



Prevalência, espécies causadoras e métodos de diagnóstico de criptosporidiose bovina no Brasil

Nicole Borges Oliveira¹, Hélio Silva Filho¹, Nathália Rodrigues Gonçalves², Maria Cristina de Oliveira³, Danielly Rodrigues de Oliveira¹, Uilcimar Martins Arantes⁴

¹ Discente da Faculdade de Medicina Veterinária, UniRV.

² Discente do Mestrado em Ciência Animal, UFG. Bolsista do Programa de Iniciação Científica - PIBIC/UniRV.

³ Professora Orientadora, Faculdade de Medicina Veterinária, UniRV.

⁴ Docente do Pronatec, UniRV

Reitor:

Prof. Me. Alberto Barella Netto

Pró-Reitor de Pesquisa e Inovação:

Prof. Dr. Carlos César E. de Menezes

Editor Geral:

Prof. Dr. Fábio Henrique Baia

Editor de Seção:

Profa. Dra. Andrea Sayuri
Silveira Dias Terada
Prof. Dr. Hidelberto Matos Silva

Correspondência:

Profa. Dra. Lidiane Bernardes
Faria Vilela

Fomento:

Programa PIBIC/PIVIC UniRV/
CNPq 2021-2022

Resumo: Protozoários do gênero *Cryptosporidium* são parasitas de uma ampla variedade de vertebrados, capazes de causar perdas econômicas consideráveis na criação animal devido à ocorrência de surtos de diarreia. O objetivo desta revisão foi determinar a prevalência, as espécies causadoras e métodos de diagnóstico da criptosporidiose bovina no Brasil. Foi adotado como procedimento metodológico a revisão sistemática. A busca foi feita nas bases de dados Science Direct, Scopus, Web of Science e Scielo. Como estratégia de busca foram usados os descritores *Cryptosporidium*, *cryptosporidiosis*, *cattle*, *calves*, *Brazil*. Foram selecionados 9 estudos conduzidos em diferentes estados do Brasil, com ocorrências entre 2008 a 2019. A idade dos animais avaliados variou de 0 a mais que 36 meses. A taxa de prevalência média foi 30,51%. As espécies identificadas foram *C. ryanae*, *C. parvum* e *C. bovis*. A microscopia óptica foi usada como método de diagnóstico dos oocistos nas amostras de fezes e para determinação das espécies a técnica de PCR foi utilizada em três estudos. Concluiu-se que a prevalência média do protozoário *Cryptosporidium* spp. em bovinos no Brasil foi 30,51% e variou de 10,2 a 62,5% e as principais espécies foram *C. bovis*, *C. parvum* e *C. ryanae*.

Palavras-chave: *Cryptosporidium* spp., diarreia em bovinos, parasitoses.

Prevalence, causative species, and diagnostic methods of bovine cryptosporidiosis in Brazil

Abstract: Protozoas in the genus *Cryptosporidium* are parasites of a large range of vertebrates, capable of causing considerable economic losses in animal rearing due to the occurrence of diarrhea outbreaks. This review aimed to determine the prevalence, causative species, and diagnostic methods of bovine cryptosporidiosis in Brazil. It was adopted as a methodological procedure for the systematic review. The search was carried out in the databases Science Direct, Scopus, Web of Science, and Scielo. As search strategy was used the descriptors *Cryptosporidium*, *cryptosporidiosis*, *cattle*, *calves*, and *Brazil*. Nine studies carried out in different states of Brazil

were selected, with occurrences between 2008 to 2019. The evaluated animals' ages ranged from 0 to more than 36 months. The average prevalence rate was 30.51%. The identified species were *C. ryanae*, *C. parvum*, and *C. bovis*. Optical microscopy was used as a diagnostic method of the oocysts in the feces samples and to the determination of the species, the PCR technique was used in three studies. It was concluded that the average prevalence of the protozoa *Cryptosporidium* spp. in cattle in Brazil was 30.51% and ranged from 10.2 to 62.5% and the main species are *C. bovis*, *C. parvum*, and *C. ryanae*.

Key words: *Cryptosporidium* spp., diarrhea in cattle, parasitosis.

