:87-91,1993.

RITCHIE LS. An ether sedimentation technique for routine stool examination. Bulletin of the United States Army Medical Department. 1948;(8):326.

SILVERLAS C., EMANUELSON U., VERDIER K. & BJORKMAN C. Prevalence and associated management factors of *Cryptosporidium* shedding in 50 Swedish dairy herds. **Prev. Vet. Med.** 90:242-253,2009.

VERGARA C. & QUÍLEZ J. Criptosporidiosis: una zoonosis parasitaria.**MVZ-Córdoba**, 9(1):363-372, 2004.

YOUNG, K. H.; BULLOCK, S. L.; MELVIN, D. M.; SPRUILL, C. L. Ethyl Acetat as a substitute for Diethyl e Ether in the Formalin-Ether Sedimentation Tecnique. J. Clin. Microbiol., 10:852-3,1979.