

OS DESAFIOS DA PROTOZOSES INTESTINAIS EM OVINOS: CONHECER PARA CONTROLAR

Natália Soares Martins¹, Sara Patron da Motta¹, Carolina Caetano dos Santos¹, Nara Amélia da Rosa Farias¹ e Jerônimo Lopes Ruas¹

1. Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

RESUMO

Atualmente a pecuária desempenha um papel fundamental no desenvolvimento da economia do país. No Brasil, a ovinocultura caracteriza-se pela exploração de carne, lã, leite. Nas últimas décadas, o consumo de carne ovina aumentou, o que favorece o crescimento e o desenvolvimento da atividade. Contudo, as infecções parasitárias influenciam na redução do desempenho por animal. Dentre estas, destaca-se a coccidiose, enfermidade causada pelo protozoário *Eimeria* spp. que causa redução do ganho de peso, da taxa de crescimento e aumenta a susceptibilidade a outras doenças, sendo mais frequente em animais jovens. Outras doenças causadas por protozoários intestinais, como a criptosporidiose e a giardíase, têm sido reconhecidas como importantes parasitoses em diversas espécies de animais domésticos, podendo causar diarreia e subdesenvolvimento em cordeiros jovens. Vale ressaltar que *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* têm potencial zoonótico e os humanos podem adquirir a infecção por contato direto com outros indivíduos ou animais infectados e pela ingestão de alimentos ou água contaminados. As protozooses intestinais ocasionam perdas econômicas consideráveis na ovinocultura, com redução da produtividade, especialmente em sistemas de manejo ou programas de controle parasitários deficientes, portanto o conhecimento do conjunto de fatores epidemiológicos que envolve esses agentes é fundamental para auxiliar os criadores no controle dessas parasitoses.

Palavras-chave: *Eimeria*, *Cryptosporidium* e *Giardia*.

ABSTRACT

Currently, livestock production is fundamental in the Brazilian economy. In this country, sheep industry is characterized by the exploitation of meat, wool and milk. In the last decades the consumption of sheep meat has been an increase, which favors the expand and development of sheep husbandry. However, parasitic infections reduce animal performance. Among these, coccidiosis stands out. This parasitic disease is caused by the protozoan *Eimeria* spp., which leads to reduction in weight gain, growth rate and increases the susceptibility to other diseases, being more frequent in young animals. Other diseases caused by intestinal protozoa, such as cryptosporidiosis and giardiasis, have been recognized as important parasites in several species of domestic animals, causing diarrhea and underdevelopment in young lambs. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* have zoonotic potential and humans can acquire the infection by direct contact with other infected individuals or animals

and eating contaminated food or water. Intestinal protozoosis causes considerable economic losses in sheep farming, with reduced productivity, especially in management systems or deficient parasite control programs. Knowledge of the epidemiological factors of these agents is essential for the control of these parasites.

Keywords: *Eimeria*, *Cryptosporidium* e *Giardia*.

1. INTRODUÇÃO

A crescente valorização da pecuária brasileira permitiu a modernização do setor produtivo, alavancada por investimentos em genética, nutrição e sanidade de rebanhos. Entretanto, o cenário da ovinocultura ainda envolve muitas incertezas. Dentre os principais obstáculos para que a atividade se torne comercialmente viável, destacam-se as infecções parasitárias, influenciando diretamente na redução de produtividade do sistema.

Dentre estas, destaca-se o protozoário *Eimeria*, responsável por promover consideráveis perdas econômicas na ovinocultura, resultantes da redução do ganho de peso, da taxa de crescimento e aumento da susceptibilidade a outros agentes infecciosos, sendo mais frequente em ovinos jovens (KEETON; NAVARRE, 2017). Outros protozoários intestinais que infectam ovinos, são *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis*, podendo causar diarreia e subdesenvolvimento em cordeiros jovens. Vale ressaltar que *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* têm potencial zoonótico e os humanos podem adquirir a infecção por contato direto com outros indivíduos ou animais infectados, pela ingestão de alimentos ou água contaminados (RYAN; FAYER; XIAO, 2014).

Os protozoários intestinais são um problema substancial, causando relevante impacto econômico na pecuária. O desconhecimento acerca desses parasitos prejudica o emprego de medidas profiláticas e higiênico-sanitárias para coibir sua transmissão dentro dos rebanhos. A compreensão da epidemiologia destas enfermidades é imprescindível para elaboração de planos de controle eficientes e sustentáveis.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Eimeria* spp.

Eimeria spp. é um protozoário da Classe Sporozoasida, Família Eimeriidae. Estes parasitos afetam porções do trato gastrintestinal de seus hospedeiros. Os animais se

infectam por via oral, através da ingestão de oocistos esporulados, e podem ser acometidos simultaneamente por diferentes espécies do parasito. O ciclo de vida é complexo e envolve estágios sexuais e assexuais. Este parasito causa a Eimeriose ou Coccidiose, enfermidade importante em ruminantes, nos quais pode causar infecção subclínica ou clínica (ANDREWS, 2013; KEETON; NAVARRE, 2017).

