



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARIA PAULA DE CARVALHO EWALD

***CRYPTOSPORIDIUM SPP* EM FRANGOS (*GALLUS GALLUS*
DOMESTICUS LINNAEUS, 1758) CRIADOS EM SISTEMA
COLONIAL/CAIPIRA NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO
PARANÁ**

Londrina
2011

MARIA PAULA DE CARVALHO EWALD

***CRYPTOSPORIDIUM* SPP EM FRANGOS (*GALLUS GALLUS*
DOMESTICUS LINNAEUS, 1758) CRIADOS EM SISTEMA
COLONIAL/CAIPIRA NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO
PARANÁ**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Ciência Animal, da Universidade Estadual de
Londrina, como requisito parcial à obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Milton Hissashi Yamamura

Londrina
2011

Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

E94c Ewald, Maria Paula de Carvalho.
Cryptosporidium spp em frangos (*Gallus gallus domesticus* Linnaeus, 1758) criados em sistema colonial/caipira na região norte do estado do Paraná / Maria Paula de Carvalho Ewald. – Londrina, 2012.
63 f. : il.

Orientador: Milton Hissashi Yamamura.
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2012.
Inclui bibliografia.

1. Frango de corte – Doenças – Teses. 2. Criptosporidiose – Ave – Teses.
3. Frango de corte – Criação – Teses. 4. Ave – Doenças parasitárias – Teses. I. Yamamura, Milton Hissashi. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 619:636.5

MARIA PAULA DE CARVALHO EWALD

***CRYPTOSPORIDIUM* SPP EM FRANGOS (*GALLUS GALLUS*
DOMESTICUS LINNAEUS, 1758) CRIADOS EM SISTEMA
COLONIAL/CAIPIRA NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Milton Hissashi Yamamura
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Roberta Lemos Freire
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Marcelo Vasconcelos Meireles
UNESP – Botucatu – SP

Londrina, 8 de abril de 2011

Dedico este trabalho aos meus pais, por terem sido fundamentais para que eu tenha me tornado a pessoa que hoje sou, me ensinando os valores da disciplina e da responsabilidade, indispensáveis para a construção e conquista do meu projeto de vida.

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Paulo Sérgio, por todo amor e dedicação que sempre teve por mim, homem que tenho o maior orgulho de chamar de pai, pelos momentos em que esteve ao meu lado, me apoiando e me fazendo acreditar que nada é impossível; pessoa que sigo como exemplo. *“In my life I love you more.”*

À minha mãe Janice, por ser tão dedicada, por ser a pessoa que mais me apóia e acredita na minha capacidade, pelas horas em que ficou ao meu lado não me deixando desistir e me mostrando que sou capaz de chegar onde desejo. *“Did I tell you I need you every single day of my life?”*

Aos meus irmãos Bia e Pedro. *“We can work it out!”*

Aos meus tios, tias e avós, por estarem sempre torcendo e rezando para que meus objetivos sejam alcançados.

Ao meu orientador, professor Milton Hissashi Yamamura, pela atenção, paciência e ensinamentos dispensados no auxílio a concretização desta dissertação.

À professora Roberta Lemos Freire, pela ajuda durante toda a realização deste trabalho, sempre solícita em meus momentos de dúvidas.

Ao professor Marcelo Vasconcelos Meireles pelas correções e válidas observações feitas neste trabalho.

Ao colega Fernando Vieira, pela disposição sempre presente, de quem sem a ajuda este trabalho não se realizaria.

Aos colegas e funcionários dos Laboratórios de Zoonoses e Saúde Pública e de Parasitologia da Universidade Estadual de Londrina.

Aos colegas de mestrado pelo companheirismo.

À Letícia da Costa, Aline Santos, Renata Dias, Alessandra Taroda, Madlaine de Macedo, Joelma Lucioli e Jorge Restrepo, pela amizade. *“I get by with a little help from my friends.”*

À Lola, minha companheira de todas as horas.

Por fim, gostaria de agradecer aos meus amigos e familiares, pelo carinho e pela compreensão nos momentos em que a dedicação aos estudos foi exclusiva, e a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que esse trabalho fosse realizado.

*“There's nothing you can do that can't be done
Nothing you can sing that can't be sung
Nothing you can say, but you can learn how to play the game.
There's nothing you can make that can't be made
No one you can save that can't be saved
Nothing you can do, but you can learn how to be you in time.
There's nothing you can know that isn't known
Nothing you can see that isn't shown
Nowhere you can be that isn't where you're meant to be
It's easy.”*

John Lennon

EWALD, Maria Paula de Carvalho. *Cryptosporidium* spp em frangos (*Gallus gallus domesticus* LINNAEUS, 1758) criados em sistema Colonial/caipira na região norte do Estado do Paraná. 2011. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

RESUMO

A criptosporidiose é uma importante zoonose de distribuição mundial. Os parasitas do gênero *Cryptosporidium*, coccídios encontrados nas microvilosidades intestinais, infectam várias espécies de animais. Nas aves, a infecção tem sido diagnosticada em diferentes espécies, e a doença é caracterizada por distúrbios respiratórios e gastrointestinais. A infecção causada pelo *Cryptosporidium*, que se acreditava ser rara e de pouca ou nenhuma consequência, agora é conhecida por estar disseminada e frequentemente associada com a sintomatologia clínica. O impacto da infecção por *Cryptosporidium* na saúde e economia da produção avícola comercial ainda não foi totalmente avaliado. A criptosporidiose aviária é um problema emergente de sanidade animal, associado com doença respiratória em frangos e outros Galliformes. Devido à limitada disponibilidade de drogas efetivas, o controle da criptosporidiose se baseia principalmente em medidas higiênicas e de boa gestão. Este trabalho teve como objetivo identificar protozoários de gênero *Cryptosporidium* em frangos (*Gallus gallus domesticus*) criados sob o sistema Colonial/caipira na região norte do estado do Paraná e avaliar os fatores ambientais e de manejo associados à presença do parasita. Oocistos do parasita foram visualizados em 17,6% (IC 95% = 12,6-23,5) das 204 amostras. A análise do inquérito epidemiológico revelou que ocorre maior parasitismo quando o manejo inicial dos pintinhos é feito sobre forração de madeira, quando há a ocorrência de aves de outras espécies no ambiente e sombreamento do piquete. A criação das aves em solo argiloso e a menor lotação do piquete diminuem as chances de infecção por *Cryptosporidium* spp ($p < 0,05$).

Palavras-chave: Colonial-caipira. Avicultura. Criptosporidiose. Aves.

EWALD, Maria Paula de Carvalho. *Cryptosporidium* spp in chickens (*Gallus gallus domesticus* LINNAEUS, 1758) raised under the Colonial/free range system in the north region of Parana State. 2011. 63p. Dissertation (Masters Degree in Animal Science) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

ABSTRACT

Cryptosporidiosis is an important zoonosis spread worldwide. The parasites of the genus *Cryptosporidium* are found in intestinal microvilli, and can infect several species. In birds, the infection has been diagnosed in different species, and the disease is characterized by intestinal and respiratory disorders. Infection caused by *Cryptosporidium*, believed to be rare and with little or no consequence, is now known widespread and often associated with clinical symptoms. The impact of *Cryptosporidium* infection in health and economy of poultry production has not yet been fully evaluated. The avian cryptosporidiosis is an emerging health problem, associated with respiratory disease in chickens and other Galliformes. Due to limited availability of drugs effectiveness, the control of cryptosporidiosis remains mainly on hygienic intervention and good management. This study aimed to identify gender protozoa *Cryptosporidium* in chicken (*Gallus gallus domesticus*) raised under the Colonial/free range system in the north region of Parana State, evaluate the factors related to its epidemiology in order to help to control infestations, thus improving the productive activity efficiency. Oocysts of the parasite were found in 17.6% (CI95% = 12.6-23.5) of the 204 samples. The epidemiological survey showed statistical significance for the following factors: type of surface in the receipt of chicks, breeding another birds on the property, soil type, population density, and shading ($p < 0.05$).

Key-words: Free-range chicken. Poultry. Cryptosporidiosis. Birds.

LISTA DE QUADRO

QUADRO 1 – Comparação morfométrica dos oocistos de <i>Cryptosporidium</i> <i>meleagridis</i> , <i>C. baileyi</i> , <i>C. galli</i> e genótipos	19
--	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Relação das 14 propriedades cadastradas com avicultura colonial/caipira no norte do Paraná quanto ao número de amostras coletadas por propriedade, e positividade por propriedade, 2011	47
TABELA 2 – Grau de parasitismo por propriedade: aferição do escore de parasitismo nas lâminas coradas pelo método de Ziehl-Neelsen	48
TABELA 3 – Resultado da análise univariada de fatores ambientais e de manejo quanto à presença de <i>Cryptosporidium</i> spp em 204 amostras de fezes de frangos criados sob o sistema colonial/caipira em 14 propriedades do norte do Paraná, 2011	50

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 –Galpão e área de pastejo de sistema semi-intensivo (GLOBOAVES, 2008).....	15
FIGURA 2 –Ciclo de <i>Cryptosporidium parvum</i> . (RYAN; XIAO, 2009).....	20
FIGURA 3 –Foto de oocistos de <i>Cryptosporidium sp</i> em coloração de Ziehl-Neelsen 12 em Microscópio Óptico (objetiva 100x).....	47

SUMÁRIO

1 REVISÃO – AVICULTURA E CRIPTOSPORIDIOSE	12
1.1 INTRODUÇÃO	12
1.2 SISTEMA DE CRIAÇÃO DE FRANGOS COLONIAL/CAPIRA	14
1.3 CRYPTOSPORIDIUM SPP.....	16
1.3.1 Histórico.....	16
1.3.2 Classificação.....	17
1.3.3 Morfologia.....	18
1.3.4 Ciclo	19
1.3.5 Patogenicidade e Patologia.....	21
1.3.6 Associação Com Outros Agentes	22
1.3.7 Epidemiologia	23
1.3.8 Prevalência nas Aves.....	24
1.3.9 Potencial Zoonótico.....	27
1.3.10 Diagnóstico	28
1.3.11 Tratamento e Controle.....	29
1.4 REFERÊNCIAS.....	30
2 OBJETIVOS	42
2.1 GERAL.....	42
2.2 ESPECÍFICOS.....	42
3 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO	43
3.1 INTRODUÇÃO	43
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
3.2.1 Estudo Populacional e Tamanho de Amostra.....	45
3.2.2 Inquérito Epidemiológico.....	45
3.2.3 Exame Parasitológico e Identificação	46
3.2.4 Análise Estatística	46
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
3.4 CONCLUSÃO.....	52
3.5 REFERÊNCIAS.....	53
4 CONCLUSÃO FINAL	56
APÊNDICES	57

1 REVISÃO – AVICULTURA E CRIPTOSPORIDIOSE

1.1 INTRODUÇÃO

A Medicina Veterinária Preventiva é a chave para o controle econômico de doenças. Doenças respiratórias e entéricas representam uma ameaça contínua e importante causa de perda econômica na avicultura (DERICH, 1998).

A avicultura representa 30% de toda produção cárnea consumida no mundo. Parasitas são um problema onde quer que haja produção, tanto em grande escala industrial, quanto nas criações de fundo de quintal, e as perdas econômicas podem ser significativas (RUFF, 1999).

A avicultura no Brasil encontra-se entre as mais eficientes do mundo. O desenvolvimento de técnicas de produção e de controle das enfermidades associado aos investimentos realizados em infraestrutura tornou o Brasil o segundo maior produtor mundial de frangos de corte e o maior exportador mundial de carne de frango (UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA, 2008). O Estado do Paraná vem liderando o crescimento no setor avícola sendo atualmente o maior estado produtor e exportador do país com mais de 1,33 milhões de aves abatidas e 1 milhão de toneladas de carne exportadas (SINDICATO DAS INDÚSTRIAS DE PRODUTOS AVÍCOLAS DO ESTADO DO PARANÁ, 2010).

Em paralelo à atividade avícola industrial com grande demanda de mercado, outras tendências de consumo como os produtos orgânicos ou naturais se apresentam como atividade alternativa para o agricultor familiar, pois demanda menor investimento financeiro do que na avicultura industrial de alta escala. Além disto, o interesse por produtos produzidos de maneira mais natural, por carnes com paladar diferenciado, ou ainda por alimentos obtidos com uma maior preocupação com o bem estar animal, têm estimulado outros sistemas de criação, dentre eles o sistema colonial/caipira (JULIÃO, 2003).

Os protozoários mais importantes que infectam as aves pertencem ao filo Apicomplexa, que inclui os gêneros *Eimeria*, *Leucocytozoon*, *Haemoproteus*, *Toxoplasma*, *Sarcocystis* e *Cryptosporidium*. Flagelados como *Histomonas*, *Trypanosoma*, *Trichomonas*, *Chilomastix* e *Hexamita*, e amebas do gênero *Entamoeba* e *Endolimax* também são encontradas (RUFF, 1999).

As coccidioses são a principal doença parasitária, não só para o sistema convencional, mas também para o sistema de produção colonial/caipira. Esta doença acomete

o trato intestinal das aves causando diarreia, perda sanguínea e queda nos índices zootécnicos (CARDOZO; YAMAMURA, 2004).

Cryptosporidium spp é um protozoário que causa doença respiratória em aves e, adicionalmente à traquéia, outros órgãos como intestino e bursa de Fabricius podem sofrer infecção pelo parasita (TAKANO, 1992).

Após sua primeira descrição em aves por Tyzzer (1929), a criptosporidiose em aves era considerada rara e oportunista, encontrada eventualmente com outros patógenos, como vírus e bactérias. A partir da década de 70, o *Cryptosporidium* spp tem se destacado como agente etiológico de infecções envolvendo tratos digestivo e respiratório de várias espécies de aves (JACOBSEN, 2006).

Na maioria dos casos de infecções naturais em aves, o parasita foi encontrado principalmente na traquéia, bursa de Fabricius, cloaca, em menor grau no ceco e reto, e raramente no intestino (SRÉTER; VARGA, 2000).

A infecção ocorre com a ingestão de alimentos ou água contaminada com o oocisto infectante (FERNANDÉZ et al. 1990), que pode servir como fonte primária de distribuição de oocistos em lotes de frangos (SRÉTER; VARGA, 2000). O aparelho respiratório também serve como via de infecção do parasita e, portanto, espera-se encontrá-lo em órgãos como a traqueia (GOODWIN, 1989).

Cryptosporidium pode causar problemas graves em algumas espécies de aves (LINDSAY et al., 1988). Perus infectados com *C. meleagridis* podem apresentar diarreia e mortalidade (SLAVIN, 1955). Outra espécie deste gênero, *C. baileyi*, pode infectar os tratos digestivo e respiratório de galinhas e perus (CURRENT et al., 1986).

Os prejuízos econômicos associados a esta doença são devidos ao baixo desempenho das aves (retardo de crescimento e aumento do consumo) e/ou alta mortalidade. Além disso, o custo da terapia, embora a maioria das drogas seja ineficiente, e a condenação de carcaças no processamento devido à aerossaculite, também devem ser levados em consideração. Quando *C. baileyi* ocorre simultaneamente com agentes imunossupressores ou outros patógenos respiratórios, as consequências são mais graves, e as perdas mais importantes (DE GRAFF, 1999).

A taxonomia deste protozoário em relação às aves é controversa, havendo definição de três espécies, *C. meleagridis* (SLAVIN, 1955), *C. baileyi* (CURRENT et al., 1986) e *C. galli* (RYAN et al., 2003a).

1.2 SISTEMA DE CRIAÇÃO DE FRANGOS COLONIAL/CAIPIRA

A produção de carne e ovos de galinhas representa uma importante fonte de proteína animal para a população mundial. O sistema colonial/caipira oferece opção alternativa para o consumidor e fonte proteica para famílias de menor poder aquisitivo (VIEIRA, 2010).

A criação orgânica e não intensiva de animais de produção está crescendo em importância em muitos países ao redor do mundo. Em contraste às criações convencionais, o controle de parasitas nas criações orgânicas é afetado por muitas das mudanças no manejo, como por exemplo, acesso a espaços fora do galinheiro, banimento de muitos medicamentos preventivos, incluindo o uso de antiparasitários. A produção de animais no sistema orgânico se baseia principalmente no pastejamento, o que adquire uma grande importância no controle de parasitas (THAMSBORG, 1999).