Introdução

Protozoários do gênero *Cryptosporidium* são parasitos do epitélio gastrointestinal de uma ampla variedade de vertebrados (mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes), incluindo humanos (RIEUX et al., 2013), capazes de causar perdas econômicas consideráveis na criação animal devido à ocorrência de surtos de diarreia (Yap et al., 2016).

Dados biológicos e várias ferramentas de genotipagem molecular indicam que esse gênero possui aproximadamente 38 espécies válidas e mais de 70 genótipos (Feng et al., 2018). Bovinos podem ser infectados pelos *C. parvum*, *C. andersoni*, *C. ryanae* e *C. bovis*, mas apenas *C. parvum* está associado com doença clínica em bezerros neonatos, enquanto o *C. andersoni* é mais frequentemente encontrado em bovinos adultos e os sinais clínicos incluem redução no ganho de peso e na produção de leite em vacas (Thomson et al., 2017).

A prevalência do *Cryptosporidium* spp. em bezerros leiteiros diferiu quando os animais foram alojados em grupos (45%) ou em baias individuais (20%) (Aberg et al., 2019). Em estudos na Etiópia, Ayele et al. (2018) verificaram maior prevalência do parasita em bezerros leiteiros com menos que 6 meses de vida (28,4%) comparado com animais com idade entre 6 e 12 meses (15,8%). Díaz et al. (2021) demonstraram que *Cryptosporidium* spp pode ser encontrado em todas as idades e que embora bezerros com menos que um mês de vida sejam os principais portadores de *C. parvum*, o bovino adulto também tem um papel importante em surtos de criptosporidiose tanto em bezerros como em humanos.

Oocistos que alcançam leitões de água podem ser transportados por longas distâncias e disseminados para animais e pessoas. Geralmente, a principal fonte de oocistos são os bovinos que pastejam em áreas ribeirinhas e em um estudo foi possível notar que a redução da carga de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em leitões de água foi de 321% quando os animais eram mantidos com acesso restrito e de 60% quando o acesso era irrestrito (Sunohara et al., 2012).

Portanto, os objetivos desta revisão sistemática foram determinar a prevalência e as principais espécies causadoras da criptosporidiose bovina no Brasil.

Material e Métodos

Uma estratégia de busca foi realizada em 12 de janeiro de 2022 nas bases de dados Web of Sciences, Scielo, Scopus e Science Direct. O formato Condição, Contexto e População (CoCoPop) foi usado para identificar os termos necessários para a busca (Munn et al., 2018), em que a condição foi a presença do protozoário do gênero *Cryptosporidium*, o contexto foi ocorrência em estado brasileiro e a população foi a bovina. A estratégia de busca incluiu os termos "Cryptosporidium, cryptosporidiosis, cattle, calves, Brazil". Foram considerados os estudos publicados entre os anos de 2011 e 2022, somente artigos de pesquisa e de acesso aberto. Todos os estudos identificados foram importados para a plataforma Rayyan para remoção de duplicatas.

Os títulos e resumos de todos os estudos foram avaliados e, para a revisão sistemática foram considerados os estudos que reportassem a prevalência (ou o número total de amostras avaliadas e número de amostras positivas), as espécies envolvidas e os meios de diagnóstico da infecção por *Cryptosporidium* em bovinos e cujo idioma fosse inglês ou português. Em uma segunda etapa, os artigos foram avaliados quanto à elegibilidade baseado nos critérios de inclusão (estudos transversais baseados em populações, com fatores de risco determinados em bovinos (adultos/bezerros) e conduzidos no Brasil. Os critérios de exclusão foram diferente tipo de publicação (tese, dissertação, editorial, revisões, relatos de caso, ensaios clínicos), artigos publicados antes de 2011 e em idioma diferente do inglês ou português.

Após isso, os autores avaliaram os artigos quanto à sua elegibilidade para inclusão final na revisão sistemática. Qualquer discrepância foi resolvida por meio de nova leitura dos artigos.