A gravidade da doença varia de autolimitante, na qual os animais se recuperam sem tratamento, até casos graves, nos quais o quadro clínico evolui rapidamente, culminando no óbito. A infecção subclínica causa redução do ganho de peso, da taxa de crescimento e aumenta a susceptibilidade a outras doenças. A Eimeriose clínica ocasiona desde perda da capacidade de formar ciberbas fecais, até perda de peso, fraqueza, dor abdominal, desidratação, anorexia e diarreia (CHARTIER; PARAUD, 2012).

Eimeria é comum em ovinos de todas as idades, entretanto é mais prevalente em animais jovens recentemente desmamados ou criados em sistemas de confinamento (KOMMURU et al., 2014; TAYLOR; COOP; WALL, 2017). Os ovinos adultos desenvolvem imunidade frente as espécies de eimerídeos que são expostos quando jovens, entretanto esta proteção não é absoluta, uma vez que, os animais podem se reinfetar, tornando-se portadores assintomáticos e servindo como fontes de infecção para os mais jovens.

2.1.1. Biologia

Ao menos onze espécies de *Eimeria* são conhecidas por infectarem ovinos, sendo *Eimeria crandallis* e *Eimeria ovinoidealis* as mais patogênicas. A infecção é altamente espécie-específica, não havendo transmissão cruzada para outros hospedeiros, como caprinos, por exemplo (CHARTIER; PARAUD, 2012).

O complexo ciclo de vida dos protozoários do gênero *Eimeria* pode ser dividido em duas fases: endógena (período parasitário) e exógena (período de vida livre no ambiente) (KEETON; NAVARRE, 2017). No interior do hospedeiro, ocorrem os processos denominados merogonia e gametogonia, fases assexuada e sexuada do ciclo, respectivamente. No ambiente, ocorre a esporogonia que dá origem aos oocistos esporulados, formas infectantes de *Eimeria* (ZACHARY; MCGAVIN, 2013). A ruptura dos enterócitos infectados ocorre em todos os estágios endógenos do ciclo de vida do parasito e este processo de destruição celular está diretamente relacionado aos efeitos deletérios causados por *Eimeria* spp.

O hospedeiro se infecta ao ingerir oocistos esporulados juntamente com a água ou alimento. Posteriormente, ocorre a liberação dos esporozoítos por ação da tripsina e bile.

Estes invadem as células epiteliais hospedeiras e, após múltiplas divisões dão origem aos merontes. Transcorridos alguns dias, a divisão se completa e a célula hospedeira se rompe, liberando um grande número de merozoítos que invadem as células adjacentes. Este processo é denominado merogonia e pode repetir-se sucessivas vezes dependendo da espécie de *Eimeria* envolvida. A merogonia se encerra quando os merozoítos dão origem aos macrogametócitos e microgametócitos (KEETON; NAVARRE, 2017; TAYLOR; COOP; WALL, 2017).

Os macrogametócitos dão origem aos macrogametas ou gametas femininos, estruturas unicelulares e imóveis que permanecem no interior da célula hospedeira. Em contrapartida, microgametas ou gametas masculinos, são formados após múltiplas divisões dos microgametócitos, originando estruturas flageladas denominadas microgametas, que são liberados após a ruptura da célula hospedeira. Os microgametas penetram nos macrogametas, havendo a fusão dos núcleos, dando origem ao zigoto. Ocorre a formação de uma parede cística ao redor do zigoto, formando o oocisto. Após a ruptura celular, os oocistos não esporulados são liberados juntamente com as fezes. Para tornarem-se infectantes, os oocistos necessitam passar pelo processo de esporogonia no ambiente, culminando na formação do oocisto esporulado. Este possui quatro esporocistos, cada qual com dois esporozoítos em seu interior (KEETON; NAVARRE, 2017; TAYLOR; COOP; WALL, 2017).

2.1.2. Epidemiologia

A eimeriose é uma parasitose de distribuição cosmopolita, sendo mais comum em animais jovens. Maiores índices de contaminação ocorrem em áreas com maior agrupamento de animais e concentração de material fecal, como por exemplo, estábulos, confinamentos e apriscos. Em animais criados a campo, a superlotação de piquetes também favorece a infecção por *Eimeria*, especialmente em torno de áreas de irrigação e alimentação. Águas paradas são bons reservatórios de oocistos tanto a campo, quanto em estábulos (MITCHELL et al., 2012). No ambiente, os oocistos esporulados são extremamente resistentes podendo sobreviver por semanas ou meses, dependendo das condições climáticas (KEETON; NAVARRE, 2017).

A severidade da infecção, os sinais clínicos e a quantidade de eliminação de oocistos vão variar conforme as espécies de *Eimeria* envolvidas. A idade dos hospedeiros e fatores estressores (desmame, clima, má nutrição, entre outros) podem contribuir para a diminuição

da imunidade dos animais e conseqüente aumento da suscetibilidade à coccidiose. A eimeriose subclínica geralmente está associada à infecção por espécies pouco patogênicas ou ao prévio desenvolvimento de imunidade competente, mas mesmo assim, podem levar à redução do crescimento devido à diminuição da eficiência alimentar (DAUGSCHIES et al., 2007; KOUTNY et al., 2012).