O sistema colonial/caipira é caracterizado por uma criação semi-intensiva das aves visando maior bem estar aos animais e buscando obter uma carne de características diferenciadas da carne derivada da avicultura industrial intensiva (VIEIRA, 2010).

A avicultura familiar possui pequena escala de produção e ocupa geralmente a mão de obra não contratada e recursos alimentares produzidos na propriedade. Nos países em desenvolvimento esta atividade representa grande parcela da atividade avícola, podendo ser desenvolvida em fundo de quintal (*Free-range extensive systems*), com área para pastoreio diurno e fechado à noite (*Backyard Extensive Systems* e *Semi-intensive Systems*) e, ainda, totalmente fechado (*Intensive Systems*) (SONAIYA; SWAN, 2004).

No Brasil este sistema de criação foi regulamentado pelo Ofício Circular N°007/99 da Divisão de Operações Industriais, do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 1999) determinando o limite de 25 dias de confinamento às aves dando a elas após este período, acesso a piquetes para pastoreio com espaço mínimo de 3m² por ave e idade mínima para abate de 85 dias.

Figura 1 – Galpão e área de pastejo de sistema semi-intensivo (GLOBOAVES, 2008).



A alimentação deve ser constituída por ingredientes exclusivamente de origem vegetal, sendo proibido o uso de promotores de crescimento. A formulação da ração oferecida para as aves depende da fase de desenvolvimento que ela se encontra. Deve-se complementar a alimentação com grãos, forrageiras, verduras e tubérculos fornecidos duas vezes ao dia. Após os 25 dias de vida as aves são soltas para pastar em piquete com gramíneas de alto teor protéico como Quicúio (*Pennisetum clandestinum*), Napier (*Pennisetum purpureum*), Coast-cross (*Cynodon dactylon*), Tifton (*Cynodon nlemfuensis*) e Estrela-Africana (*Cynodon plectosfachyum*) (GLOBOAVES, 2008).

Deve-se também utilizar apenas linhagens próprias para este tipo de criação, não se permitindo o uso de raças comerciais. Dentre as linhagens desenvolvidas para o sistema colonial estão: Embrapa 041 (FIGUEIREDO et al., 2001), Caipirinha da ESALQ (CP), Pinto Preto Pesado de Pasto Pescoço Pelado de Piracicaba (7P), Caipirão da ESALQ, Carijó Barbada (SAVINO et al., 2007), Label Rouge (LR), Paraíso Pedrês (PP) e Carijó Preto.

As convenções para produção orgânica de ovos incluem modificações nas habitações e na alimentação. Todas as galinhas devem ter acesso a um terreiro, desse modo criando um meio ambiente ideal para a transmissão de parasitas. O risco de uma ave se tornar infectada é maior do que nos sistemas de gaiolas. Este sistema de criação mantém as aves em piquetes de pastoreio por 2,5 a 3 meses o que possibilita maior oportunidade para a instalação de parasitos. Para preveni-los, o ideal é introduzir animais não infectados no ambiente, manter o terreiro limpo e compor a alimentação de pastagens com fitoterápicos (THAMSBORG et al. 1999).

A produção de frangos coloniais requer um período de, no mínimo, 21 dias de vazio sanitário entre alojamentos, após a limpeza e desinfecção das instalações e dos equipamentos. As aves devem ser vacinadas no incubatório contra a Doença de Marek. Doenças como Gumboro, Bronquite Infecciosa e Newcastle podem ser evitadas através da vacinação aos 10, 35 e 55 dias de idade, com vacina viva. O esquema de vacinação deve atender aos desafios de biossegurança da região em que se localiza a produção e estar em consonância com a orientação do serviço oficial (ÁVILA et al., 2007)

1.3 *CRYPTOSPORIDIUM* SPP

1.3.1 Histórico

A espécie *Cryptosporidium muris* foi descrita primeiramente por Tyzzer (1907) nas glândulas gástricas de um camundongo de laboratório. O autor descreveu, ainda, estágios de desenvolvimento assexuados, sexuados e esporogonia, além da eliminação de oocistos nas fezes. Em 1910, descreveu essa espécie em maiores detalhes, e sugeriu que os esporozoítos oriundos de oocistos que sofreram maturação no epitélio gástrico podem ser fonte de autoinfecção.

O mesmo autor descreveu, em 1912, uma espécie semelhante, porém com oocisto menor, denominando-a *C. parvum*. Em 1929, Tyzzer encontrou a espécie em epitélio cecal de galinha, correlacionando-o ao *C. parvum*.

Em 1955, Slavin descreveu uma nova espécie, *C. meleagridis*, em intestinos de peru, associada à doença clínica aguda com baixa mortalidade. Com auxílio de raspados de mucosa corados pelo método de Mac Neal, descreveu morfológicamente os estágios endógenos do parasita.

Desde este relato, a criptosporidiose representa uma das principais infecções por protozoários nas aves, tendo sido observado em epitélios entérico, respiratório e renal. No trato gastrentérico, o parasita é encontrado nas glândulas salivares, proventrículo, intestino delgado, ceco, colo, cloaca e bursa de Fabricius. No trato respiratório e tecidos oculonasais, o parasita se instala na câmara nasal, fenda palatina, seios intraorbitais, conjuntiva, laringe, traquéia, brônquios e sacos aéreos (GOODWIN; BROWN, 1988).

Posteriormente, foi feita uma descrição de infecção intestinal por *Cryptosporidium* em bezerros com diarreia (PANCIERA et al., 1971).

Em 1976, infecções por *Cryptosporidium* foram relatadas em dois pacientes humanos. Infecções em humanos tem sido descritas com maior frequência em indivíduos imunodeficientes pelo vírus HIV e em crianças imunocompetentes de menos de 5 anos de idade, mas também pode ser encontrada em indivíduos imunocompetentes (NIME et al., 1976; MEISEL et al., 1976).

Cryptosporidium baileyi, isolado de uma granja de frangos de corte, foi descrito por Current et al. em 1986.

1.3.2 Classificação

De acordo com Levine (1980), o gênero *Cryptosporidium* Tyzzer (1907) é membro do filo Apicomplexa Levine (1970), classe Sporozoa Leuckart (1879), subclasse Coccidiasina Leuckart (1879), ordem Eucoccidiorida Léger e Duboscq (1910), subordem Eimeriorina Léger (1911), família Cryptosporidiidae Léger (1911).

Análises de sequências de SSU rRNA revelaram que o *Cryptosporidium* não exibe relação genética próxima com outros parasitas do filo Apicomplexa (JOHNSON et al., 1990; CAI et al., 1992), aparecendo com maior afinidade com *Plasmodium* (BARTA et al., 1990), *Theileria* e *Babesia* (XIAO et al., 1999).

A taxonomia do gênero *Cryptosporidium* é incompletamente definida, e a análise do sequenciamento de DNA tem indicado que este gênero é complexo e pode conter ainda espécies não nominadas (MORGAN et al., 1998).

Atualmente, apenas três espécies de *Cryptosporidium* que parasitam as aves são reconhecidas. Entretanto, genótipos geneticamente distintos têm sido encontrados, e que podem, futuramente, ser descritos como novas espécies (RYAN, 2010).

A espécie *Cryptosporidium meleagridis* Slavin (1955), parasita o terço distal do intestino delgado. Acomete perus (SLAVIN, 1955) e frangos (LINDSAY, 1989). Apresenta diâmetro polar e equatorial com média de 5,2 x 4,6 μm , com relação largura-comprimento de 1,13 (LINDSAY, 1989).

Cryptosporidium baileyi Current et al. (1986), parasita principalmente a bursa de Fabricius e cloaca. Encontrado também no trato respiratório, e com menor frequência no ceco e cólon. Afeta galinhas, patos, perus e gansos (GOODWIN, 1989). Apresenta diâmetro polar e equatorial com média de 6,2 x 4,6 μm e relação largura-comprimento 1,4. (CURRENT et al., 1986). Lindsay (1989) encontrou oocistos com diâmetro polar e equatorial de 6,6 x 5,0 μm e relação largura-comprimento de 1,33.

Cryptosporidium galli Pavlasek (1999), descrito em fezes das aves, foi redescrito com ajuda de dados moleculares e biológicos. Os oocistos são elipsoidais, e medem 8,0-8,5 x 6,2-6,4 μm , com relação largura-comprimento de 1,3. Os oocistos são estruturalmente semelhantes aos de *Cryptosporidium baileyi* descrito em galinhas, mas além de serem consideravelmente maiores do que os oocistos de *C. baileyi*, estes oocistos infectam o proventrículo em uma variedade de pássaros (Ordem Passeriforme; Famílias Phasianidae, Fringillidae e Icteridae) e não o trato respiratório. Análises filogenéticas e moleculares

mostram que esta espécie é geneticamente distinta de todas as espécies conhecidas e, assim, foi nomeado *C. galli* (RYAN et al., 2003a).

Em adição às três espécies oficialmente reconhecidas, dez genótipos geneticamente distintos foram descritos: genótipos I-IV de várias aves hospedeiras (MEIRELES *et al.*, 2006; NG *et al.*, 2006); um novo genótipo de *eurasian woodcock* (*Scolopax rusticola*) (isolado B2-1) da República Checa (RYAN *et al.*, 2003b); um genótipo de um *black duck* (*Anas rubripes*) (MORGAN *et al.*, 2001); e genótipos tipos I, II, 3b e 7 de gansos canadenses (JELLISON *et al.*, 2004; ZHOU *et al.*, 2004).

Morgan et al. (2001) sugeriram, a existência de uma espécie geneticamente distinta parasitando tentilhões (Passeriforme: Estrildidae), mas análise de rRNA revelaram que se tratava de *C. galli* (RYAN et al., 2003a).

1.3.3 Morfologia

Os estágios de desenvolvimento endógeno estão localizados em íntima associação com a superfície do lúmen das células epiteliais do hospedeiro. Em cortes histológicos, os parasitas aparecem como corpos basófilos pequenos, aparentemente ligados à superfície das células, dando uma aparência de pontos granulares, à borda em escova da microvilosidade. As formas são esféricas ou elípticas, medem entre 2 e 6 μm em diâmetro, apresentando uma protuberância na superfície da célula. A microscopia eletrônica confirma sua localização intracelular, porém extracitoplasmática, dentro do vacúolo parasitóforo. Quase todos os estágios de desenvolvimento endógeno estão confinados à superfície apical das células epiteliais, embora alguns estágios tenham sido detectados nos macrófagos, nas paredes dos capilares aéreos e no átrio das galinhas e nas células sub-epiteliais das membranas corioalantóides nos embriões. O parasita contém uma organela de aderência na base de cada vacúolo parasitóforo, denominada organela de nutrição por Pohlentz et al. (1978). Essa organela está associada à zona densa de aderência, facilitando a captura de nutrientes da célula hospedeira pelo parasita.

O oocisto é a etapa final de formação do parasita na fase endógena, eliminado ao meio exterior com as fezes. A forma madura contém 4 esporozoítos alongados, sem a presença do esporocisto, uma característica deste gênero. Cada oocisto contém numerosos grânulos, e mede aproximadamente 6,3 x 5,2 μm (KAWAZOE, 2000). (QUADRO1).

QUADRO 1 – Comparação morfométrica dos oocistos de *Cryptosporidium meleagridis*, *C. baileyi*, *C. galli* e genótipos (RYAN e XIAO, 2009).

Espécies/ Genótipos	Comprimento (μm)	Largura (μm)	Razão Comprimento/Largura	Referência
<i>C. meleagridis</i>	4,5-6,0	4,2-5,3	1,00-1,33	Lindsay et al., 1989
<i>C. baileyi</i>	6,0-7,5	4,8-5,7	1,05-1,79	Lindsay et al., 1989
<i>C. galli</i>	8,0-8,5	6,2-6,4	1,3	Ryan et al, 2003a
Genótipo II	6,0-6,5	4,8-6,6	1-1,25	Meireles et al., 2006; Ng et al., 2006
Genótipo III	7,5	6,0	1,25	Ng et al., 2006
Genótipo IV	8,25	6,3	1,30	Ng et al., 2006
Genótipo de eurasian woodcock	8,5	6,4	1,32	Ryan et al., 2003b

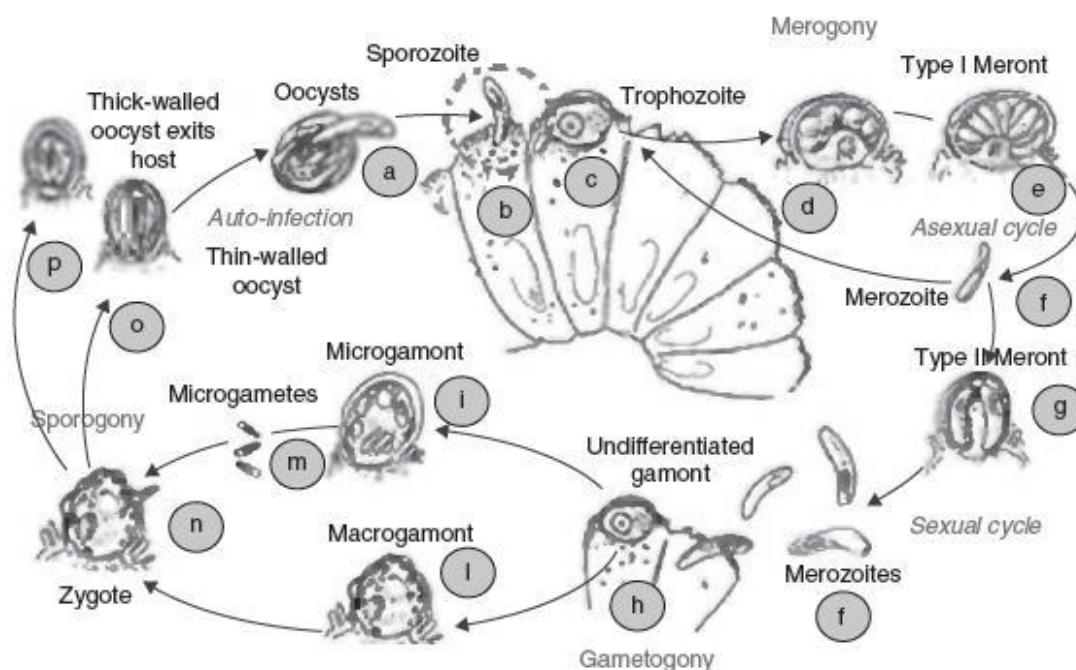
Os zoítos – esporozoíto e merozoíto – são semelhantes aos de outras espécies do mesmo filo, com algumas exceções: são circundados por uma película de três camadas e um complexo apical rudimentar contendo 2 ou 3 anéis apicais, uma estrutura semelhante à conóide, numerosos micronemas, diversos corpos eletrondensos semelhantes à roptrias e microtúbulos subpeliculares. Não contém conóide, anel polar, mitocôndria ou micrósoros típicos, como ocorre com outras espécies do filo Apicomplexa (KAWAZOE, 2000).

1.3.4 Ciclo

Os protozoários do gênero *Cryptosporidium* apresentam ciclo monoxeno. O ciclo é semelhante ao de outros coccídios, consistindo basicamente nos estágios de esquizogonia, gametogonia e esporogonia. (FAYER; UNGAR, 1986).

É um parasita de localização intracelular, porém extracitoplasmático, dentro do vacúolo parasitóforo formado por uma membrana derivada das microvilosidades da célula epitelial (HAMPTON; ROSARIO, 1966).

Figura 2 –Ciclo de *Cryptosporidium parvum*. (RYAN; XIAO, 2009).