Resultados e Discussão

A busca na literatura foi realizada em 12 de janeiro de 2022. Um total de 1.044 artigos foram identificados utilizando-se o idioma inglês e português. Destes, 961 foram rejeitados automaticamente por terem sido publicados antes de 2011, por não possuírem acesso aberto ou por não serem artigos de pesquisa. Dos 83 estudos remanescentes, 22 foram considerados duplicatas e excluídos e os demais foram submetidos à leitura do título, como primeira triagem. Após a leitura do título, 44 estudos foram excluídos por apresentarem contexto diferente (18), agente etiológico diferente do *Cryptosporidium* (11), população diferente da bovina (5) e pelo tipo de publicação (10).

Os resumos de 17 artigos foram acessados e avaliados quanto à elegibilidade com base nos critérios de inclusão, o que resultou na exclusão de um artigo, também por ser de contexto diferente.

Para a leitura na íntegra, foram selecionados então 16 estudos, dos quais sete foram excluídos devido ser um relato de caso de diarreia em um único indivíduo (1), por não apresentar o ano da ocorrência dos casos de diarreia (1) e por não determinarem os fatores de risco (5). Por fim, nove estudos preencheram os critérios de elegibilidade e foram incluídos na revisão sistemática (Tabela 1).

Foram avaliadas 5.308 amostras de fezes. O número de amostras positivas para *Cryptosporidium* foram 962 e variou de 5 a 216. A taxa de prevalência média foi de 26,28%. Apenas três estudos demonstraram as espécies identificadas nas fezes que foram *C. ryanae* (2/9), *C. parvum* (3/9) e *C. bovis* (1/9), indicando a prevalência de *C. ryanae* e *C. parvum* nas infecções bovinas. Importante ressaltar que estes estudos envolveram animais com até 24 meses e a espécie *C. parvum* foi identificada em todos eles. A microscopia foi usada como método de diagnóstico dos oocistos nas amostras de fezes em todos os estudos. Para determinação das espécies a técnica de PCR foi utilizada em três estudos (Tabela 1).

Taxa de prevalência de criptosporidiose bovina no Brasil

Nos estudos incluídos, a taxa de prevalência variou de 10,2% (TOLEDO et al., 2017) a 62,5% (AGNOL et al., 2021), ambos no Paraná e taxa de prevalência média foi de 30,51%. Há que se considerar também que AGNOL et al. (2021) utilizou um número amostral pequeno (n = 8), o que pode ter superestimado a prevalência. Vários fatores influem na taxa de

prevalência tais como o tipo de criação (corte ou leite), a idade dos animais, a região do país, o clima e a estação do ano, as práticas de manejo e bem-estar e diferentes técnicas de diagnóstico (HATAM-NAHAVANDI et al., 2019).

As maiores taxas de prevalência foram obtidas por CRUVINEL et al. (2020), AGNOL et al. (2021) e OLIVEIRA et al. (2021) com animais com 1-135, 5-18 e 1-60 dias de idade, respectivamente, indicando a maior susceptibilidade de animais mais jovens. FAGUNDES et al. (2014) obtiveram taxa de prevalência de 13,2% com animais com até 79 dias de idade, porém, neste estudo os animais eram mantidos em alojamentos individuais, o que pode ter contribuído para a baixa prevalência do protozoário.

Tabela 1 – Taxa de prevalência, espécie identificada e métodos de diagnóstico de *Cryptosporidium*

Autores	NF	NAP	TP (%)	Espécie identificada	Método de diagnóstico
Silva Jr. et al. (2011)	356	77	21,6	-	Microscopia
Fagundes et al. (2014)	1457	203	13,2	-	Microscopia
Toledo et al. (2017)	937	96	10,2	<i>C. parvum</i> <i>C. ryanae</i> <i>C. bovis</i> <i>C. andersoni</i>	Microscopia PCR
Volpato et al. (2017)	243	51	20,9	-	Microscopia
Holsback et al. (2018)	317	51	16,1	-	Microscopia
Cruvinel et al. (2020)	361	182	51,5	-	Microscopia
Agnol et al. (2021)	8	5	62,5	<i>C. parvum</i> <i>C. ryanae</i>	Microscopia PCR
Conceição et al. (2021)	385	99	25,7	-	Microscopia
Oliveira et al. (2021)	408	216	52,9	<i>C. parvum</i>	Microscopia PCR

NF = número de amostras de fezes avaliadas; NAP = número de animais positivos para *Cryptosporidium*; TP = taxa de prevalência.