2.1.3. Patogenia e patologia

A patogenicidade por espécie está diretamente relacionada com os sítios de infecção e a quantidade de oocistos esporulados ingeridos pelo hospedeiro. Os coccídios que invadem apenas o intestino delgado, geralmente produzem menos efeitos patogênicos, uma vez que se trata de um órgão muito longo, garantindo um grande número de células hospedeiras e, conseqüentemente, um alto potencial de replicação parasitária com dano mínimo, havendo ainda possibilidade de compensação por parte do intestino grosso (TAYLOR, 2000). As espécies de *Eimeria* que infectam o intestino grosso tendem a ser mais patogênicas, visto que a taxa de multiplicação dos enterócitos é muito menor e não há efeito compensatório de outras regiões do intestino, o que resulta redução da absorção de água, acarretando em diarreia (TAYLOR, 2000). Os animais jovens são mais suscetíveis à doença devido à reduzida renovação epitelial (ZACHARY; MCGAVIN, 2013).

As lesões têm caráter proliferativo e ocorrem por meio da hipertrofia e hiperplasia dos enterócitos infectados, culminando na morte das células devido a liberação das formas de vida do parasito. Macroscopicamente é observado espessamento focal de mucosa em padrão adenomatoso a cerebriforme, bem como hiperemia ativa, hemorragia e necrose; cilindros fibrinosos e/ou fibrino-hemorrágicos podem ser observados no lúmen intestinal (ZACHARY; MCGAVIN, 2013). Devido a essas alterações, a área disponível para absorção na mucosa é diminuída, acarretando em redução do ganho de peso e desidratação. O resultado destes processos é o subdesenvolvimento de cordeiros e, em casos mais graves, a morte.

2.1.4. Sinais clínicos

Nos ovinos, os sinais clínicos são geralmente mínimos e, na maioria dos animais, inaparentes. Entretanto, é comum haver algum grau de inapetência ou anorexia, bem como redução no ganho de peso e/ou emagrecimento e atraso de desenvolvimento (ANDREWS,

2013). Pode-se observar diarreia aquosa, raramente sanguinolenta, inapetência e desidratação (CHARTIER; PARAUD, 2012). Um indicativo de que os animais possam estar infectados por espécies de *Eimeria* é a observação, durante o exame físico, de sujidades fecais nos quartos posteriores devido à perda da consistência fisiológica das fezes. Com o agravamento do quadro clínico, os cordeiros desenvolvem diarreia aquosa profusa que pode conter estrias de sangue. Se não for realizado tratamento, o óbito ocorre em decorrência da desidratação intensa (TAYLOR; COOP; WALL, 2017).

Vale ressaltar, que o efeito patogênico dos coccídios é frequentemente agravado por outros agentes patogênicos, como os nematoides, vírus ou bactérias gastrintestinais (DE WALL, 2012).

2.1.5. Diagnóstico

Para obtenção de um diagnóstico apurado é necessário conduzir uma avaliação epidemiológica da propriedade e rebanho, afim de estabelecer ligações entre o manejo dos animais, achados clínicos, achados macroscópicos, microscópicos e exames coproparasitológicos. A suspeita deve estar relacionada à presença de fatores desencadeadores da infecção, como a idade dos animais, desmama, presença de aguadas, fatores climáticos favoráveis, superlotação de piquetes, má higiene de instalações e cochos, entre outros.

Na presença de óbitos, uma necropsia deve ser conduzida, visando identificar áreas com alterações compatíveis com coccidiose. Vale ressaltar que, a ausência de oocistos não significa que o animal não esteja com coccidiose, pois na fase aguda da doença, pode não haver eliminação destes nas fezes, mas grande quantidade de merontes ou gametócitos nas células intestinais, os quais são observados à necropsia através de raspado da mucosa intestinal (GREGORY et al., 1980; LIMA, 2004).

A análise coproparasitológica para detectar a presença de oocistos nas fezes dos ruminantes é realizada por técnicas de flutuação com solução saturada. Um exame frequentemente empregado para o diagnóstico de *Eimeria* em ruminantes é a técnica de Gordon e Whitlock (1939) que permite quantificar o número de oocistos por grama de fezes (OoPG). Para dimensionar a intensidade da infecção, pode ser estabelecido um sistema de escala de quatro escores, classificando as amostras do rebanho como: classe 1 (isentas de coccídios), classe 2 (<1.800 OoPG), classe 3 (1.800 a 6.000 OoPG) e classe 4 (>6.000 OoPG) (IDRIS et al., 2012).