Os oocistos ingeridos pelo hospedeiro existem no trato gastrointestinal e liberam os esporozoítos, que se aderem às células epiteliais da bursa de Fabricius, trato gastrointestinal ou traquéia. Essas formas tornam-se arredondadas, dando origem ao trofozoíto uninucleado. O trofozoíto sofre multiplicação assexuada dando origem ao meronte tipo I, contendo 8 merozoítos em forma de banana, dentro do vacúolo parasitóforo. Os merozoítos são liberados, invadem novas células epiteliais e desenvolvem o meronte tipo II, contendo 4 merozoítos no seu interior. Esses merozoítos podem retornar e penetrar em novas células e realizam uma terceira fase assexuada, formando o meronte tipo I, contendo 8 merozoítos. Posteriormente ocorre a fase sexuada, com formação de macrogamonte e microgamonte, contendo microgametas que, após a fertilização, dão origem a dois tipos de oocistos. A maioria consiste de oocistos com parede espessa e forma resistente. Estes desenvolvem a fase esporogônica dentro da célula hospedeira, estando maduros quando liberados na luz intestinal.

Aproximadamente 20% dos oocistos de *Cryptosporidium* spp não formam uma parede de duas camadas resistente ao meio ambiente externo, e sim única camada envolvendo os quatro esporozoítos. Esse oocisto de parede delgada sofre excitação ainda no hospedeiro, sendo responsáveis, juntamente com os merozoítos de primeira geração, por auto-infecção, que pode ser a origem do parasitismo intenso observado por vários dias na bursa de Fabricius (CURRENT et al., 1986).

Em um estudo experimental sobre o ciclo de vida de *C. baileyi* em frangos de corte, Current et al. (1986) mostraram um período pré-patente de 3 dias após inoculação oral (PI) para a eliminação dos oocistos e período patente de 4 a 24 dias PI em aves inoculadas com 2 dias de idade, e 4 a 14 dias em pintos inoculados com 1 a 6 meses de idade. Lindsay et al. (1988) realizaram um experimento em que inocularam frangos com idade variando de 2 a 42 dias, encontrando variação de 2 a 5 dias no período pré-patente. Neste estudo, as aves mais novas foram mais suscetíveis à infecção, apresentando período pré-patente mais curto e período patente mais prolongado.

Observações do desenvolvimento de *Cryptosporidium* em culturas *in vitro* e *in vivo* em camundongos levaram à descrição de novas etapas em seu ciclo de vida que têm se mostrado semelhantes aos observados no ciclo de vida das gregarinas (HIJAWI et al., 2002; ROSALES et al., 2005).

Estudos moleculares filogenéticos agruparam o *Cryptosporidium* em um clado separado dos outros táxons de coccídios (CARRENO et al., 1999; LEANDER et al., 2003). Estudos biológicos e morfológicos também encontraram alta similaridade entre o *Cryptosporidium* e as gregarinas (HIJAWI et al., 2002, 2004; ROSALES et al., 2005; BARTA; THOMPSON, 2006). Informações obtidas desses estudos sugerem que o *Cryptosporidium* está mais relacionado a alguns protozoários Apicomplexa ancestrais, as Archigregarinas.

Dois novos estágios do ciclo foram observados em cultura celular e *in vivo*. Um destes estágios pode ser descrito como uma massa multinucleada que varia em tamanho e possui margens irregulares, e que pode ser formada do agregamento e possível fusão de esporozoítos. Esporozoítos têm sido observados juntos em múltiplos números para formar uma nova massa multinucleada. Uma possível fusão de dois gamontes em um processo similar à sizígia em gregarinas também foi observado.

1.3.5 Patogenicidade e Patologia

A criptosporidiose ocorre como doença respiratória, gastrointestinal ou renal, em galinhas. A doença respiratória é observada mais frequentemente, sendo a forma mais severa. Sinais clínicos consistem em depressão, tosse, espirro ou dispnéia, acúmulo de muco nas cavidades oculonasais, traquéia, pulmão e sacos aéreos. Aves afetadas severamente podem ficar incapacitadas quanto à locomoção, permanecendo deitadas. O lúmen dos órgãos do trato respiratório contém exsudato mucocelular. Desnudamento focal ou difuso dos cílios

da traquéia resulta na diminuição ou completa perda da função respiratória mucociliar. Queda de peso é observada durante a fase aguda da doença (2 a 3 semanas PI), embora após a recuperação não haja diferença significativa em comparação às aves saudáveis.

Na maioria dos casos, a presença do *Cryptosporidium* no intestino e órgãos associados não é acompanhada por sinais clínicos da doença. Em alguns casos, são observadas diarreia, caquexia, fraqueza ou falha na recuperação. Nesses casos, as lesões incluem atrofia ou achatamento das vilosidades, acompanhadas de infiltrado de células inflamatórias na lâmina própria ou vilosidade espessada e aumentada, coberta de material mucóide espesso. Criptosporidiose na bursa de Fabricius pode resultar na hipertrofia ou hiperplasia das células epiteliais e pode estar associada com aumento na mortalidade dos frangos.

Apenas um caso de criptosporidiose renal está registrado na literatura. Os parasitas foram encontrados nos ureteres, tubos coletores e túbulos distais dos rins.

1.3.6 Associação com Outros Agentes

Interações em baixos níveis entre parasitas, bactérias, vírus e micotoxinas podem causar desequilíbrios nutricionais, fisiológicos e imunológicos (RUFF, 1989). O efeito dessas interações podem ser mensuráveis e economicamente significativos, mesmo quando nenhuma dessas interações está presente em nível suficiente para produzir efeitos por si só. Entre esses agentes, podem estar *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, Vírus das doenças de Marek, Gumboro, bronquite infecciosa, Reovirus, e numerosas micotoxinas (RUFF, 1989, CURRENT et al., 1987).

Fletcher et al. (1975) fizeram o primeiro relato da infecção na bursa de Fabricius em frangos com 6, 7 e 17 semanas de idade. Aves de 7 e 17 semanas tinham associação com Doença de Marek.

Infecção respiratória em frangos foi encontrada pela primeira vez por Dhillon et al. (1981) em aves com 7 semanas. Um adenovírus foi isolado da traquéia, no entanto, seu efeito no curso da infecção não pôde ser determinado.

Randall (1982) detectou infecção na bursa de Fabricius e traquéia em aves entre 4 e 7 semanas que haviam sofrido desafio com o vírus da Doença de Gumboro. Isso sugere, segundo o autor, que a imunossupressão provocada pela Doença de Gumboro poderia ter predisposto as aves à infecção.

Gorham et al. (1987) examinaram a incidência da criptosporidiose e aerossaculite em frangos de corte. Não foi possível, no entanto, determinar se a criptosporidiose foi a causa do maior taxa de mortalidade ou somente um achado incidental, uma vez que havia a presença de aerossaculite e, possivelmente, de outros agentes infecciosos.

Nakamura e Abe (1988) descreveram pela primeira vez a criptosporidiose pulmonar e renal em poedeiras de 4 meses de idade. Lesões de aspergilose foram encontradas nos pulmões e nos rins de uma ave.

Goodwin et al. (1988) em um estudo da criptosporidiose respiratória em frangos, encontraram aves afetadas com 17 a 52 dias de idade. Bactérias como *E. coli*, adenovírus, e outros agentes foram isolados em associação com o *Cryptosporidium*, o que levou o autor a especular que o parasita poderia induzir falha no aparato muco-ciliar, prejudicando a remoção normal de secreções e, com isso, predispondo à instalação de outros agentes patogênicos.

Vieira (2010), em um estudo paralelo à este, sobre a helmintofauna dos frangos de criação colonial/caipira, encontrou uma ocorrência de 225 aves infectadas, no total de 262 aves examinadas (85,9%). Este dado é importante quando se trata de aves jovens, devido ao grande parasitismo e espoliação, diminuindo assim a imunidade do hospedeiro, facilitando a infecção pelo *Cryptosporidium*.

1.3.7 Epidemiologia em Humanos e Aves

A criptosporidiose ocorre em todo o mundo. Estudos epidemiológicos em áreas em particular têm indicado que a porcentagem da população humana afetada em algum momento da vida pode variar de 20% a 90% (DILLINGHAM et al., 2002).

O *Cryptosporidium* tem sido detectado em águas servidas e em redes de abastecimento na América do Norte e Europa, e vários surtos têm sido relatados em humanos (STERLING, 1990; WIDMER et al., 1996; SMITH; ROSE, 1998). Isso pode ser explicado pelo grande número de oocistos excretados por hospedeiros infectados (CHAPPEL et al., 1996), a baixa dosagem necessária para a infecção (DUPONT et al. 1995), a falta ou diminuição da especificidade do hospedeiro (O'DONOGHUE, 1995), o pequeno tamanho dos oocistos (CURRENT; GARCIA, 1991), a resistência dos oocistos às etapas de filtração e desinfecção nas estações de tratamento (KORICH et al., 1990; ROBERTSON et al., 1992; FAYER, 1994; FAYER; NERAD, 1996).

A água pode servir como uma via de transmissão de oocistos nas aves. *C. baileyi* pode infectar uma grande variedade de hospedeiros, e aves silvestres podem desempenhar um papel importante na epidemiologia da criptosporidiose. Roedores parecem ser igualmente suscetíveis a *C. meleagridis*, assim, os ratos e ratazanas também podem servir como carreadores (DARABUS, 1997). À semelhança de *Eimeria* spp. besouros podem servir como vetores (GOODWIN; WALTMAN, 1996).

Os oocistos são extremamente resistentes no meio ambiente e aos desinfetantes (SUNDERMANN et al., 1987; KORICH et al., 1990.) e nenhuma droga eficaz está disponível para o controle da criptosporidiose nas aves (FAYER, 1993, 1997; TZIPORI, 1998). Portanto, é muito difícil eliminar o *Cryptosporidium* uma vez estabelecida a contaminação do ambiente.

1.3.8 Prevalência nas Aves

Espécies do gênero *Cryptosporidium* têm sido observadas em uma grande variedade de animais e no ser humano. Até o momento, 19 espécies de *Cryptosporidium* são consideradas válidas com base nas diferenças morfológicas dos oocistos, local de infecção, especificidade de hospedeiros e diferenças genéticas (RYAN; XIAO, 2009, FAYER, 2010, RYAN, 2010).

O *Cryptosporidium* tem sido encontrado em mais de 30 espécies de aves (SRÉTER; VARGA, 2000), entre silvestres e domésticas, como os Anseriformes, Charadriiformes, Columbiformes, Galliformes, Passeriformes, Psittaciformes e Struthiniformes, na Ásia, Austrália, Europa e América (GOODWIN, 1989).

No entanto, poucos estudos foram feitos observando a diversidade do *Cryptosporidium* spp. perante aves hospedeiras. Atualmente, apenas três espécies de *Cryptosporidium* foram reconhecidas em aves: *C. meleagridis*, *C. baileyi* e *C. galli*. Estas três espécies podem infectar um grande número de espécies de aves, mas tem seus locais preferidos no organismo dos hospedeiros. Mesmo que *C. meleagridis* e *C. baileyi* sejam encontrados no intestino grosso e bursa, apenas *C. baileyi* também é encontrado no trato respiratório. Em contraste, *C. galli* infecta apenas o proventrículo (XIAO et al., 2004).

Tzipori e Campbell (1981) encontraram, através do teste de imunofluorescência indireta (IFI), anticorpos contra o *Cryptosporidium* em 88% das aves testadas. Em levantamento histológico feito por Goodwin e Brown (1988), 6,4% das aves examinadas foram positivas para o parasita, sendo a criptosporidiose a infecção por

protozoários mais comum após a eimeriose. Snyder et al. (1988), analisaram o soro de aves, através de ELISA indireto, e encontraram uma média de 24% de aves positivas.

O primeiro relato de infecção em perus foi feito por Slavin em 1955, quando encontrou o parasita no intestino delgado destas aves.

Tham et al. (1982) relataram a infecção em codornas. As aves apresentavam prostração, espirros e dificuldade respiratória, com morbidade de 50% e mortalidade de 10%. Estas aves apresentam também diarreia conjuntamente aos sinais clínicos no trato respiratório. Patos (MASON, 1986; O'DONOGHUE et al., 1987) e gansos (PROCTOR e KEMP, 1974) também são acometidos pelo parasita.

A prevalência de infecção foi de 50-59% em patos e gansos, 20-60% em faisões e 22-100% em gaivotas na Europa (PAVLÁSEK; KOZAKIEWICZ, 1989; PAVLÁSEK, 1993; SMITH et al., 1993; RICHTER, 1991; RICHTER et al., 1994).

Desde sua primeira observação do parasita em galinhas por Tyzzer em 1929, muitos casos nestas aves vem sendo descritos. Em trabalho realizado por Itakura et al. (1984) no Japão, a criptosporidiose foi diagnosticada desde 1975 em frangos de corte e 1976 em poedeiras. Os tecidos mais afetados foram bursa de Fabricius (85%), trato respiratório (41%) e ceco (11%).

Na Grécia, Papadoulou et al. (1988) encontraram em 70 frangos examinados, 17 infectados, sendo que 15 aves foram positivas em raspados intestinais, 10 em raspados traqueais e 10 em raspados de bursa de Fabricius. Destas aves, 9 tinham problemas respiratórios, 5 diarreia, e 3 apresentavam ambos os problemas.

Morbidade superior a 90% foi observada por Fernandez et al. (1990) na Espanha, em um lote de poedeiras com sinais respiratórios. O parasita foi encontrado na superfície epitelial da traquéia e glândulas esofagianas.

A criptosporidiose intestinal em frangos é de ocorrência rara, sendo poucos os relatos de infecção natural no intestino delgado (GOODWIN, 1988; NACIRI; MAZZELA, 1988; GOODWIN; BROWN, 1989), ceco (TYZZER, 1929; FLETCHER et al., 1975; ITAKURA et al., 1985) e reto (NACIRI; MAZZELA, 1988; GOODWIN; BROWN, 1989).

O *Cryptosporidium* foi encontrado em 22-88%, 10-100%, e 6-10% nos frangos analisados na Europa, EUA e Ásia, respectivamente (TZIPORI; CAMPBELL, 1981; CURRENT; SNYDER, 1988; LEY et al., 1988; PAPADOULOU et al., 1988; SNYDER et al., 1988; LINDSAY et al., 1991; RHEE et al., 1991; CHEN et al., 1996; GOODWIN et al., 1996).

Levantamento realizado com soro de frangos de corte para *C. baileyi* em Delaware, Maryland e Virgínia, nos Estados Unidos (1988), indicaram 38% de positividade em aves de 42 dias e 50% em aves de 63 dias. O exame direto do soro em 454 galpões de frango de corte foi positivo em 22% (1988). Exame de corte histológico de bursa de Fabricius em 139 frangos de corte na Escócia foi de 18,7% de positividade (1982). Outro levantamento realizado através de corte histológico, em 1065 frangos de corte, mostrou 6,4% de positividade na Geórgia, EUA (1988). Um levantamento realizado através de observação direta do parasita pelo método de auramina-O, realizado na Carolina do Norte, EUA, em frangos de corte (1988), mostrou positividade em 27,3% dos frangos, 10% em reprodutoras de frango de corte e 5,9% em matrizes reprodutoras (KAWAZOE, 2000).

Ley et al. (1988) estudaram a incidência com a utilização de esfregaços de fezes corados por Auramina-O, sendo positivas 13,71% amostras de frangos de corte, 3,54% de matrizes, 1,34% de poedeiras, 50% de pavões, 18,18% de psitacídeos e 50% de anseriformes.

Oocistos de *C. meleagridis* isolados de frangos e perus foram infectantes para várias espécies de mamíferos, incluindo camundongos, ratos, coelhos e gado bovino (DARABUS, 1997; SRÉTER et al., 1997). Outro estudo mostra moderada infecção por *C. parvum* em frangos (SRÉTER et al. 1997). Assim, o autor concluiu que *C. meleagridis* está relacionado com cepas zoonóticas de *C. parvum*.

Para determinar a gama de hospedeiros para uma espécie ou genótipo de *Cryptosporidium*, oocistos são obtidos a partir de animais de uma espécie e inoculados em animais de outra espécie. Se o ciclo se completar e oocistos excretados forem geneticamente idênticos aos do início da infecção, então a gama de hospedeiros é estendida, o que pode explicar o potencial zoonótico do parasita. Geralmente, isolados de uma classe de vertebrados não são infectantes para outras classes. No entanto, a diversidade de hospedeiros já conhecidos faz com que seja impossível estabelecer este como um gênero espécie-específico. *C. meleagridis* foi identificados em humanos imunocomprometidos *C. parvum* não infecta patos ou gansos, mas frangos (PEDRAZA-DIAZ et al., 2000; GUYOT et al., 2001; XIAO et al., 2001; GATEI et al., 2003).