Especies de *Cryptosporidium* relatados em bovinos

Neste estudo, *C. parvum* e *C. ryanae* foram encontrados em fezes de animais de 0 a >24 meses (Toledo et al., 2017), 5 a 18 dias (Agnol et al., 2021) e 1-60 dias (Oliveira et al., 2021) e *C. bovis* em animais de 4-6 meses e acima de 24 meses (Toledo et al., 2017). De acordo com FENG et al. (2018), 90% das infecções em bovinos são causadas por *C. parvum* e *C. bovis*. As espécies infectantes podem ser diferentes em cada faixa etária e de acordo com Díaz et al. (2021), *C. parvum* prevalece em bezerros com até um mês de vida, *C. bovis* em animais de 1-24 meses e *C. ryanae* em bezerros com idade entre 2-12 meses.

Métodos de diagnóstico de *Cryptosporidium* spp.

A microscopia (9/9) e a técnica de PCR (3/9) foram utilizadas nos nove estudos incluídos. *Cryptosporidium* pode ser diagnosticado por meio de várias técnicas incluindo a microscopia óptica,

com material a fresco ou esfregaços corados. Encontram-se disponíveis métodos imunológicos e de detecção de DNA (Khurana e Chaudhary, 2018). Entretanto a microscopia é o método mais utilizado na veterinária, por ser custo-efetivo. A técnica PCR tem sido também utilizada, porém este método indica a presença do parasita, mas não pode quantificá-lo (THOMSON et al., 2019).

Conclusão

A prevalência média do protozoário *Cryptosporidium* spp. em bovinos no Brasil foi de 30,51% e variou de 10,2 a 62,5%, as espécies envolvidas foram *C. bovis*, *C. parvum* e *C. ryanae* e os métodos de diagnósticos foram a microscopia e PCR.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do PIBIC-UniRV através concessão de bolsa de estudo de Auxílio a Projeto de pesquisa.

Referências Bibliográficas

AGNOL, A. M. D.; LORENZETTI, E.; LEME, R. A.; LADEIA, W. A. MAINARD, R. M.; BERNARDI, A.; HEADLEY, S. A.; FREIRE, R. L.; PEREIRA, U. P.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A. Severe outbreak of bovine neonatal diarrhea in a dairy calf rearing unit with multifactorial etiology. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 2547-2553, 2021.

AYELE, A.; SEYOUM, Z.; LETA, S. *Cryptosporidium* infection in bovine calves: prevalence and potential risk factors in northwest Ethiopia. **BMC Research Notes**, v. 11, 105, 2018.

CONCEIÇÃO, A. I.; ALMEIDA, L. P. S.; MACEDO, L. O.; MENDONÇA, C. L.; ALVES, L. C.; RAMOS, R. A. N.; CARVALHO, G. A. Prevalence of infection by *Cryptosporidium* spp. in calves and associated risk factors in Northeastern Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 73, n. 1, p. 34-40, 2021.

CRUVINEL, L. B.; AYRES, H.; ZAPA, D. M. B.; NICARETTA, J. E.; COUTO, L. F. M.; HELLER, L. M.; BASTOS, T. S. A.; CRUZ, B. C.; SOARES, V. E.; TEIXEIRA, W. F.; OLIVEIRA, J. S.; FRITZEN, J. T.; ALFIERI, A. A.; FREIRE, R. L.; LOPES, W. D. Z. Prevalence and risk factors for agents causing diarrhea (Coronavirus, Rotavirus, *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp., and nematodes helminthes) according to age in dairy calves from Brazil. **Tropical**

Animal Health and Production, v. 52, n. 2, p. 777-791, 2020.

FAGUNDES, T. F.; VIDAL, L. G. P.; ALVES, P. A. M.; TASSINARI, W. S.; COELHO, S. M. O.; MENEZES, R. C. A. A.; FONSECA, A. H.; PEREIRA, M. J. S. Análise descritiva da diarreia em uma coorte de bezerras criadas em sistema de casinhas até cem dias de idade, Município de Piraí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 1895-1912, 2014.