Por vezes, os resultados dos exames coproparasitológicos não são suficientes para o diagnóstico individual da coccidiose, pois nem sempre animais que estão apresentando sinais clínicos têm altos índices de eliminação de oocistos. Entretanto, estas análises são ferramentas úteis na avaliação da infecção no rebanho (LIMA, 2004). Para tanto, recomenda-se a colheita de amostra fecal diretamente da ampola retal de pelo menos 10% do total de animais de cada categoria, realizando a remessa do material coletado ao laboratório em caixas isotérmicas, para manter a integridade das amostras. A partir dos valores de OoPG obtidos por meio da técnica de Gordon e Whitlock modificada (UENO; GONÇALVES, 1998), o veterinário de campo pode ter uma avaliação geral do grau de infecção do rebanho.

Nos casos da presença de oocistos nas fezes, deve-se identificar a espécie de *Eimeria*, pois infecções com espécies não patogênicas podem ocorrer. O diagnóstico para detectar as espécies presentes nas fezes dos animais, é realizado por meio da análise da morfologia e morfometria dos oocistos em microscopia óptica, após esporulação em dicromato de potássio a 2%. Além da análise morfológica, técnicas moleculares podem ser usadas para a identificação específica do parasito (DE WALL, 2012), contudo seu uso geralmente é limitado a trabalhos de investigação científica devido ao alto custo em comparação aos métodos tradicionais de diagnóstico.

2.1.6. Controle

O controle bem-sucedido da coccidiose pode ser alcançado quando há conhecimento detalhado sobre o sistema de produção do rebanho específico. De maneira geral, o controle deve focar em proporcionar condições higiênicas nas instalações, redução de fatores estressantes, nutrição adequada e uso de drogas anticoccidianas. Adoção e melhorias nas medidas higiênicas são essenciais para evitar o aparecimento da forma clínica da coccidiose, principalmente em sistemas intensivos de produção (CHARTIER; PARAUD, 2012).

Para o controle da eimeriose, medidas profiláticas são imprescindíveis, tanto pelas perdas econômicas relacionadas às infecções subclínicas, quanto pelos custos do tratamento químico (KEETON; NAVARRE, 2017). Minimizar o estresse dos animais, evitar a superlotação de estábulos e piquetes, promover a limpeza frequente de bebedouros e comedouros, bem como mantê-los acima do solo, são medidas profiláticas que podem ser adotadas nas propriedades. A exposição à luz solar e consequente dessecação de oocistos também são meios capazes de reduzir a contaminação ambiental com oocistos (KEETON; NAVARRE, 2017).

Os princípios ativos de ação específica frente aos eimerídeos são denominados anticoccidianos e classificados como coccidiostáticos, que inibem o crescimento celular do parasito; e coccididas, que interrompem o ciclo de desenvolvimento e o destroem. Destacam-se o amprólio, o decoquinato, o toltrazuril, as sulfonamidas e antibióticos ionóforos (monensina, salinomina e lasalocida) (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2018). O uso de drogas anticoccidianas deve ser recomendado quando as alternativas profiláticas de higienização e manejo se mostrarem ineficientes ou em propriedades com histórico de surtos de coccidiose.

2.2. *Cryptosporidium* spp.

Cryptosporidium é um parasito pertencente ao Filo Apicomplexa que acomete principalmente o sistema gastrointestinal de diferentes espécies como peixes, anfíbios, aves, répteis e mamíferos (XIAO et al., 2004; FAYER, 2010). Parasita microvilosidades das células epiteliais do trato gastrointestinal de vertebrados, causando inflamação e atrofia, determinando a perda da superfície de absorção, com desequilíbrios no transporte de nutrientes (XIAO et al., 2004; THOMPSON; PALMER; O'HANDLEY, 2008).

A partir da década de 1980 os estudos relacionados a *Cryptosporidium* spp. se intensificaram, o que demonstrou seu potencial zoonótico e capacidade de causar grandes perdas econômicas. Assim, tem sido considerada uma enfermidade importante também em animais de produção (OLSON et al., 2004). Em ruminantes está diretamente relacionada às síndromes diarreicas neonatais, mostrando-se como um oportunista, agindo em conjunto com outros patógenos presentes (RIBEIRO et al., 2000).

2.2.1. Biologia

Diferentes espécies de *Cryptosporidium* são conhecidas atualmente, e têm como característica sua morfologia quase idêntica, sendo possível a determinação da espécie por técnicas moleculares e de genotipagem e subgenotipagem. Apresenta seus oocistos ovoides a esferoidais com aproximadamente 5,0 x 4,5 µm, contendo quatro esporozoítos semelhantes a vírgulas no interior, sem formação de esporocistos, parede dupla formada por glicoproteínas externamente e na camada interna filamentosa, o que facilita a autoinfecção (THOMPSON et al., 2005; TAYLOR, 2017).

Por um longo tempo, *Cryptosporidium* spp. era considerado um protozoário intracelular obrigatório. Entretanto, estudos recentes demonstraram que o mesmo não tem necessidade de parasitar células hospedeiras para seu desenvolvimento, fato que o difere de coccídios em geral (YANG et al., 2015; THOMPSON; ASH., 2019).