Os comunicados contraditórios aumentam a confusão em relação à gama de espécies hospedeiras suscetíveis ao *C. parvum*. Enquanto um estudo indicou que oocistos infectantes obtidos de humanos infectaram peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos, baseados em se encontrar oocistos viáveis nas fezes destes hospedeiros após inoculação oral (ARCAY et al., 1995), outro estudo concluiu que oocistos de *C. parvum* obtidos de bovinos

não foram infectantes para peixes, anfíbios ou répteis, mas simplesmente passaram através do trato digestivo sem infectar os enterócitos (GRACZYK et al., 1996a).

No Brasil, pouco se sabe sobre a presença desse protozoário em aves em geral, a não ser em *Gallus gallus domesticus* (MEIRELES; FIGUEIREDO, 1992) e em *Strutio camelus* (FAGUNDES et al., 2004).

1.3.9 Potencial Zoonótico

Em humanos, após os primeiros relatos de infecções por *Cryptosporidium* em 1976 (NIME et al., 1976; MEISEL et al., 1976), muitos casos têm sido descritos em indivíduos imunodeficientes pelo vírus HIV e em crianças. A maioria da literatura descreve a doença como uma diarreia severa e prolongada nesses indivíduos, e de curta duração em pessoas imunocompetentes (ANGUS, 1983; TZIPORI, 1983).

Cinco espécies de *Cryptosporidium* spp. são responsáveis pela maioria das infecções em humanos, incluindo *C. hominis*, *C. parvum*, *C. meleagridis*, *C. canis* e *C. felis*. Elas foram inicialmente encontradas em crianças no Peru, em um estudo de Cohort (XIAO et al., 2001), e também em crianças com diarreia no Quênia (GATEI et al., 2006). Em um estudo com crianças em Uganda, foram apenas reportados *C. hominis*, *C. parvum* e *C. meleagridis* (TUMWINE et al., 2003). Essas cinco espécies de *Cryptosporidium* spp. também tem sido encontradas em pessoas imunocomprometidas em países em desenvolvimento. Estudos na Tailândia, Índia e Peru mostraram a presença destas cinco espécies em adultos portadores de HIV (GATEI et al., 2002; CAMA et al., 2003). Em Lima, Peru, não houve diferença significativa entre a distribuição das cinco espécies entre crianças e adultos portadores de HIV (XIAO et al., 2001; CAMA et al., 2003).

Em Lima (Peru) e Bangkok (Tailândia), *C. meleagridis* é a espécie mais prevalente, assim como *C. parvum*, sendo responsável por 10–20% dos casos humanos de criptosporidiose (XIAO et al., 2001; CAMA et al., 2003).

Múltiplos subtipos de *C. meleagridis* foram vistos em humanos em diferentes regiões (GLABERMAN et al., 2001).

1.3.10 Diagnóstico

O parasita pode ser identificado através dos estágios de desenvolvimento em material fresco, fixado em formalina 10% ou acetato de sódio-ácidoacético-formalina (SAF) (CURRENT, 1990).

Segundo Current (1985) o *Cryptosporidium*, quando armazenado sob refrigeração em dicromato de potássio 2,5% ou formalina 10%, permanece viável, para fins de diagnóstico, por pelo menos um ano. O exame a fresco dos oocistos pode ser realizado pelo método de Sheather (1923) flutuação em solução saturada de sacarose.

A coloração dos oocistos nos fluidos exsudativos ou nas fezes pode ser realizada com corantes ácido-resistentes (Ziehl-Neelsen, safranina-azul de metileno, auramina-O, etc.). Os oocistos serão visualizados em vermelho contra um fundo verde-azulado na coloração de Ziehl-Neelsen. Utilizando o método de Giemsa, os oocistos aparecem com citoplasma azul-esverdeado com 2 a 5 grânulos vermelhos. Porém, a coloração de Giemsa tem o inconveniente de ter a visualização mais difícil, e ainda dá origem a confusão com leveduras, devido à similaridade com os oocistos. Na coloração safranina-azul de metileno, os oocistos se coram de laranja-róseo, e os esporozoítos se coram mais escuros e às vezes se arranjam na periferia, dando ao oocisto a aparência de ferradura.

Também pode ser realizado através de corte histológico do tecido infectado. Corados com hematoxilina e eosina, o *Cryptosporidium* aparecer com 2,0-7,5 μm , corpos basofílicos dentro da borda em escova das células epiteliais. Colorações de Giemsa, azul de toluidina, ácido periódico de Schiff, Grocott e Ziehl-Neelsen modificado também podem ser utilizadas.

Raspados de mucosa (*swabs* ou *imprints*) podem ser feitos em animais até 24-36 horas após a morte, e corados por várias técnicas, como Giemsa, Ziehl-Neelsen modificada, anilina carbol-metil violeta, tartrazina e Kinyoun. A utilização de raspado oferece várias vantagens, como rapidez, simplicidade e facilidade na identificação do parasito (LATIMER et al., 1988).

Microscopia eletrônica de transmissão facilita a identificação dos estágios de desenvolvimento que residem dentro dos vacúolos parasitóforos confinados à região dos microvilos das células epiteliais (SRÉTER; VARGA, 2000).

Pode-se proceder ao exame imunológico, através da pesquisa de anticorpos imunofluorescentes (IFI).

Para o método de reação de ELISA, pode-se utilizar soro anti-IgG ou anti-IgM – *Cryptosporidium*. Este método tem se mostrado específico e sensível na fase aguda ou infecção recente no hospedeiro. A sensibilidade e a especificidade de alguns testes de ELISA (CURRENT; SNYDER, 1988; GRACZYK et al., 1996b; HORNOK et al., 1996, 1998; SRÉTER et al., 1997) torna-os uma boa ferramenta para se utilizar em inquéritos epidemiológicos baseados na sorologia ou na triagem de amostras ambientais.

Levando em consideração a baixa sensibilidade de exames coproparasitológicos (5000-50000 oocistos/grama de fezes), e os métodos de análise de amostras ambientais frequentemente usados, assim como a similaridade morfológica entre as espécies do gênero *Cryptosporidium*, métodos moleculares podem ser úteis no estudo epidemiológico desse parasita (Webster, 1993)

O sequenciamento do DNA forneceu os dados para identificar variantes genéticas afetando diversos hospedeiros, ou mesmo a mesma espécie de hospedeiro (XIAO et al., 2004).

1.3.11 Tratamento e Controle

Tentativas no tratamento efetivo da criptosporidiose com vários medicamentos, como antibióticos e drogas anticoccidianas, não foram eficazes. Uma alternativa para o controle dessa doença, com a finalidade de diminuir a presença de oocistos de *C. baileyi*, foi avaliado através do uso de desinfetantes comerciais. A exposição dos oocistos a 50% (v/v) de amônia ou alvejante comercial em água, durante pelo menos 30 minutos, preveniu a excitação da maioria dos esporozoítos. Em um caso de diarreia e mortalidade ocorridos em codornas brancas, a prevenção foi realizada através da limpeza das gaiolas e exposição a alvejantes comerciais (KAWAZOE, 2000).

Os protozoários são responsáveis por considerável morbidade e mortalidade em animais domésticos e de produção. Prevenir infecções envolve a exposição deliberada a parasitas virulentos ou atenuados, para que a imunidade a uma infecção natural se estabeleça o quanto antes. As vacinas podem não ser efetivas ou praticas no caso de algumas doenças, como a criptosporidiose, que primariamente afligem indivíduos imunocomprometidos ou com um sistema imune incompletamente desenvolvido (JENKINS, 2001).

Para controlar infecções em populações animais, uma estratégia pode ser modificar este desequilíbrio movendo os animais para áreas livres de infecção. No entanto,

quando há um grande número de animais confinados em uma área, isto se torna economicamente inviável.

Pelo fato das infecções pelo *Cryptosporidium* serem iniciadas pela ingestão ou inalação dos oocistos, medidas para prevenir ou limitar a propagação destas infecções devem ser pautadas em eliminar ou reduzir a contaminação dos oocistos no ambiente. Não existem drogas efetivas para profilaxia ou terapêutica que irão prevenir ou cessar a eliminação dos oocistos infectantes pelos indivíduos infectados. Higiene, incluindo a desinfecção, permanece como a mais efetiva ferramenta de controle.

Efeitos benéficos potenciais em reduzir o número de oocistos em águas superficiais tem sido associados com a construção de faixas de proteção vegetativas (ATWILL et al., 2002), represas (THURSTON et al., 2001; NOKES et al., 2003; KARIM et al., 2004; BETANCOURT; ROSE, 2005) e lagoas (GRIMASON et al., 1993; ARAKI et al., 2001).

Sob condições experimentais, rotíferos (Metazoa) que ocupam nichos na água do mar, rios, lagos e lagoas, e protozoários predadores foram encontrados ingerindo oocistos de *C. parvum*. (FAYER et al., 2000; STOTT et al., 2003). Ainda não é sabido se a digestão destes predadores invertebrados destruiria os oocistos.

Moluscos, incluindo ostras, mariscos, mexilhões e berbigões são filtradores que removem pequenas partículas do meio ambiente aquático. Oocistos tem sido detectados em guelras e no divertículo digestivo de águas-vivas de água-doce, estuários, e de oceanos em várias localidades na América do Norte e Europa (FAYER et al., 2004). O impacto global sobre a redução do número de oocistos, e se estes perderiam a infectividade após a retenção pelo marisco é desconhecido.

1.4 REFERÊNCIAS

ANGUS, K.W. Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds: a review. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 76, p. 62-70, 1983.

ARAKI, S.; MARTIN-GOMEZ, S.; BECARES, E.; LUIS-CALABUIG, E.; ROJO-VASQUEZ, F. Effect of high-rate algal ponds on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, p.3322–3324, 2001.

ARCAY, L.; BAEZ DE BORGES, E.; BRUZUAL, E. Cryptosporidiosis experimental en la escala de vertebrados. I. Infecciones experimentales, II. Estudio histopatológico. **Parasitologia al Dia**, v.19, p.20–29, 1995.

ATWILL, E.R.; HOU, L.; KARLE, B.M.; HARTER, T.; TATE, K.W.; DAHLGREN, R.A. Transport of *Cryptosporidium parvum* oocysts through vegetated buffer strips and estimated filtration efficiency. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, p.5517–5527, 2002.

ÁVILA, V.S.; ALBINO, J.J.; SAATKAMP, M.G. Instrução Técnica para o Avicultor - **EMBRAPA Suínos e Aves**, P. imprensa: Concórdia, SC (Brasil), n.34, 2p, 2007.

BARTA, J.R.; JENKINS, M.C.; DANFORTH, H.D. Evolutionary relationship of avian *Eimeria* species among other apicomplexan protozoan: monophyly of the Apicomplexa is supported. **Molecular Biology Evolution**, v.8, p. 345-355, 1990.

BARTA, J.R.; THOMPSON, R.C. What is *Cryptosporidium*? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. **Trends in Parasitology**, v.22, p.463–468, 2006.

BETANCOURT, W.Q.; ROSE, J.B. Microbiological assessment of ambient waters and proposed water sources for restoration of a Florida wetland. **Journal of Water and Health**, v.32, p.89–100, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Ofício Circular DOI/DIPOA n°007/99, de 19 de maio de 1999**. Dispõe sobre Registro do Produto "Frango Caipira ou Frango Colonial" ou "Frango Tipo ou Estilo Caipira" ou "Tipo ou Estilo Colonial". Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1999.

CAI, J.; COLLINS, M.D.; McDONALD, V.; THOMPSON, D.E. PCR cloning and nucleotide sequence determination of the 18S rRNA genes and internal transcribed spacer 1 of the protozoan parasites *Cryptosporidium parvum* and *C. muris*. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1131, p. 317-320, 1992.

CAMA, V.A.; BERN, C.; SULAIMAN, I.M.; GILMAN, R.H.; TICONA, E.; VIVAR, A.; KAWAI, V.; VARGAS, D.; ZHOU, L.; XIAO, L. *Cryptosporidium* species and genotypes in HIV-positive patients in Lima, Peru. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 50 (Suppl.), p.531–533, 2003.

CARDOZO, S. P.; YAMAMURA, M. H. Parasitas em produção de frangos no sistema tipo colonial/caipira no Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 63-74, jan./mar. 2004.

CARRENO, R.A.; MARTIN, D.S.; BARTA, J.R. *Cryptosporidium* is more closely related to the gregarines than to coccidia as shown by phylogenetic analysis of apicomplexan parasites inferred using small-subunit ribosomal RNA gene sequences. **Parasitology Research**, v.85, p.899–904, 1999.

CHAPPEL, C.L.; OKHUYSEN, P.C.; STERLING, C.R.; DUPONT, H.L.; *Cryptosporidium parvum*. Intensity of infection and oocyst excretion patterns in healthy volunteers. **Journal of Infectious Diseases**, v.173, p.232-236, 1996.

CHEN, Z.G., WU, X.Z., SHI, T.W., HUANG, B., ZAO, Q.P., HE, L.H. Survey and artificial infection test of cryptosporidiosis in chickens and ducks in the Shanghai region. **Chinese Journal of Veterinary Science and Technology**, v.26, p.17-19, 1996.

CURRENT, W.L. Criptosporidiosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 187, p.1334-1338, 1985.

CURRENT, W.L.; UPTON, S.J.; HAYNES, T.B. The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. **Journal of Protozoology**, v.33, p.289-296, 1986.

CURRENT, W.L.; SNYDER, D.B. Development and serologic evaluation of acquired immunity to *Cryptosporidium baileyi* by broiler chickens. **Poultry Science**, v.67, p.720-729, 1988.

CURRENT, W.L. Techniques and laboratory maintenance of *Cryptosporidium*. In: DUBEY, J.P.; SPEER, C.A.; FAYER, R. (Eds.), **Cryptosporidiosis of Man and Animals**. CRC Press, Boca Raton, FL, p.59-82, 1990.

CURRENT, W.L.; GARCIA, L.S. Cryptosporidiosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.4, p.325-358, 1991.

DARABUS, G. Experimental studies of inter- and intraspecific transmission of *Cryptosporidium parvum* and *C. meleagridis*. **Revista Romana de Medicina Veterinaria**, v.7, p.155-160, 1997.

DE GRAAF, D.C.; VANOPDENBOSCHA, E.; ORTEGA-MORA, L. M.; HAYET ABBASSI, H.; PEETERS, J.E. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1269-1287, 1999.

DERICH, M. A. Estratégias na indústria avícola para o controle de doenças respiratórias e entéricas. **Poultry Science**, v.77, n.8, p.1176-1180, 1998.

DHILLON, A.S.; THACKER, H.I.; DIETZEL, A.V. Respiratory criptosporidiosis in broiler chickens. **Avian Diseases**, v.256, p.747-751, 1981.

DILLINGHAM, R.A.; LIMA, A.A.; GUERRANT, R.L. Cryptosporidiosis: Epidemiology and impact. **Microbes and Infection**, v.4, p.1059-1066, 2002.

DITRICH, O.; PALKOVIC, L.; STERBA, J.; PROKOPIC, J.; LOUDOVA, J.; GIBODA, M. The first finding of *Cryptosporidium baileyi* in man. **Parasitology Research**, v.77, p.44-47, 1991.

DUPONT, H.L.; CHAPPEL, C.L.; STERLING, C.R.; OKHUYSEN, P.C.; ROSE, J.B.; JAKUBOWSKI, W.I. The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. **New England Journal of Medicine**, v.332, p.855-859, 1995.

FAGUNDES, T.F.; BATH, F.V.C.; SOLEIRO, C.A.; FAMADAS, K.M.; MENEZES, R.C.A.A. Inquérito preliminar sobre parasitas de avestruzes (*Sthruatio 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.; UNGAR, BLP. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. **Microbiology Review**, v.50, p. 458-483, 1986.