FENG, Y.; TIAO, N.; LI, N.; HLAUSA, M.; XIAO, L. Multilocus sequence typing of an emerging *Cryptosporidium hominis* subtype in the United States. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 524-530, 2014.

HATAM-NAHAVANDI, K.; AHMADPOUR, E.; CARMENA, D.; SPOTIN, A.; BANGOURA, B.; XIAO, L. *Cryptosporidium* infections in terrestrial ungulates with focus on livestock: a systematic review and meta-analysis. **Parasites & Vectors**, v. 12, 453, 2019.

HOLSBACK, L.; LIMA, H. E.; VIDOTTO, O.; SILVA, M. A.; PATELLI, T. H. C.; MARTINS, F. D. C.; SEIXAS, M. *Cryptosporidium* occurrence in ruminants from the North Pioneer mesoregion of Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 27, n. 2, p. 248-253, 2018.

KHURANA, S.; CHAUDHARY, P. Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. **Tropical Parasitology**, v. 8, n. 1, p. 2-7, 2018.

MUNN, Z.; PETERS, M. D. J.; STERN, C.; TUFANARU, C.; McARTHUR, A.; AROMATARIS, E. Systematic review or scoping review? Guidance for authors when choosing between a systematic or scoping review approach. **BMC Medical Research Methodology**, v. 18, 143, 2018.

OLIVEIRA, J. S.; MARTINS, F. D. C.; LADEIA, W. A.; CORTELA, I. B.; VALADARES, M. F.; MATOS, A. M. R. N.; CALDART, E. T.; AYRES, H.; NAVARRO, I. T.; FREIRE, R. L. Identification, molecular characterization and factors associated with occurrences of *Cryptosporidium* spp. in calves on dairy farms in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 30, n. 4, e009621, 2021.

RIEUX, A.; PARAUD, C.; PORS, I.; CHARTIER, C. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from pre-weaned calves in western France in relation to age. **Veterinary Parasitology**, v. 197, n. 1-2, p. 7-12, 2013.

SILVA JÚNIOR, F. A.; CARVALHO, A. H. O.; ROCHA, C. M. B. M.; GUIMARÃES, A. M. Fatores de risco associados à infecção por *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* em bovinos leiteiros na fase de cria e recria na mesorregião do Campo das Vertentes de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 8, p. 690-696, 2011.

THOMSON, S.; HAMILTON, C. A.; HOPE, J. C.; KATZER, F.; MABBOTT, N. A.; MORRISON, L. J.; INNES, E. A. Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. **Veterinary Research**, v. 48, 42, 2017.

THOMSON, S.; INNES, E. A.; JONSSON, N. N.; KATZER, F. Shedding of *Cryptosporidium* in calves and dams: evidence of re-infection and shedding of different gp60 subtypes. **Parasitology**, v. 146, n. 11, p. 1404-1413, 2019.

TOLEDO, R. S.; MARTINS, F. D. C.; FERREIRA, F. P.; ALMEIDA, J. C.; OGAWA, L.; SANTOS, H. L. E. P. L.; SANTOS, M. M.; PINHEIRO, F. A.; NAVARRO, I. T.; GARCIA, J. L.; FREIRE, R. L. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in feces and water and the associated exposure factors on dairy farms. **PLoS ONE**, v. 12, n. 4, e0175311, 2017.

VOLPATO, A.; TONIN, A. A.; MACHADO, G.; STEFANI, L. M.; CAMPIGOTTO, G.; GLOMBOWSKY, P.; GALLI, G. M.; FAVERO, J. F.; SILVA, A. S. Gastrointestinal protozoa in dairy calves: identification of risk factors for infection. **Revista MVZ Córdoba**, v. 22, n. 2, p. 5910-5924, 2017.

YAP, N. J.; KOEHLER, A. V.; EBNER, J.; TAN, T. K.; LIM, Y. A. L.; GASSER, R. B. Molecular analysis of *Cryptosporidium* from cattle from five states of Peninsular Malaysia. **Molecular and Cellular Probes**, v. 30, n. 1, p. 39-43, 2016.