A infecção se dá diretamente pela ingestão de oocistos (fonte de infecção) presentes nas fezes de humanos ou animais, ou de maneira indireta através de alimentos ou água contaminada. No trato gastrointestinal ocorre a liberação dos esporozoítos, que invadem células epiteliais das criptas, localizando-se intracelular e extracitoplasmática. Neste momento ocorre a fase assexuada, onde se formam os merontes (tipo I e II) levando a multiplicação de vários merozoítos e sua liberação para o meio (luz intestinal) e invasão de novas células com formação da segunda geração de merontes. Posteriormente é iniciada a fase de reprodução sexuada, na qual, se formam microgametas (gametas masculinos) e macrogametas (gametas femininos). Há fertilização do macrogameta pelos microgametas e assim originam o zigoto, que ainda passa por uma fase de esporogonia para que ocorra esporulação no interior do hospedeiro, e quando ao atingir o ambiente junto das fezes, já são considerados formas infectantes. Em alguns casos oocistos de parede simples se formam levando a autoinfecção, rompendo-se ainda no interior do organismo do hospedeiro (CACIO; PUTIGNANI, 2014; TAYLOR, 2017).

2.2.2. Epidemiologia

Alguns pontos como manejo e características dos ruminantes demonstraram ser fatores de risco para disseminação da criptosporidiose. A presença de oocistos contaminando o teto da vaca e assim infectando bezerros nas primeiras horas de vida é um risco epidemiológico importante (FEITOSA et al., 2008). A idade dos animais é vista como fator de risco, considerando os animais jovens mais susceptíveis e os adultos assintomáticos como fonte de infecção (RIBEIRO et al., 2000). Além da faixa etária, outro ponto importante é o sistema de criação, no qual o método intensivo com animais em ambiente confinado favorece o aumento de dejetos e umidade, elevando os riscos de infecção pelo protozoário (COSENDEY et al., 2008).

Estudos epidemiológicos moleculares mais recentes observaram uma diversidade genética intra-espécies o que melhora a compreensão da genética populacional de infecções por *Cryptosporidium* (FENG et al., 2018). Alguns autores determinaram a natureza endêmica de *C. parvum* em bovinos de fazendas leiteiras e confirmaram a distinção genética e o

importante papel da transmissão de genótipos nas fazendas. Assim como também foi possível caracterizar fontes de infecção a partir da identificação de subtipos de *C. hominis* (BESER et al., 2017; NG-HUBLIN et al., 2018; AVENDANO et al., 2019).

2.2.3. Patogenia e patologia

Após a invasão de *Cryptosporidium* no trato gastrointestinal, há formação do vacúolo parasitóforo, com a presença do protozoário em suas fases de multiplicação. O contato do parasito com a superfície apical da célula epitelial ativa uma cascata de sinalizações que culminam com inibição de apoptose, danos celulares e aumento de secreção de fluidos das criptas, contribuindo para a diarreia, má absorção de nutrientes e morte celular (CERTAD et al., 2017).

A criptosporidiose pode causar extensos danos no trato gastrintestinal dos ruminantes, ocasionando congestão vascular e distensão das alças intestinais pela presença de gás. A nível celular pode ser observado necrose e achatamento das vilosidades intestinais com atrofia e fusão (VARGAS et al., 2014).

2.2.4. Sinais clínicos

Os sinais clínicos podem surgir após um período de incubação de dois a 14 dias com diarreia intensa, perda de peso e, em algumas ocasiões, febre baixa (CHEN et al., 2002). Na maioria dos casos os sinais são inespecíficos, porém alguns estudos relatam ainda a ocorrência de animais debilitados logo após ao nascimento devido a infecção nas primeiras horas de vida, com intensa diarreia amarelada, emagrecimento progressivo, desidratação e depressão (VARGAS et al., 2014).

2.2.5. Diagnóstico

O diagnóstico é realizado através de um apanhado de informações epidemiológicas, demonstrações clínicas e achados laboratoriais que envolvem a presença de oocistos nas fezes, utilização de técnicas imunológicas e moleculares. Em caso de morte os sinais macro e microscópicos encontrados durante a necropsia e no exame histopatológico podem auxiliar na obtenção do diagnóstico final (VARGAS et al., 2014).

Na rotina laboratorial alguns métodos são utilizados para concentração de oocistos como a técnica de Sheater e Ritchie modificada por Young (1979) Para uma melhor visualização dos oocistos, técnicas de coloração como Ziehl-Nielsen, Kynioum e técnica de Auramina são frequentemente utilizadas (YOUNG, 1979; DE CARLI, 2001).

2.2.6. Controle

O ponto principal para o controle e prevenção contra *Cryptosporidium* spp. é o manejo e higiene adequados, evitando a presença do protozoário no ambiente. É importante ressaltar que não existem medicações específicas para o tratamento deste parasito em animais, e que o mesmo é resistente a alguns desinfetantes. Além disso, pelo seu tamanho reduzido, consegue passar através de filtros comuns (HELLER et al., 2004; VARGAS et al., 2014)

Assim, deve-se evitar o contato dos animais com matéria fecal, elevando os seus comedouros e bebedouros, assegurar que recém-nascidos mamem o colostro nas primeiras 24 horas de vida e preferencialmente que permaneçam com suas mães em locais limpos e sem aglomerações, para que se diminuam as perdas econômicas e também os riscos à saúde humana e animal (VARGAS et al., 2014; TAYLOR, 2017).