FAYER, R. Current strategies to meet a widespread problem. In: **Proceedings of 6th. International Coccidiosis Conference**, p.95-101, 1993.

FAYER, R. Effects of high temperature on infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Applied Environmental Microbiology**, v.60, p.2732-2735, 1994.

FAYER, R.; NERAD, T. Effects of low temperature on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Applied Environmental Microbiology** v.62, p.1431-1433. 1996.

FAYER, R. ***Cryptosporidium* and cryptosporidiosis**. CRC Press, Boca Raton, FL, 272p., 1997.

FAYER, R.; TROUT, J.M.; WALSH, E.; COLE, R. Rotifers ingest oocysts of *Cryptosporidium parvum*. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v.47, p.161–163, 2000.

FAYER, R.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. Zoonotic protozoa, from land to sea. **Trends in Parasitology**, v.20, p.531–536, 2004.

FAYER, R.; XIAO, L. ***Cryptosporidium* and cryptosporidiosis**. CRC Press, Boca Raton, FL, 580p., 2nd ed., 2007.

FAYER, R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. **Experimental Parasitology**, v.124, p.90–97, 2010.

FERNANDÉZ, A.; QUEZADA, M.; GÓMEZ, M.A.; NAVARRO, J.A.; RODRÍGUEZ, J.; SIERRA, M. A. Cryptosporidiosis in chickens from southern Spain. **Avian Diseases**, v.34, p.224-227, 1990.

FIGUEIREDO, E. A. P.; AVILA, V. S.; ROSA, P. S.; JAENISCH, F. R. F.; PAIVA, D. P. **Criação dos frangos de corte embrapa 041**. Concórdia: EMBRAPA SUÍNOS E AVES, 2001. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/>>. Acesso em: 7 jan. 2010.

FLETCHER, O.J.; MUNNEL, J.F.; PAGE, R.K. Cryptosporidiosis of the bursa of Fabricius of chickens. **Avian Diseases**, v.19, p.630-639, 1975.

GATEI, W.; SUPUTTAMONGKOL, Y.; WAYWA, D.; ASHFORD, R.W.; BAILEY, J.W.; GREENSILL, J.; BEECHING, N.J.; HART, C.A. Zoonotic species of *Cryptosporidium* are as prevalent as the anthroponotic in HIV-infected patients in Thailand. **Annals of Tropical and Medical Parasitology**, v.96, p.797–802, 2002.

GATEI, W.; GREENSILL, J.; ASHFORD, R.W.; CUEVAS, L.E.; PARRY, C.M.; CUNLIFFE, N.A.; BEECHING, N.J.; HART, C.A. Molecular analysis of the 18S rRNA gene of *Cryptosporidium* parasites from patients with or without human immunodeficiency virus infections living in Kenya, Malawi, Brazil, the United Kingdom, and Vietnam. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, p.1458–1462, 2003.

GATEI, W.; WAMAE, C.N.; MBAE, C.; WARURU, A.; MULINGE, E.; WAITHERA, T.; GATIKA, S.M.; KAMWATI, S.K.; REVATHI, G.; HART, C.A. Cryptosporidiosis: prevalence, genotype analysis, and symptoms associated with infections in children in Kenya. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.75, p.78–82, 2006.

GLABERMAN, S., SULAIMAN, I.M., BERN, C., LIMOR, J., PENG, M.M., MORGAN, U., GILMAN, R., LAL, A.A. AND XIAO, L. A multilocus genotypic analysis of *Cryptosporidium meleagridis*. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 48 (Suppl.), p.19S–22S, 2001.

GLOBOAVES. **Manual de manejo**: linha colonial. 2008. Disponível em:
<<http://www2.globoaves.com.br/?id=8>>. Acesso em: 5 jan. 2010.

GOODWIN, M.A. Small-intestinal cryptosporidiosis in a chicken. **Avian Diseases**, v.32, p.844-848, 1988.

GOODWIN, M.A.; BROWN, J. Histologic incidence and distribution of *Cryptosporidium* spp Infection in chickens. **Avian Diseases**, v.32, p.365-369, 1988.

GOODWIN, M.A.; LATIMER, K.S.; BROWN, J. Respiratory criptosporidiosis in chickens. **Poultry Science**, v. 67, p.1684-1693, 1988.

GOODWIN, M.A. Cryptosporidium in birds: a review. **Avian Pathology**, v.18, p.365-384, 1989.

GOODWIN, M.A.; BROWN, J. Instestinal cryptosporidiosis in chickens. **Avian Diseases**, v. 33, p.770-777, 1989.

GOODWIN, M.A.; BROWN, J.; RESURRECCION, R.S.; SMITH, J.A. Respiratory coccidiosis (*Cryptosporidium baileyi*) among northern Georgia broilers in one company. **Avian Diseases**, v.40, p.572-575, 1996.

GOODWIN, M.A.; WALTMAN, W.D. Transmission of *Eimeria* viruses, and bacteria to chicks. Darkling Beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.5, p.51-55, 1996.

GORHAM, S.L.; MALLINSON, E.T.; SNYDER, D.B. Cryptosporidia in the bursa of Fabricius – a correlation with mortality rates in the broiler chickens. **Avian Pathology**, v.16, p.205-211, 1987.

GRACZYK, T.K.; FAYER, R.; CRANFIELD, M.R. *Cryptosporidium parvum* is not transmissible to fish, amphibia, or reptiles. *Journal of Parasitology*, v.82, p.748–751, 1996a.

GRACZYK, T.K.; CRANFIELD, M.R.; FAYER, R. Evaluation of commercial enzyme immunoassay (EIA) and immunofluorescence antibody (IFA) test kits for detection of *Cryptosporidium* oocysts of species other than *Cryptosporidium parvum*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.54, p.274-279, 1996b.

GRIMASON, A.; SMITH, H.; THITAI, W.; SMITH, P.; JACKSON, M.; GIRDWOOD, R. Occurrence and removal of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts in Kenyan waste stabilisation ponds. **Water Science and Technology**. v.27, p.97–104, 1993

GUYOT, K.; FOLLET-DUMOULIN, A.; RECORT, C.; LELIEVRE, C.; CAILLIEZ, J.C.; DEI-CAS, E. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from humans in France. *Journal of Clinical Microbiology*, v.39, p.3472–3480, 2001.

HAMPTON, J.C.; ROSARIO, B. The attachment of protozoan parasites to intestinal epithelial cells of the mouse. **Journal of Parasitology**, v. 52, p. 939-949, 1966.

HIJJAWI, N.S.; MELONI, B.P.; RYAN, U.M.; OLSON, M.E.; THOMPSON, R.C.A. Successful in vitro cultivation of *Cryptosporidium andersoni*: evidence for the existence of

novel extracellular stages in the life cycle and implications for the classification of *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*, v.32, p.1719–1726, 2002.

HORNOK, S.; SRÉTER, T.; BÉKÉSI, L.; SZÉLL, Z.; VARGA, I. Attempts to immunize chickens with *Cryptosporidium baileyi* oocyst extract. *Journal of Parasitology*, v.82, p.650-652, 1996.

HORNOK, S.; BITAY, Z.; SZÉLL, Z.; VARGA, I. Assessment of maternal immunity to *Cryptosporidium baileyi* in chickens. *Veterinary Parasitology*, v.79, p.203-212, 1998.

ITAKURA, C.; GORYO, M.; UEMURA, T. Cryptosporidial infection in chickens. *Avian Pathology*, v.13, p. 487-499, 1984.

ITAKURA, C.; NAKAMURA, H.; UEMURA, T. Ultrastructure of cryptosporidial life cycle in chicken host cells. *Avian Pathology*, v.14, p.237-249, 1985.

JACOBSEN, G.; BARCELOS, A. S.; FLÔRES, M.L.; SEGABINAZI, S.D.; LAGAGGIO, V.R.A. *Cryptosporidium* sp. em intestinos, bursa de Fabricius e traquéia de frangos (*Gallus gallus*). *Ciência Rural*, v.36, n.2, p.682-684, 2006.

JELLISON, K.L.; DISTEL, D.L.; HEMOND, H.F.; SCHAUER, D.B. Phylogenetic analysis of the hypervariable region of the 18S rRNA gene of *Cryptosporidium* oocysts in feces of Canada geese (*Branta canadensis*): evidence for five novel genotypes. *Applied and Environmental Microbiology*, v.70, p.452–458, 2004.

JENKINS, M.C. Advances and prospects for subunit vaccines against protozoa of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, v.101, p.291-310, 2001.

JOHNSON, A.M.; FIELKE, R.; LUMB, R.; BAVERTOCK, P.R.; Phylogenic relationship of *Cryptosporidium* determined by ribosomal RNA sequence comparison. *International Journal of Parasitology*, v.20, p. 141-147, 1990.

JULIÃO, A. M. Avaliação da composição centesimal e aceitação sensorial da carne de frangos de linhagens comercial e tipo colonial comercializadas em nível varejista. 2003. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Fluminense, Niterói.

KARIM, M.R.; MANSHADI, F.D.; KARISCAK, M.M.; GERBA, C.P. The persistence and removal of enteric pathogens in constructed wetlands. *Water Research*, v.38, p.1831–1837, 2004.

KAWAZOE, U. Criptosporidiose Aviária In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. (Eds.) **Doenças das Aves** Campinas: FACTA, p.402-406, 2000.

KORICH, D.G.; MEAD, J.R.; MADORE, M.S.; SINCLAIR, N.A.; STERLING, C.R.; Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* viability. *Applied and Environment Microbiology*, v.56, p.1423-1428, 1990.

LATIMER, K.S.; GOODWIN, M.A.; DAVIS, M.K. Rapid cytologic diagnosis of respiratory cryptosporidiosis in chickens. *Avian Diseases*, v.32, p.826-830, 1988.

LEANDER, B.S.; HARPER, J.T.; KEELING, P.J. Molecular phylogeny and surface morphology of marine aseptate gregarines (Apicomplexa): *Selenidium* spp. and *Lecudina* spp. **Journal of Parasitology**, v.89, p.1191–1205, 2003.

LEVINE, N.D. Some corrections of coccidium (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. **Journal of Parasitology**, v.66, p. 830-834, 1980.

LEY, D.H.; LEVY, M.G.; HUNTER, L.; CORBETT, W.; BARNES, H.J.; Cryptosporidia positive rates of avian necropsy accessions determined by examination of auramine-O-stained fecal smears. **Avian Diseases**, v.32, p.108-113, 1988.

LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; SUNDERMANN, C.A.; GIAMBRONE, J.J. Effect of broiler chicken age on susceptibility to experimentally induced *Cryptosporidium baileyi* infection. **American Journal of Veterinary Research**, v.49, p.1412-1414, 1988.

LINDSAY, D.S. 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.

LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; HOERR, F.J.; SMITH, P.C. Cryptosporidiosis in zoo and pet birds. **Journal of Protozoology**, v.38(S), p.180-181, 1991.

MASON, R.W. Conjunctival cryptosporidiosis in a duck. **Avian Diseases**, v. 30, p.598-600, 1986.

MEIRELES, M.V. Isolamento e identificação de protozoários do gênero *Cryptosporidium* TYZZER, 1907, (Apicomplexa; Cryptosporidiidae) em frangos de corte no estado do Rio de Janeiro. 110p. 1992. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Fluminense, Niterói.

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.

MEIRELES, M.V.; SOARES, R.M.; DOS SANTOS, M.M.; GENNARI, S.M. Biological studies and molecular characterization of a *Cryptosporidium* isolate from ostriches (*Struthio camelus*). **Journal of Parasitology**, v.92, p.623–626, 2006.

MEISEL J.L., PERERA D.R., MELIGRO C., RUBIN C.E. Overwhelming watery diarrhea associated with a cryptosporidium in an immunosuppressed patient. **Gastroenterology**, v.70, n.6, p.1156–1160, 1976.

MORGAN, U. M.; SARGENT, K. D.; DEPLAZES, P. Molecular characterization of *Cryptosporidium* from various hosts. **Parasitology**, v.117, p.31-37, 1998.

MORGAN, U.M.; MONIS, P.T.; XIAO, L.; LIMOR, J.; SULAIMAN, I.; RAIDAL, S.; O'DONOGHUE, P.; GASSEF, R.; MURRAY, A.; FAYER, R.; BLAGBURN, B.L.; LAL, A.A.; ANDREW-THOMPSON, R.C. Molecular and phylogenetic characterization of *Cryptosporidium* from birds. **International Journal of Parasitology**, v. 31, p. 289 - 296, 2001.

- NACIRI, M.; MAZZELA, O. Association cryptosporidiose et maladie de Marek chezdès poulets nains. **Recueil de Médecine Vétérinaire**, v.164, p.311-312, 1988.
- NAKAMURA, K.; ABE, F. Respiratory (especially pulmonary) and urinary infections of *Cryptosporidium* layers chickens. **Avian Pathology**, v.17, p.703-711, 1988.
- NG, J.; PAVLASEK, I.; RYAN, U. Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from avian hosts. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, p.7548–7553, 2006.
- NIME F.A., BUREK J.D., PAGE D.L., HOLSCHER M.A., YARDLEY J.H. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. **Gastroenterology**, v.4, p.592–598, 1976.
- NOKES, R.L.; GERBA, C.P.; KARPISCAK, M.M. Microbial water quality improvement by small scale onsite subsurface wetland treatment. **Journal of Environmental Science and Health**, A38, p.1849–1855, 2003.
- O'DONOGHUE, P.J.; THAM, V.L.; SARAM, W.G. *Cryptosporidium* infection in birds and mammals and attempted cross-transmission studies. **Veterinary Parasitology**, v. 26, p.1-11, 1987.
- O'DONOGHUE, P.J. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. **International Journal of Parasitology**, v.25, p.139-195, 1995.
- PANCIERA, R. J.; THOMASSEN, R. W.; GARNER, F.M. Cryptosporidial infection in a calf. **Veterinary Pathology**, v.8, p.479-484, 1971.
- PAPADOULOU, C.; XYLOURI, E.; ZISIDES, N. Cryptosporidial infection in broiler chickens in Greece. **Avian Diseases**, v.32, p.842-843, 1988.
- PAVLÁSEK, I.; KOZAKIEWICZ, L. Occurrence and localization of *Cryptosporidium* spp in spontaneously infected pheasants (*Phasianus colchicus*). **Folia Parasitologica**, v.36, p.287-288, 1989.
- PAVLÁSEK, I. The black-headed gull (*Larus ridibundus*), a new host for *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae). **Veterinary Medicine Praha**, v.38, p.629-638, 1993.
- PEDRAZA-DIAZ, S.; AMAR, C.; MCLAUCHLIN, J. The identification and characterisation of an unusual genotype of *Cryptosporidium* from human faeces as *Cryptosporidium meleagridis*. **FEMS Microbiology Letters**, v.189, p.189–194. 2000.
- POHLENTZ, J.; BEMRICK, W. J.; MOON, H. W.; CHEVILLE, N. F. Bovine Cryptosporidiosis: a transmission and scanning electron microscopic study of some stages in the life cycle and the host-parasite relationship. **Veterinary Parasitology**, v.8, p.417-427, 1978.
- PROCTOR, J.S.; KEMP, R.L. *Cryptosporidium anserinum* spp n. (Sporozoa) in a domestic goose *Anser anser* L., from Iowa. **Journal of Protozoology**, v.21. p.654-666, 1974.
- RANDALL, C.J. Cryptosporidiosis of the bursa of Fabricius and trachea in broilers. **Avian Pathology**, v.11, p.95-102, 1982.

RHEE, J.K.; SEU, Y.S.; PARK, B.C.; Isolation and identification of *Cryptosporidium* from various animals in Korea. **Korean Journal of Parasitology**, v.29, p.139-148, 1991.

RICHTER, D. Untersuchungen zum Vorkommen und zur Bedeutung von Kryptosporidien bei Hausflügel, Zier- und Wildvögeln. **Thesis**, Justus Liebig Universität, Giessen, 107p., 1991.

RICHTER, D.; WIEGAND-TRIPP, G.; BRUCKHARDT, E.; KALETA, E.F.; Natural infections by *Cryptosporidium* spp in farm-raised ducks and geese. **Avian Pathology**, v.23, p.277-286, 1994

ROBERTSON, L.J.; CAMPBELL, A.T.; SMITH, H.V. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. **Applied Environment Microbiology**, v.58, p.3494-3500, 1992.

ROSALES, M.J.; PEREZ-CORDON, G.; SANCHEZ-MORENO, M.; MARIN-SANCHEZ, C.; MASCARO, C. Extracellular like-gregarine stages of *Cryptosporidium parvum*. *Acta Tropica*, v.95, p.74-78, 2005. 15

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. **The Journal of Parasitology**, v.89, n.4, p.809-813, 2003a.

RYAN, U.M.; XIAO, L.; READ, C.; ZHOU, L.; LAL, A.A.; PAVLASEK, I. Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from the Czech Republic. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p.4302-4307, 2003b.

RYAN, U.M.; XIAO, L. Molecular epidemiology and typing of non-human isolates of *Cryptosporidium*. In: ORTEGA-PIERRES, G.; CACCIÒ, S.M.; FAYER, R.; MANK, T.G.; SMITH, H.V.; THOMPSON, R.C.A. (Eds.) **Giardia and Cryptosporidium, from Molecular to Disease**, Preston, U.K.: CABI, p.65-80, 2009.

RYAN, U.M. *Cryptosporidium* in birds, fish and amphibians. **Experimental Parasitology**, v.124, p. 113-120, 2010.

RUFF, M.D. Interactions of avian coccidiosis with other diseases: A review. In: YVORE, P. (Ed.), **Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs. Proceedings of the 5th. International Coccidiosis Conference**, INRA Publishers, Paris, p.173-181, 1989.

RUFF, M. D. Important parasites in poultry production systems. **Veterinary Parasitology**, v.84, p.337-347, 1999

SAVINO, V. J. M.; DOMINGOS COELHO, A. A.; ROSÁRIO, M. F.; SILVA, M. A. N.

Avaliação de materiais genéticos visando à produção de frango caipira em diferentes sistemas de alimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.578-583, 2007.

SINDICATO DAS INDÚSTRIAS DE PRODUTOS AVÍCOLAS DO ESTADO DO PARANÁ. **Estatísticas**. Disponível em:

<<http://www.sindiavipar.com.br/index.php?modulo=8eacao=frango>>. Acesso em: 6 ago. 2010. 49

SLAVIN, D. *Cryptosporidium meleagridis*. **Journal of Comparative Pathology**, v.65, p.262-266, 1955.

SMITH, H.V.; BROWN, J.; COULSON, J.C.; MORRIS, G.P.; GIRDWOOD, R.W.A.; Occurrence of oocysts of *Cryptosporidium* spp in *Larus* spp gulls. **Epidemiology and Infection**, v.110, p.135-143, 1993.

SMITH, H.V.; ROSE, J.B. Waterborne cryptosporidiosis: Current status. **Parasitology Today**, v.14, p.14-22, 1998.

SNYDER, D.B.; CURRENT, W.L.; RUSSEK-CHEN, E.; GORHAM, S.L.; MALLINSON, E.T.; MARQUARDT, W.W.; SAVAGE, P.K. Serologic incidence of *Cryptosporidium* in Delarva broiler flocks. **Poultry Science**, v.67, p.730-735, 1988.

SONAIYA, E. B.; SWAN, S. E. J. **Small-scale poultry production**: technical guide. Roma: FAO, 2004.

SRÉTER, T.; HORNOK, S.; VARGA, I.; BÉKÉSI, L.; SZÉLL, Z. Attempts to immunize chickens against *Cryptosporidium baileyi* with *C. parvum* oocysts and Paracox vaccine. **Folia Parasitológica**, v.44, p.77-80, 1997.

SRÉTER, T.; VARGA, I. Cryptosporidiosis in birds – a review. **Veterinary Parasitology**, v.87, p.261-279, 2000.

SRÉTER, T.; KOVÁCS, G.; DA SILVA, A.D.; PIENIAZEK, N.J.; SZÉLL, Z.; DOBOS-KOVÁCS, M.; MÁRIALIGETI, K.; VARGA, I. Morphologic, culture, and molecular characterization of a Hungarian *Cryptosporidium meleagridis* isolate. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, p.735-738, 2000.

STERLING, C.R. Waterborne cryptosporidiosis. In: Dubey, J.P., Speer, C.A., 29 Fayer, R. (Eds.), **Cryptosporidiosis of Man and Animals**. CRC Press, Boca Raton, 30 FL, p.52–58, 1990.

STINEAR, T.; MATUSAN, A.; HINES, K.; SANDERY, M. Detection of a single viable *Cryptosporidium* oocyst in environmental water concentrates by reverse transcription-PCR. **Application Environmental Microbiology**, v.62, p.3385-3390, 1996.

SUNDERMANN, C.A.; LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L. Evaluation of disinfectants for ability to kill avian *Cryptosporidium* oocysts. **Comp. Animal Practice**, v.2, p.36-39, 1987.

TAKANO, H. Developmental process of cryptosporidium in the intestine and bursa de Fabricius of chickens. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v.54, p.289-292, 1992.

THAM, V.L.; KNIESBERG, S.; DIXON, B.R. Cryptosporidiosis in quails. **Avian Pathology**, v.11, p.619-626, 1982.

THAMSBORG, S.M.; ROEPSTORFF, A.; LARSEN, M. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. **Veterinary Parasitology**, v.8 p.169-186, 1999.

THURSTON, J.A.; GERBA, C.P.; FOSTER, K.E.; KARPISCAK, M.M. Fate of indicator microorganisms, Giardia, and *Cryptosporidium* in subsurface flow constructed wetlands. **Water Research**, v.35, p.1547–1551, 2001.

TUMWINE, J.K.; KEKITIINWA, A.; NABUKEERA, N.; AKIYOSHI, D.E.; RICH, S.M.; WIDMER, G.; FENG, X.; TZIPORI, S. *Cryptosporidium parvum* in children with diarrhea in Mulago Hospital, Kampala, Uganda. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.68, p.710–715, 2003.

TYZZER, E.E. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.5, p.12-13, 1907.

TYZZER, E.E. An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et spp nov.), of the gastric glands of the common mouse. **Journal of Medicine Research**, v.23, p.487-509, 1910

TYZZER, E.E. *Cryptosporidium parvum* (spp nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. **Archiv fuer Protistenkunde**, v. 26, p.394-412, 1912.

TYZZER, E.E. Coccidiosis in gallinaceous birds. **American Journal of Hygiene**, v.10, p.269-383, 1929.

TZIPORI, S.; CAMPBELL, I.; Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animal species. **Journal of Clinical Microbiology**, v.14, p.455-456, 1981.

TZIPORI, S. Cryptosporidiosis in animals and humans. **Microbiology Reviews**, v. 7, p. 84-96, 1983.

TZIPORI, S. Cryptosporidiosis: Laboratory investigations and chemotherapy. **Advances in Parasitology**, v.40, p.187-221, 1998.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. Produção de carne de frango nas Américas. **Relatório anual 2008**. Brasília: Athalaia, 2008.

VIEIRA, F.E.G. Helminthofauna em frangos (*Gallus gallus domesticus* Linnaeus, 1758) criados em sistema colonial/caipira na região Norte do estado do Paraná. 2010. 72p. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

WEBSTER, K.A. Molecular methods for the detection and classification of *Cryptosporidium*. **Parasitology Today**, v.9, p.263–266, 1993.

WIDMER, G.; CARRAWAY, M.; TZIPORI, S. Water-borne *Cryptosporidium*: A perspective from the USA. **Parasitology Today**, v.12, p.286-290, 1996.

XIAO, L.; ESCALANTE, L.; YANG, C.; SULAIMAN, I.; ESCALANTE, A.A.; MANTALI, R.J.; FAYER, R.; LAL, A.A. Phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* parasites based on small subunit rRNA gene locus. **Application Environmental Microbiology**, v. 65, p. 1578-1583, 1999.

XIAO, L.; BERN, C.; LIMOR, J.; SULAIMAN, I.; ROBERTS, J.; CHECKLEY, W.; CABRERA, L.; GILMAN, R.H.; LAL, A.A. Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. **Journal of Infectious Diseases** v.183, p.492–497, 2001.

XIAO, L.; FAYER, R.; RYAN, U.; UPTON, S.J. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. **Clinical Microbiological Reviews**, v.17, p.72–97, 2004.

ZHOU, L.; KASSA, H.; TISCHLER, M.L.; XIAO, L. Host-adapted *Cryptosporidium* spp. in Canada geese (*Branta canadensis*). **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, p.4211–4215, 2004.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Verificar a ocorrência do *Cryptosporidium* spp em frangos (*Gallus gallus domesticus*) criados sob o sistema colonial/caipira na região Norte do estado do Paraná.

2.2 ESPECÍFICOS:

Identificar por meio de exame coproparasitológico o gênero *Cryptosporidium* em frangos abatidos no sistema colonial/caipira.

Realizar inquérito epidemiológico, por meio de questionário, nas propriedades selecionadas e avaliar fatores relacionados à presença do *Cryptosporidium* no sistema colonial/caipira.

3 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

CRYPTOSPORIDIUM SPP EM FRANGOS (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*) CRIADOS SOB O SISTEMA COLONIAL/CAIPIRA NA REGIÃO NORTE DO ESTADO DO PARANÁ.

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo avaliar a prevalência do *Cryptosporidium spp* em frangos criados no sistema colonial/caipira na região norte do Estado do Paraná. A pesquisa foi realizada em 14 propriedades rurais localizadas nas mesorregiões do Norte velho de Jacarezinho e Norte novo de Apucarana. Foram examinados 204 amostras de fezes de frangos abatidos para consumo por meio. Foram aplicados inquéritos epidemiológicos com variáveis relacionadas ao manejo das propriedades. A análise estatística dos dados do questionário epidemiológico foi realizada utilizando-se o teste de Qui-quadrado ou Exato de Fisher e Odds Ratio, com nível de significância de 5%. O conteúdo intestinal foi analisado em laboratório para verificar a presença de oocistos por meio da coloração de Ziehl-Neelsen. Foi encontrada 17,6% (IC 95% = 12,6-23,5) de positividade do parasita nas amostras avaliadas e a análise estatística do inquérito epidemiológico demonstrou que a criação inicial dos pintinhos em superfície de madeira, a ocorrência de aves de outras espécies no ambiente e o não-sombreamento estavam relacionados com a maior infecção pelo parasita, enquanto a criação em solo argiloso com menor lotação foram fatores protetores ao parasitismo.

Palavras-chave: Frango colonial-caipira. Criptosporidiose. Inquérito epidemiológico.

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the occurrence of *Cryptosporidium spp* in broilers raised throughin Colonial/free range system in the north region of Paraná State. The survey was carried out in 14 farms. A number of 204 samples of Coproparasitologic tests of chickens slaughtered for consumption were examined. Statistical analysis of data from epidemiological survey was carried out using the Chi-square or Fisher's Exact and Odds Ratio, with a significance level of 5%. The intestinal content was analyzed in a laboratory to verify the presence or absence of oocysts. It was found that 17.6%(95% CI = 12.6 - 23.5) were positive for that parasite in the samples. In the epidemiological survey, it was found that in the initial creation of the chicks in wood surface, the occurrence of birds of other species in the environment and non-shading were related to higher infection, while creating in clay soil with lower populartion density were protective factors to the parasit development.

Keywords: Free-range chicken. Cryptosporidiosis. Epidemiological survey.

3.1 INTRODUÇÃO

A avicultura representa 30% de todo o mercado de carne consumida no mundo, e o Brasil é o maior exportador mundial de carne de frango. O Estado do Paraná lidera o crescimento no setor avícola sendo o maior estado produtor e exportador do País com mais de 1,33 milhões de aves abatidas e 1.001.537 mil toneladas de carne exportadas

(SINDICATO DAS INDÚSTRIAS DE PRODUTOS AVÍCOLAS DO ESTADO DO PARANÁ, 2010). A avicultura colonial/caipira tem grande importância sócio-econômica, pois é responsável por fornecer proteína animal para as populações rurais e urbanas, principalmente nas regiões mais carentes. Consiste ainda em fonte de renda para o agricultor familiar que comercializa o excedente da sua produção (VIEIRA, 2010).

Segundo Cardozo e Yamamura (2004), o sistema colonial/caipira objetiva reproduzir ao máximo as condições naturais de vida das aves sem a utilização de produtos químicos para o controle de doenças. É caracterizado por uma criação semi-intensiva das aves e visa maior bem estar aos animais e busca obter uma carne de características diferenciadas. Porém, o sistema colonial/caipira de criação favorece a ocorrência de parasitismo, levando à perdas econômicas que podem ser significativas (RUFF, 1999).

As espécies encontradas em aves são: *Cryptosporidium meleagridis* Slavin (1955), *Cryptosporidium baileyi* Current (1986), e *Cryptosporidium galli* Pavlasek (1999), que ocorrem principalmente em traquéia, bursa de Fabricius, cloaca, em menor grau no ceco e reto (SRÉTER; VARGA, 2000).

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 infecção nas aves ocorre com a ingestão de alimentos ou água contaminada com oocistos infectantes (FERNANDÉZ et al. 1990), podendo servir como via de transmissão de oocistos em lotes de frangos (SRÉTER; VARGA, 2000).

No Brasil, pouco se sabe sobre a presença desse protozoário em aves domésticas, 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 para a indústria avícola.

Este trabalho teve como objetivo identificar protozoários de gênero *Cryptosporidium* em frangos (*Gallus gallus domesticus*) criados sob o sistema colonial/caipira na região norte do estado do Paraná e avaliar os fatores relacionadas à presença deste parasita na criação avícola.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada utilizando somente vísceras de aves abatidas para consumo, e por esta razão foi dispensado de análise pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual de Londrina.

3.2.1 Estudo Populacional e Tamanho de Amostra

As amostras foram coletadas em 14 propriedades localizadas nos municípios 31 de Jacarezinho, Santo Antônio da Platina, Cambará, Barra do Jacaré, Cornélio Procópio, Santa Mariana, e Conselheiro Mairinck, localizados no Norte Pioneiro Paranaense, e Apucarana, no Norte Central Paranaense, na região Norte do estado do Paraná. A região onde se localizam as propriedades possui solo argiloso em sua maior parte. A altitude média é de 426m (307-834). A média de temperatura no verão é de 22°C, com chuvas bem distribuídas.

Foi realizada pesquisa de oocistos do parasita *Cryptosporidium* spp em 204 amostras fecais da porção distal do reto de frangos (*Gallus gallus domesticus*) sob criação do tipo colonial/caipira, com linhagens próprias para este tipo de criação, com idades entre 90 e 630 dias, durante o período de 16 de outubro de 2008 a 15 de dezembro de 2009, e 09 de julho de 2010 a 16 de novembro de 2010, abatidos para o consumo.

As amostras foram coletadas de forma aleatória por propriedade. A quantidade de amostras por propriedade foi proporcional ao abate no período. As vísceras foram identificadas, acondicionadas e enviadas em caixa isotérmica (8 °C) para o Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de Londrina.

3.2.2 Inquérito Epidemiológico

Nas propriedades cadastradas foi realizado um inquérito epidemiológico identificando as características da área e do sistema de produção, tais como hábitos dos animais, alimentação, fonte de água, manejo sanitário e dados ambientais.

3.2.3 Exame Parasitológico e Identificação

Depois de abatidas, as aves foram examinadas *post-mortem* para qualquer sinal de doenças.

Foram confeccionados esfregaços de fezes da porção terminal do reto, um por amostra, em lâmina de vidro para microscopia, corados pelo método de Ziehl-Neelsen modificado (ORTOLANI, 2000).

Os esfregaços foram examinados ao microscópio óptico Nikon (modelo Eclipse 200) para diagnóstico de oocistos, mensurados usando uma lente ocular graduada (aumento de 100 x), observando os oocistos do parasita nas suas características morfométricas, sendo considerado resultado positivo apenas a presença, independente do número encontrado.

Foram consideradas positivas lâminas cujos oocistos apresentaram-se corados pela fucsina, e cujo tamanho variava de 4,5-8,5 µm de diâmetro longitudinal e 4,2-6,6 µm de diâmetro transversal.