2.3. GIARDIA DUODENALIS

Giardia duodenalis (sin. *Giardia lamblia*, *Giardia intestinalis*) é um parasito flagelado, agente causal da giardíase. É um dos protozoários entéricos mais comuns em mamíferos e humanos em todo o mundo (CACCIO; RYAN, 2008; LYU et al., 2018). A transmissão ocorre pela via fecal-oral e após a infecção, pode levar ao desenvolvimento da giardíase, doença clínica geralmente autolimitada, que é caracterizada pela presença de diarreia, cólicas abdominais, distensão abdominal, perda de peso e má absorção (FENG; XIAO, 2011).

São conhecidos oito grupos genéticos (ou assembleias) de *G. duodenalis* (denominadas de A a H): os grupos A e B apresentam uma ampla gama de hospedeiros e são zoonóticos, infectando humanos e animais (XIAO; FAYER, 2008). As demais assembleias são adaptadas aos hospedeiros, sendo que C e D geralmente são encontradas em caninos; o grupo E é mais comum a ruminantes, como bovinos e ovinos, e também a suínos; assembleia F ocorre apenas em felinos; G em roedores e a assembleia H em animais marinhos (LASEK-NESELQUIST et al., 2010; FENG; XIAO, 2011).

Os ovinos são mais suscetíveis a três grupos genéticos de *G. duodenalis*: os genótipos zoonóticos A e B e o genótipo E, comum a ruminantes. No entanto também há relato da ocorrência do genótipo D nesses hospedeiros (SAHRAOUI et. al, 2019; SANTIN, 2020).

2.3.1. Biologia

G. duodenalis possui um ciclo de vida simples e apresenta apenas dois estágios de desenvolvimento, o cisto e o trofozoíto. O ciclo de vida começa através da ingestão de cistos, forma infectante do parasito. O desencistamento ocorre no intestino delgado, liberando dois trofozoítos, que se multiplicam por fissão binária longitudinal, permanecendo livres no lúmen do intestino delgado ou aderidos à mucosa através do disco de sucção ventral. À medida que o protozoário transita em direção ao intestino grosso ocorre a formação do cisto que, por fim, será eliminado nas fezes (SANTÍN, 2020).

O cisto é a forma ambientalmente resistente, e será responsável pelo início de um novo ciclo infeccioso do protozoário (CERNIKOVA, FASO, HEHL, 2018). Já é eliminado infectante nas fezes, podendo permanecer no ambiente por meses em condições de umidade adequadas (HUANG; WHITE, 2006). A transmissão do protozoário ocorre por via fecal-oral através do contato direto entre humanos e/ou animais infectados, ou indiretamente, pela ingestão de alimentos ou água contaminados com cistos (FENG; XIAO, 2011).

2.3.2. Epidemiologia

G. duodenalis apresenta distribuição global, infectando humanos e diversos grupos de animais (FENG, XIAO, 2011). Em ovinos, essa infecção é relativamente comum, e foi relatada em várias partes do mundo (SANTÍN et al., 2007; TZANIDAKIS et al., 2014; SAHRAOUI et al, 2019). No Brasil há alguns relatos de infecção pelo parasito nestes animais (SOUZA et al., 2012; GOULART et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2020).

As taxas de infecção por *G. duodenalis* podem apresentar grande variação. Diferentes práticas de manejo, a idade dos animais e o método de diagnóstico utilizado, são fatores que podem contribuir para as diferenças de frequência do parasito (SANTÍN, 2020). Prevalências mais altas são observadas em animais jovens em comparação com adultos (SAHRAOUI et al., 2019; SANTÍN, 2020). Além disso, ausência de condições sanitárias adequadas, com pouco ou nenhum controle da qualidade da água, instalações inapropriadas e destinação de

resíduos de forma inadequada, podem estar potencialmente relacionados a maiores frequências do protozoário (TZANIDAKIS et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2020).

G. duodenalis apresenta importância econômica pelas perdas associadas a infecção, além de representar risco à saúde pública, através da exposição humana à contaminação ambiental por cistos do parasito (FENG; XIAO, 2011; SANTÍN, 2020). O protozoário é responsável por uma das infecções gastrintestinais de veiculação hídrica mais comuns, especialmente nos países emergentes, e ovinos podem apresentar importância epidemiológica através da contaminação de bacias hidrográficas (XIAO; FAYER, 2008). Embora o genótipo E seja comum apenas a ruminantes, os genótipos A e B, detectados em ovinos, são zoonóticos.