3.2.4 Análise Estatística

A análise estatística dos dados do questionário epidemiológico foi realizada utilizando-se o teste de Qui-quadrado ou Exato de Fisher, e a medida de associação Odds Ratio, com intervalo de confiança de 95%, e nível de significância de 5%. O pacote estatístico Epi 6.04b. (DEAN et al., 1994) foi utilizado para a análise estatística dos resultados encontrados.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

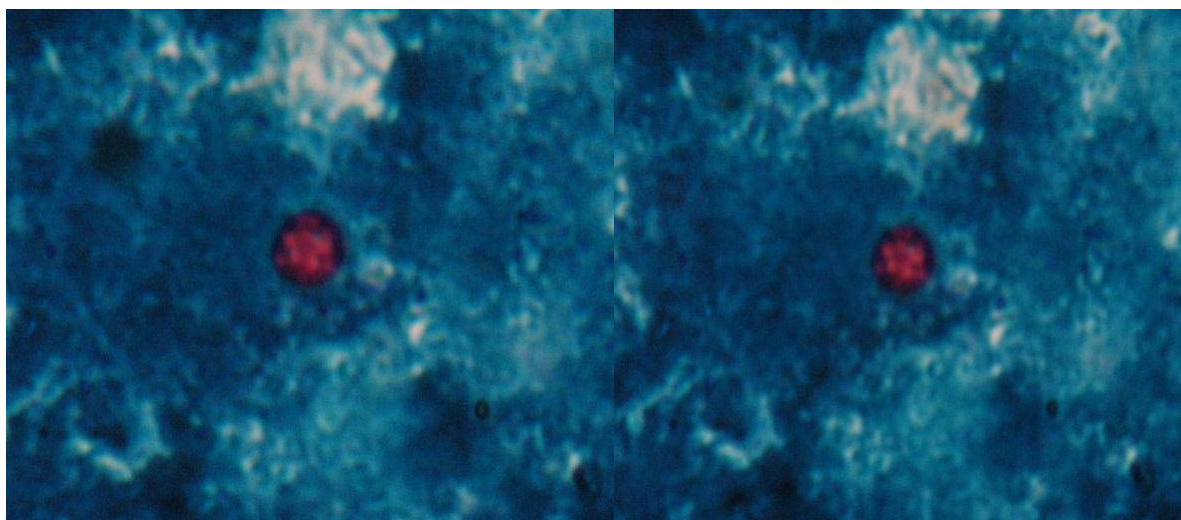
Oocistos do parasita foram visualizados em 36 das 204 amostras, o que representa 17,6% (IC 95% = 12,6-23,5) do total avaliado (Tabela 1).

TABELA 1 – Relação das 14 propriedades cadastradas com avicultura colonial/caipira no norte do Paraná quanto ao número de amostras coletadas por propriedade, e positividade por propriedade, 2011.

Código da Propriedade	Município	Nº Aves	Positividade (%)
0270-1	Barra do Jacaré	58	0
2410-2	Sto. Antônio da Platina	10	6 (60%)
1180-1	Jacarezinho	15	5 (33,3%)
0140-1	Apucarana	5	0
2390-2	Sta. Mariana	6	0
2390-3	Sta. Mariana	7	0
0640-1	Cornélio Procópio	8	0
2410-4	Sto. Antônio da Platina	10	3 (30%)
2410-3	Sto. Antônio da Platina	8	0
0610-2	Conselheiro Mairinck	38	8 (21,1%)
2410-1	Sto. Antônio da Platina	5	0
1180-2	Jacarezinho	4	0
0360-1	Cambará	15	3 (20%)
2390-1	Sta. Mariana	15	11 (73,3%)
Total	204		36 (17,6%)

Foram observados oocistos arredondados com diâmetro longitudinal de 4,5 a 6,5 μm , e diâmetro transversal de 4,2 a 5,5 μm , com coloração róseo-avermelhada, com áreas claras internamente, corroborando com o trabalho de Ryan (2010).

FIGURA 3 – Foto de oocistos de *Cryptosporidium sp* em coloração de Ziehl-Neelsen em Microscópio Óptico (objetiva 100x).



O grau de parasitismo foi aferido nas lâminas coradas pelo método de Ziehl-Neelsen, variando de uma a quatro cruzes (Tabela 2)

TABELA 2 – Grau de parasitismo por propriedade: aferição do escore de parasitismo nas lâminas coradas pelo método de Ziehl-Neelsen.

Código da Propriedade	Município	Ave	Escore (em cruzes)
2410-2	Sto. Antônio da Platina	1	+
2			+
3			+
4			+
5			+
6			+
1180-1	Jacarezinho	1	+
2			+
3			+
4			+
5			+
2410-4	Sto. Antônio da Platina	1	+++
2			+
3			+
0610-2	Conselheiro Mairinck	1	+
2			+
3			++++
4			++++
5			++++
6			+
7			+
8			+
0360-1	Cambará	1	+
2			++
2			+
2390-1	Sta. Mariana	1	+
2			++
3			++
4			++
5			++
6			+
7			+
8			+
9			+++
10			+
11			+

Onde: (+) até 3 oocistos por lâmina; (++) mais de 3 oocistos por lâmina e até 5 oocistos por campo; (+++) 5 a 10 oocistos por campo; (++++) mais de 10 oocistos por campo.

A ocorrência encontrada neste estudo é superior a encontrada por Ng et al. (2006) na Austrália, no qual 6,3% (27/430) das amostras fecais de aves foram positivas para o *Cryptosporidium* spp.

Na Grécia, Papadoulou et al. (1988) encontraram uma positividade de 24,29% (17/70) nos frangos examinados.

Foram encontradas prevalências variando de 22-88%, 10-100%, e 6-10% nos frangos examinados na Europa, EUA e Ásia, respectivamente (TZIPORI; CAMPBELL, 1981; CURRENT; SNYDER, 1988; LINDSAY et al., 1991; RHEE et al., 1991; CHEN et al., 1996; GOODWIN; WALTMAN, 1996), mostrando uma grande variação de ocorrência do parasita no mundo.

Levantamento sorológico realizado em frangos de corte para o *Cryptosporidium* spp em Delaware, Maryland e Virgínia, nos Estados Unidos (1988), indicaram 38% de positividade em aves de 42 dias e 50% em aves de 63 dias. A identificação sorológica em 454 galpões de frango de corte foi positivo em 22%. Um levantamento realizado com a observação direta do parasita em frangos de corte na Carolina do Norte, EUA, mostrou positividade em 27,3% dos frangos, 10% em reprodutoras de frango de corte e 5,9% em matrizes reprodutoras (KAWAZOE, 2000).

Ley et al. (1988) nos Estados Unidos estudaram a prevalência de *Cryptosporidium* spp com a utilização de esfregaços de fezes, sendo positivas 13,71% amostras de frangos de corte, e 1,34% de poedeiras.

O *Cryptosporidium* spp foi encontrado no Brasil em galinhas por Meireles e Figueiredo (1992) e Huber et al. (2007).

A maioria dos estudos sobre a ocorrência do *Cryptosporidium* spp foram realizados no sistema convencional de criação de frangos. Pesquisas com aves de criações alternativas, orgânicas e de subsistência, como as realizados por Thamsborg et al (1999) na Dinamarca, concluíram que o aumento no número deste tipo de criação no mundo irá fazer com que problemas com endoparasitas ressurgam.

A Tabela 3 apresenta os resultados do inquérito epidemiológico aplicado nas propriedades que participaram deste estudo.

TABELA 3 – Análise univariada do inquérito epidemiológico realizado em 14 propriedades com criação de frangos no sistema colonial/caipira no Norte do Paraná, de 2008 a 2010.

Variáveis	Positivo/Total (%)	p	OR (IC95%)
Forração no recebimento dos pintainhos Palha Chão Madeira	14/114 (12,28) 3/20 (15,0) 19/70(27,14)		0,0351
Idade de soltura dos pintainhos <30 dias >30 dias	25/139 (17,98) 11/65 (16,92)	0,9907	1,08 (0,46-2,55)
Idade de abate <100 dias >100 dias	29/169 (17,16) 7/35 (20,0)	0,8748	0,83 (0,30-2,33)
Fonte de água Superficial Lençol Freático Poço Artesiano	0 22/117 (18,80) 14/87 (16,09)	0,7514	1,21 (0,54-2,71)
Vazio Sanitário <60 dias > 60 dias	28/167 (16,77) 8/37 (21,62)	0,6436	0,73 (0,28-1,96)
Cria outras aves na propriedade? Sim Não	16/41 (39,02) 20/163 (12,27)	0,0002	4,58 (1,94-10,85)
Outros animais na propriedade? Sim Não	33/176 (18,75) 3/28 (10,71)	0,4556	1,92 (0,50-8,62)
Aves fechadas em piquete? Sim Não	23/151 (15,23) 13/53 (24,53)	0,1875	0,55 (0,24-1,29)
Tipo de solo do piquete Argiloso Arenoso Misto	17/137 (12,41) 13/51 (25,49) 6/16 (37,50)		0,0106
Lotação do piquete <3m ² /ave >3m ² /ave	6/14 (42,86) 30/190 (15,79)	0,0206	4,00 (1,12-14,10)
Sombreamento no piquete Sim Não	15/154 (9,74) 21/50 (42,0)	0,000001	0,15 (0,06-0,35)

p = probabilidade; OR = Odds Ratio; IC95% = Intervalo de confiança de 95%

A análise do inquérito epidemiológico revelou significância estatística para os seguintes fatores: tipo de forração no recebimento dos pintainhos, criação de outras aves na propriedade, tipo de solo do piquete, lotação do piquete e sombreamento no piquete ($p < 0,05$).

Verificou-se que ocorreu maior parasitismo em forração de madeira nos primeiros dias de criação dos pintinhos. O maior parasitismo ocorrido em aves criadas em forração de madeira nos primeiros dias se deve à maior dificuldade de higienização deste tipo de superfície.

A criação de outras aves na propriedade aumentou a chance de infecção por *Cryptosporidium* spp, visto que este é um parasita que tem sido encontrado em mais de 30 espécies de aves (SRÉTER; VARGA, 2000), entre silvestres e domésticas, como os Anseriformes, Charadriiformes, Columbiformes, Galliformes, Passeriformes, Psittaciformes e Struthiniformes, na Ásia, Austrália, Europa e América (GOODWIN, 1989). Há, então, a necessidade de se estudar sua ocorrência e importância em aves exóticas e silvestres como potenciais fontes de infecção do parasita para as aves de produção industrial, o que poderia afetar a sanidade deste rebanho.

Em piquetes com maior lotação, a presença do parasita foi mais expressiva [OR (IC95%) = 4,00 (1,12-14,10)], demonstrando a necessidade de que haja uma determinação no número de aves por piquete. Pode-se inferir que piquetes mais lotados favorecem a infecção por serem mais difíceis de se manter um bom manejo com medidas higiênicas adequadas. O bem-estar das aves também deve ser observado para este tipo de criação. No Brasil, este sistema de criação foi regulamentado pelo Ofício Circular N°007/99 da Divisão de Operações Industriais, do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 1999) determinando acesso a piquetes para pastoreio com espaço mínimo de 3m² por ave.

Ocorreu menor parasitismo em solo argiloso em comparação com solos de maior porosidade. Em um trabalho com helmintoses, Anaruma Filho (1994) e Vieira (2010) observaram que também ocorre menor parasitismo em solo argiloso em comparação com solos de maior porosidade, como os solos arenosos. Estes autores concluíram que os solos de menor granulometria eram menos eficientes para o cultivo de larvas. Este fator pode ser extrapolado quanto a sobrevivência dos oocistos infectantes de *Cryptosporidium* no ambiente.

Quando há sombreamento no piquete, a ocorrência do parasita é menor. Lapage (1976) observou que as temperaturas altas e a luz solar destroem os ovos de helmintos enquanto que em condições de umidade e sombreamento eles podem manter a viabilidade, o

que contraria o achado deste trabalho, quanto ao menor parasitismo pelo protozoário quando há a presença de sombreamento.

Os resultados deste estudo reforçam a visão de que o gênero *Cryptosporidium* está presente nas criações de frangos em sistema colonial/caipira.

C. meleagridis está entre as cinco espécies de *Cryptosporidium* potencialmente zoonóticas aos humanos. Inicialmente encontrada em crianças no Peru (XIAO *et al.*, 2001), também foi encontrado em crianças com diarreia em Uganda (TUMWINE *et al.*, 2003). e no Quênia (GATEI *et al.*, 2006), assim como em pessoas imunocomprometidas em países em desenvolvimento. Estudos na Tailândia, Índia e Peru mostraram a presença desta espécie em adultos portadores de HIV (GATEI *et al.*, 2002; CAMA *et al.*, 2003). Em Lima (Peru) e Bangkok (Tailândia), *C. meleagridis* é a espécie mais prevalente, assim como *C. parvum*, sendo responsável por 10–20% dos casos humanos de cryptosporidiose (XIAO *et al.*, 2001; CAMA *et al.*, 2003). Múltiplos subtipos de *C. meleagridis* foram encontrados em humanos em diferentes regiões (GLABERMAN *et al.*, 2001).

Em comparação às espécies do parasita que infectam mamíferos, há poucas pesquisas sobre a cryptosporidiose aviária. Mais estudos são necessários para elucidar a infecção em aves, incluindo a taxonomia, epidemiologia, importância clínica e potencial zoonótico.

3.4 CONCLUSÃO

Considerando-se que o *Gallus gallus domesticus* constitui uma significativa fonte de divisas para o Brasil, sendo o sistema colonial/caipira uma alternativa viável de renda para os agricultores familiares quando as técnicas de manejo corretas são implementadas na propriedade, e que o *Cryptosporidium* spp é agente primário de doença clínica no homem, sua identificação em aves clinicamente saudáveis é relevante.

O parasita age frequentemente sozinho, mas as perdas são mais pronunciadas quando há presença de outros patógenos conjuntamente. Há perdas econômicas com retardo de crescimento e mortalidade. A prevalência do *Cryptosporidium* em aves criadas no sistema colonial/caipira indica que se deve conhecer o quanto este parasitismo interfere no desempenho e bem estar dos frangos. Por causa da limitada ação de fármacos, medidas higiênicas e bom manejo são as armas mais válidas contra a doença.

3.5 REFERÊNCIAS

- ANARUMA FILHO, F. **Alguns aspectos epidemiológicos de geohelmintos em amostragem da população de Paulínia – SP** 1994. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 1994.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Ofício Circular DOI/DIPOA n°007/99, de 19 de maio de 1999**. Dispõe sobre Registro do Produto "Frango Caipira ou Frango Colonial" ou "Frango Tipo ou Estilo Caipira" ou "Tipo ou Estilo Colonial". Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1999.
- CAMA, V.A.; BERN, C.; SULAIMAN, I.M.; GILMAN, R.H.; TICONA, E.; VIVAR, A.; KAWAI, V.; VARGAS, D.; ZHOU, L.; XIAO, L. *Cryptosporidium* species and genotypes in HIV-positive patients in Lima, Peru. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 50 (Suppl.), p.531–533, 2003.
- CARDOZO, S. P.; YAMAMURA, M. H. Parasitas em produção de frangos no sistema tipo colonial/caipira no Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 63-74, jan./mar. 2004.
- CARDOZO, V.S.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; LOPES, C.W.G.; Transmissão experimental de *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) isolado de frango de corte à codorna japonesa (*Coturnix japonica*). **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.14, p.119–124, 2005.
- CHEN, Z.G., WU, X.Z., SHI, T.W., HUANG, B., ZAO, Q.P., HE, L.H. Survey and artificial infection test of cryptosporidiosis in chickens and ducks in the Shanghai region. **Chinese Journal of Veterinary Science and Technology**, v., p.17-19, 26 1996.
- CURRENT, W.L.; SNYDER, D.B. Development and serologic evaluation of acquired immunity to *Cryptosporidium baileyi* by broiler chickens. **Poultry Science**, v.67, p.720-729. 1988.
- DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; COULOMBIER, D.; BRENDEL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K. M.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G. **Epi Info, version 6**: a word processing, database, and statistic program for epidemiology on microcomputers. Georgia: Center for Diseases Control and Prevention, 1994.
- FAGUNDES, T.F.; BATH, F.V.C.; SOLEIRO, C.A.; FAMADAS, K.M.; MENEZES, R.C.A.A. Inquérito preliminar sobre parasitas de avestruzes (*Sthruccio camelus*) de um criatório localizado no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, supl. 1, p. 368, 2004.
- FERNANDÉZ, A.; QUEZADA, M.; GÓMEZ, M.A.; NAVARRO, J.A.; RODRÍGUEZ, J.; SIERRA, M. A. Cryptosporidiosis in chickens from southern Spain. **Avian Diseases**, v.34, p.224-227, 1990.
- GATEI, W.; SUPUTTAMONGKOL, Y.; WAYWA, D.; ASHFORD, R.W.; BAILEY, J.W.; GREENSILL, J.; BEECHING, N.J.; HART, C.A. Zoonotic species of *Cryptosporidium* are as prevalent as the anthroponotic in HIV-infected patients in Thailand. **Annals of Tropical and Medical Parasitology**, v.96, p.797–802, 2002.