2.3.3. Patogenia e patologia

O protozoário coloniza o intestino delgado, preferencialmente o duodeno e jejuno, e não invade os tecidos intestinais (CERTAD et al., 2017). Durante a fase aguda da infecção, o parasito rompe a barreira intestinal composta pela microbiota, muco e o revestimento epitelial, iniciando os processos fisiopatológicos responsáveis pela doença (ALLAIN et al., 2017). *G. duodenalis* pode causar alterações patogênicas no intestino delgado de ruminantes, semelhantes às relatadas em humanos e animais de laboratório infectados, podendo ser observado a atrofia das vilosidades intestinais, hipertrofia das criptas, danos a células epiteliais e extenso infiltrado por linfócitos e leucócitos polimorfonucleares na lâmina própria (TAYLOR; COOP; WALL, 2017).

Há uma sequência de eventos envolvidos na fisiopatologia da diarreia aguda na giardíase. Esses eventos incluem a indução do protozoário a apoptose de enterócitos, aumento da permeabilidade intestinal, ativação de linfócitos hospedeiros, encurtamento mediado por linfócitos T CD8+ de microvilosidades de borda em escova com ou sem atrofia vilosa, deficiências da enzima dissacaridase, má absorção do intestino delgado, hipersecreção de ânions e aumento das taxas de trânsito intestinal (BURET et al., 2015).

Até o momento não há comprovação sobre associação entre as manifestações clínicas e os genótipos encontrados dentro da espécie *G. duodenalis*. No entanto alguns estudos relacionaram sintomas e a gravidade da infecção a algum grupo genético (FANTINATTI et al., 2020).

2.3.4. Sinais clínicos

As infecções em pequenos ruminantes podem ser assintomáticas. No entanto, quando a enfermidade ocorre, os sinais clínicos mais frequentes incluem diarreia pastosa persistente ou ocasional, perda de peso, letargia e redução de crescimento (TAYLOR; COOP; WALL, 2017). Geralmente as manifestações clínicas ocorrem de uma a duas semanas após a infecção (BURET et al., 2015).

Em ovinos foi demonstrado um efeito negativo da giardíase no crescimento de cordeiros, sendo observada diminuição do ganho de peso e prejuízo na deficiência alimentar em animais infectados experimentalmente (OLSON et al., 1995). Devido à influência no crescimento e desenvolvimento desses animais *G. duodenalis* pode levar a prejuízos econômicos aos produtores.

2.3.5. Diagnóstico

Há diferentes formas de detecção de *G. duodenalis*. Os métodos tradicionais de diagnóstico consistem no exame microscópico de fezes de forma direta ou através de técnicas de concentração, como a centrífugo-flutuação em sulfato de zinco 33% (FAUST et al., 1938), que aumentam a sensibilidade do diagnóstico (SANTÍN; TROUT; FAYER, 2007). As duas formas do protozoário podem ser observadas em amostras fecais, e a consistência e o aspecto das fezes fornecem informações sobre a forma evolutiva do parasito que será pesquisada, uma vez que cistos são encontrados em fezes formadas e trofozoítos em fezes diarreicas, frequentemente relacionados a infecções sintomáticas (NEVES, 2005; TAYLOR; COOP; WALL, 2017). É recomendada a coleta de várias amostras fecais, visto que durante as infecções por *Giardia* a excreção de cistos é intermitente (THOMPSON et al., 2008). A microscopia é uma técnica rápida e barata, mas necessita de profissional qualificado e tem a sensibilidade reduzida quando há baixo número de cistos do parasito em amostras de fezes (SOARES; TASCA, 2016).

Métodos imunológicos e moleculares também são utilizados para detecção do protozoário. Atualmente vários testes comerciais estão disponíveis, detectando antígenos dos cistos de *Giardia* em amostras fecais, por imunoensaio, imunofluorescência ou detecção cromatográfica, demonstrando sensibilidade e especificidade maiores que a microscopia (TAYLOR; COOP; WALL, 2017). A utilização de técnicas moleculares vem crescendo, no entanto ainda são pouco empregadas no diagnóstico de rotina, ficando mais restritas às

pesquisas laboratoriais. Além de apresentar maior sensibilidade que os métodos de diagnóstico citados anteriormente, possibilitam a análise da sequência de amostras positivas para a identificação dos grupos genéticos de *G. duodenalis* (SANTÍN, 2020).

2.3.6. Controle

Não há medicamentos ou vacinas licenciadas para *Giardia* em ruminantes. Além disso, o tratamento também é controverso, pois as reinfecções são muito comuns devido aos altos níveis de cistos no ambiente, necessitando de repetidos tratamentos, gerando altos custos aos produtores, e facilitando o desenvolvimento da resistência aos medicamentos (SANTÍN, 2020).

O manejo sanitário adequado é benéfico e contribui para diminuir o número de cistos no ambiente, reduzindo os riscos de infecção. Considerando que a transmissão do protozoário é via fecal-oral, é essencial a realização de boa higiene através da remoção de fezes do alojamento dos animais, limpeza e desinfecção regulares das baias, além da prevenção de contaminação dos alimentos e da água (TAYLOR; COOP; WALL, 2017; SANTÍN, 2020).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas últimas décadas, a compreensão das protozooses intestinais, e seu impacto na vida animal e humana, avançou consideravelmente. Entretanto, frequentemente essas informações se restringem ao ambiente acadêmico, e estes agentes infecciosos permanecem pouco conhecidos pelo público em geral e pelos profissionais da saúde. Por vezes, o impacto da eimeriose nos rebanhos é subestimado e a importância do potencial zoonótico da criptosporidiose e giardíase, desconhecido.