GATEI, W.; WAMAE, C.N.; MBAE, C.; WARURU, A.; MULINGE, E.; WAITHERA, T.; GATIKA, S.M.; KAMWATI, S.K.; REVATHI, G.; HART, C.A. Cryptosporidiosis: prevalence, genotype analysis, and symptoms associated with infections in children in Kenya. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.75, p.78–82, 2006.

GLABERMAN, S., SULAIMAN, I.M., BERN, C., LIMOR, J., PENG, M.M., MORGAN, U., GILMAN, R., LAL, A.A. AND XIAO, L. A multilocus genotypic analysis of *Cryptosporidium meleagridis*. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 48 (Suppl.), p.19S–22S, 2001.

GOODWIN, M.A. Cryptosporidium in birds: a review. **Avian Pathology**, v.18, p.365-384, 1989.

GOODWIN, M.A.; WALTMAN, W.D. Transmission of *Eimeria* viruses, and bacteria to chicks. Darkling Beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.5, p.51-55, 1996.

HUBER, F.; SILVA, S.; BONFIM, T.C.B.; TEIXEIRA, K.R.S.; BELLO, A.R.; Genotypic characterization and phylogenetic analysis of *Cryptosporidium spp* from domestic animals in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.150, p.65–74, 2007

ITO, N. M. **Clipping de patologia aviária: doenças imunossupressoras das aves**. São Paulo: Laboratório Pfizer do Brasil, 1995. 38p.

KAWAZOE, U. Criptosporidiose Aviária In: BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. (Eds.) **Doenças das Aves** Campinas: FACTA, p.402-406, 2000.

LAPAGE, G. **Parasitologia Veterinária**. 4. ed. México: Compañia Editorial Continental, 1976.

LEY, D.H.; LEVY, M.G.; HUNTER, L.; CORBETT, W.; BARNES, H.J.; Cryptosporidia positive rates of avian necropsy accessions determined by examination of auramine-O-stained fecal smears. **Avian Diseases**, v.32, p.108-113, 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.

LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; HOERR, F.J.; SMITH, P.C. Cryptosporidiosis in zoo and pet birds. **Journal of Protozoology**, v.38(S), p.180-181, 1991.

MEIRELES, M.V.; FIGUEIREDO, P.C.; Isolamento e identificação de *Cryptosporidium baileyi*, Current et al., 1986 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) em frangos de corte. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.1, p.125–130, 1992.

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.

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.
- NG, J.; PAVLASEK, I.; RYAN, U. Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from avian hosts. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, p.7548–7553, 2006.
- ORTOLANI, E.L. Standardization of the modified Ziehl-Neelsen technique to stain oocysts of *Cryptosporidium* spp **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n.1, p. 29-31, 2000.
- PAPADOULOU, C.; XYLOURI, E.; ZISIDES, N. Cryptosporidial infection in broiler chickens in Greece. **Avian Diseases**, v.32, p.842-843, 1988.
- RHEE, J.K.; SEU, Y.S.; PARK, B.C.; Isolation and identification of *Cryptosporidium* from various animals in Korea. **Korean Journal of Parasitology**, v.29, p.139-148, 1991.
- RUFF, M. D. Important parasites in poultry production systems. **Veterinary Parasitology**, v.84, p.337-347, 1999.
- RYAN, U.M. Cryptosporidium in birds, fish and amphibians. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 113-120, 2010.
- SINDICATO DAS INDÚSTRIAS DE PRODUTOS AVÍCOLAS DO ESTADO DO PARANÁ. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.sindiavipar.com.br/index.php?modulo=8eacao=frango>>. Acesso em: 6 ago. 2010.
- SRÉTER, T.; VARGA, I. Cryptosporidiosis in birds – a review. **Veterinary Parasitology**, v.87, p.261-279, 2000.
- THAMSBORG, S.M.; ROEPSTORFF, A.; LARSEN, M. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. **Veterinary Parasitology**, v.84, p.169-186, 1999.
- TUMWINE, J.K.; KEKITIINWA, A.; NABUKEERA, N.; AKIYOSHI, D.E.; RICH, S.M.; WIDMER, G.; FENG, X.; TZIPORI, S. *Cryptosporidium parvum* in children with diarrhea in Mulago Hospital, Kampala, Uganda. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.68, p.710–715, 2003.
- TZIPORI, S.; CAMPBELL, I.; Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animal species. **Journal of Clinical Microbiology**, v.14, p.455-456, 1981.
- VIEIRA, F.E.G. **Helmintofauna em frangos (*Gallus gallus domesticus* Linnaeus, 1758) criados em sistema colonial/caipira na região Norte do estado do Paraná**. 2010. 72p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.
- 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.
- XIAO, L.; BERN, C.; LIMOR, J.; SULAIMAN, I.; ROBERTS, J.; CHECKLEY, W.; CABRERA, L.; GILMAN, R.H.; LAL, A.A. Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. **Journal of Infectious Diseases** v.183, p.492–497, 2001.

4 CONCLUSÃO FINAL

A prevalência encontrada foi de 17,6% (IC 95% = 12,6-23,5) dentre as amostras avaliadas.

Foi verificado que ocorre maior parasitismo quando o manejo inicial dos pintinhos é feito sobre forração de madeira, quando há a ocorrência de aves de outras espécies no ambiente e sombreamento do piquete.

A criação das aves em solo argiloso, em comparação aos solos de maior porosidade, e a menor lotação do piquete diminuem as chances de infecção por *Cryptosporidium* spp.

APÊNDICES

APÊNDICE A
Cadastro de Propriedade

CADASTRO DE PROPRIEDADE AVÍCOLA			
Código:			
Proprietário:		CPF:	
Telefone:		CNPJ:	
Propriedade:		INCRA:	
		Altitude:	
Município:		UF:	Coordenadas:
		PR	Lat: Long:
Telefone:		Bairro:	
Vacinas:			
Medicamentos :			
Forração:			
Fonte de Água:			
Alimentos:			
Endoparasitos :			
Ectoparasitos:			

APÊNDICE B

Questionário Epidemiológico

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO EM CRIAÇÕES DE FRANGOS NO SISTEMA COLONIAL/CAIPIRA.

1) TIPO DE FORRAÇÃO UTILIZADA NO RECEBIMENTO DOS PINTAINHOS?

1. PALHA 2. CHÃO 3. MADEIRA

2) EM QUE IDADE AS AVES SÃO SOLTAS NO PIQUETE?

1. ABAIXO DE 30 DIAS 2. ACIMA DE 30 DIAS

3) QUAL A IDADE DE ABATE DAS AVES?

1. ABAIXO DE 100 DIAS 2. ACIMA DE 100 DIAS.

4) QUAL A FONTE DE ÁGUA?

1. SUPERFICIAL 2. LENÇOL FREÁTICO 3. ARTESIANO

5) QUAL O VAZIO SANITARIO DOS PIQUETES?

1. MENOS QUE 60 DIAS 2. MAIS QUE 60 DIAS

6) POSSUI OUTRAS ESPÉCIES DE AVES NA PROPRIEDADE?

1. SIM 2. NÃO

7) POSSUI OUTRAS ESPÉCIES DE ANIMAIS NA PROPRIEDADE?

1. SIM 2. NÃO

8) AS AVES SÃO FECHADAS EM PIQUETES?

1. SIM 2. NÃO

9) TIPO DE SOLO DO PIQUETE?

1. ARGILOSO 2. ARENOSO 3. MISTO

10) QUAL A LOTAÇÃO DOS PIQUETES?

1. MENOS QUE 3M²/AVE 2. MAIS QUE 3M²/AVE

11) HÁ SOMBREAMENTO NO PIQUETE?

1. SIM 2. NÃO

APÊNDICE C

Formulário de coleta de material

FORMULÁRIO DE COLETA DE MATERIAL PARA LABORATÓRIO					
N.º FORM:		Ano:		U.F. :PR	
Proprietário:				CPF:	
Propriedade:				Código:	
Município:		UF: PR	Coordenadas		
			Lat:	Long:	
Telefone:		Bairro:			
Finalidade da criação					
<input type="checkbox"/> Venda		<input type="checkbox"/> Subsistência		<input type="checkbox"/> Postura	
		<input type="checkbox"/> Aves		<input type="checkbox"/> Corte	
Diagnóstico clínico presuntivo:					
Dados populacionais					
Espécie	Faixa etária	População existente		Animais mortos	
		Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
Aves	Reprodutor				
	Postura				
	Pintos				
	Engorda				
	Outras espécies				
Registro das últimas vacinações	Nome comercial da vacina	N.º da partida	Laboratório produtor	Data da vacinação	

Coleta de material

Tipo de material	Espécie animal	Raça	Sexo	Idade	Identificação do animal	Conservante	Exame Solicitado

Sinais clínicos e achados de necropsia (órgãos, lesões e alterações)

--

Movimento de animais nos últimos 30 dias

Tipo Ingresso ou saída	Data	Espécie	N.º de Animais	N.º de Doentes	Vacina dos*		Procedência/Destino Propriedade/Município	UF	N.º da GTA
					Sim	não			

Observações gerais

Local e data:

--

Médico Veterinário;

CRMV-PR

--	--

Endereço

Fone:

--	--

Município

UF: PR CEP

--	--	--

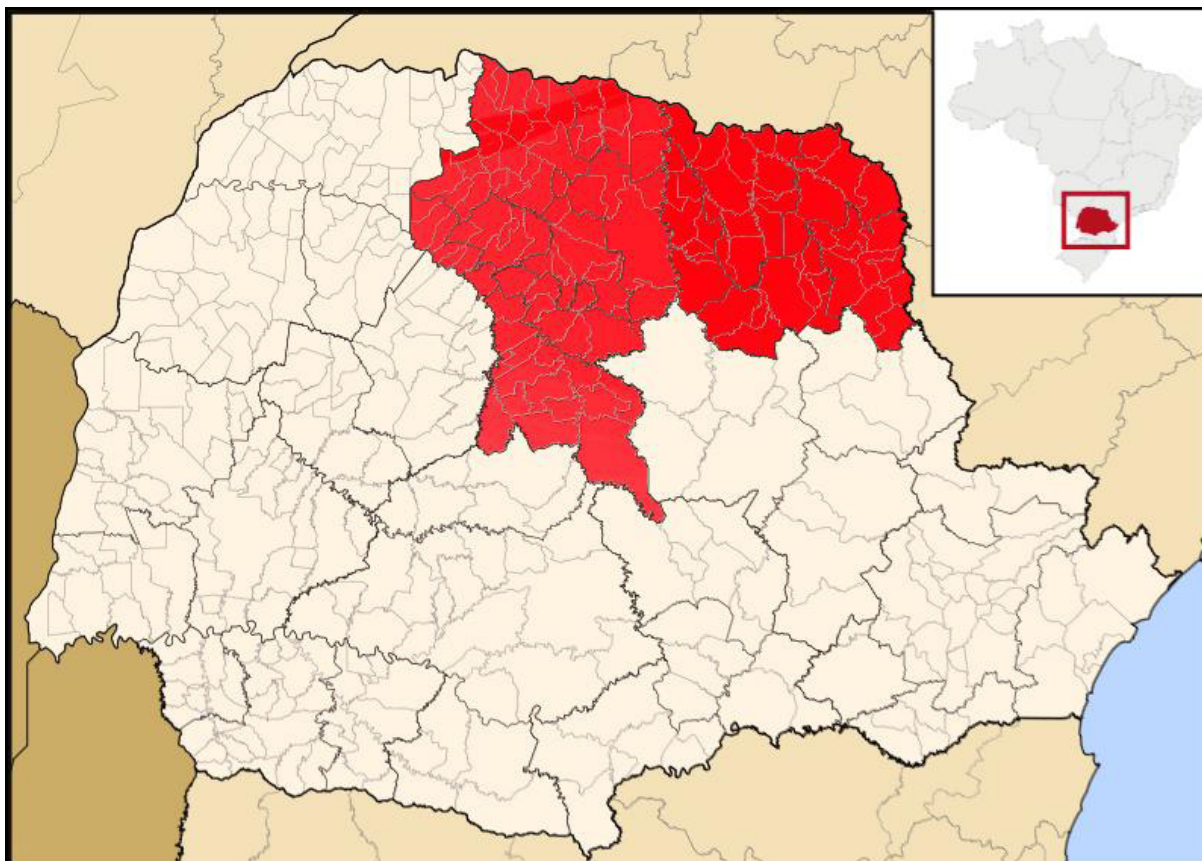
E-mail:

--

ÁREA DE ESTUDO

As regiões do Norte Pioneiro Paranaense e Norte Central Paranaense estão localizadas entre as Latitudes $22^{\circ}30'0''$ e $24^{\circ}30'0''$ S e entre as Longitudes $49^{\circ}50'0''$ e $52^{\circ}30'0''$ W. A região é cortada pelo Trópico de Capricórnio.

Figura 1 – Regiões Norte Pioneiro e Norte Central Paranaense. (WIKIPEDIA, 2010).



Estas regiões estão localizadas, em sua maior porção, no terceiro planalto paranaense e o restante do seu território no segundo planalto.

O solo da região é composto de alterações das rochas basálticas, associada ao clima da região que originou os solos do tipo terra roxa. A região compreendida no quadrilátero formado pelos rios Tibagi a leste, Paraná a oeste, Iguaçu ao sul e Paranapanema ao norte é uma grande área de terras férteis cortada por centenas de rios e riachos, rica em animais e árvores frutíferas.

O tipo climático predominante é o Subtropical Cfa com verões quentes, principalmente ao norte da região e outras com verões brandos localizadas mais ao sul, e

geadas pouco frequentes (principalmente nas áreas próximas com a fronteira de São Paulo), tendo médias de temperatura no verão de 22°C.

As chuvas são bem distribuídas durante o ano, porém com maior tendência nos meses de verão, registrando pluviosidade média de 1.500mm anuais.

A principal fonte econômica da região é a agroindústria alimentícia. Destaca-se a produção de soja, milho e trigo. O café foi responsável por metade do total exportado no mundo na década de 60. Porém as geadas na década de 70 aboliram quase que por completo essa cultura. A cana-de-açúcar também tem importância relevante apesar de serem cultivadas no extremo norte da microrregião.

Mas é na avicultura que a região vem se destacando nos últimos dez anos, graças à implantação de frigoríficos pela iniciativa privada e pelas cooperativas. A avicultura é produzida em praticamente todas as regiões acompanhando as áreas onde se produz milho, que é a matéria-prima para a ração das aves. As aves são exportadas para mais de uma dezena de países.

Em todas as regiões do Estado do Paraná, a atividade avícola colonial/caipira é representada.

As amostras são oriundas de 14 propriedades localizadas em oito municípios das regiões do Norte Pioneiro e Central Paranaenses, sendo eles: Apucarana, Barra do Jacaré, Cambará, Conselheiro Mairinck, Cornélio Procópio, Jacarezinho, Santa Mariana e Santo Antônio da Platina.

Figura 2 – Municípios do Norte Pioneiro e Norte Central Paranaense.