A inespecificidade dos sinais clínicos e a dificuldade de obter um diagnóstico individual por meio de exames coproparasitológicos, são obstáculos a detecção das protozooses pelos veterinários de campo, o que prejudica o emprego de medidas profiláticas para coibir a transmissão dentro dos rebanhos. Dessa forma, o diagnóstico de certeza deve ser baseado em uma análise ampla dos dados clínicos, exame das fezes, necropsia, avaliação meticulosa do manejo dos animais, idade e fatores climáticos. Vale ressaltar, que o curso da infecção

está diretamente relacionado com a imunocompetência do hospedeiro, tornando as infecções normalmente autolimitantes em animais hígidos. Contudo, nos indivíduos imunossuprimidos, o tratamento químico e de suporte é necessário para debelar a infecção.

Com as protozooses intestinais tão disseminadas e prevalentes, e a profilaxia e tratamento terapêutico com opções limitadas, a capacidade de prevenir e controlar essas enfermidades parece estar relacionada com medidas de higiene e saneamento. A remoção das fezes do ambiente, limpeza de comedouros e bebedouros, fornecimento de água de boa qualidade e realização de vazio sanitário nas instalações, contribuem para a redução da contaminação ambiental e infecção dos animais. Entretanto, a alta resistência dos oocistos e cistos a condições climáticas adversas e a vários desinfetantes, dificulta esses processos.

Portanto, para o controle eficaz dessas protozooses é necessária a utilização conjunta de medidas higiênico-sanitárias, garantia de bem-estar animal e a administração de substâncias químicas eficazes em casos de manifestação clínica. A compreensão da epidemiologia destas enfermidades é imprescindível para elaboração de planos de controle eficientes e sustentáveis, sendo fundamental o desenvolvimento de parcerias entre médicos veterinários e produtores rurais. Novos estudos nesta área devem ser incentivados, enfatizando a necessidade do desenvolvimento de programas de diagnóstico e controle, contribuindo para o progresso da ovinocultura.

4. REFERÊNCIAS

ALLAIN, T.; AMAT, C.B.; MOTTA, J.P.; MANKO, A., BURET, A.G., 2017. Interactions of *Giardia* sp. with the intestinal barrier: epithelium, mucus, and microbiota. **Tissue Barriers**, v. 5, n. 1, p. e1274354, 2017.

ANDREWS, A.H. Some aspects of coccidiosis in sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v. 110, p. 93-95, 2013.

AVENDAÑO, C.; RAMO, A.; VERGARA-CASTIBLANCO, C.; MONTEAGUDO, L.V.; SÁNCHEZ-ACEDO, C.; QUÍLEZ, J. Multilocus fragment analysis of *Cryptosporidium parvum* from pre-weaned calves in Colombia. **Acta Tropica**, v. 192, p. 151-157, 2019.

BESER, J.; HALLSTRÖM, B.M.; ADVANI, A.; ANDERSSON, S.; ÖSTLUND, G.; WINIECKA-KRUSNELL, J.; et al. Improving the genotyping resolution of *Cryptosporidium hominis* subtype IbA10G2 using one step PCR-based amplicon sequencing. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 55, p. 297-304, 2017.

BURET, A.G.; AMAT, C.B.; MANKO, A.; BEATTY, J.K.; HALLIEZ, M.C.; BHARGAVA, A.; et al. *Giardia duodenalis*: new research developments in pathophysiology, pathogenesis, and virulence factors. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 2, n. 3, p. 110-118, 2015.

- CACCIÒ, S. M.; PUTIGNANI, L. **Epidemiology of Human Cryptosporidiosis**. In: CACCIÒ, S. M.; WIDMER, G. *Cryptosporidium: parasite and disease*. 1ª ed, Springer, 2014.
- CACCIÒ, S.M.; RYAN, U. Molecular epidemiology of giardiasis. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 160, n. 2, p. 75-80, 2008.
- CERNIKOVA, L.; FASO, C.; HEHL, A.B. Five facts about *Giardia lamblia*. **PLoS pathogens**, v. 14, n. 9, 2018.
- CERTAD, G.; VISCOGLIOSI, E.; CHABÉ, M.; CACCIÒ, S. M. Pathogenic mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Trends in Parasitology**, v. 33, n. 7, p. 561-576, 2017.
- CHARTIER, C.; PARAUD, C. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. **Small Ruminant Research**, v. 103, p. 84-92, 2012.
- CHEN, X.-M.; KEITHLY, J.S.; PAYA, C.V.; LARUSSO, N.F. Cryptosporidiosis. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 22, p. 1723-1731, 2002.
- COSENDEY, R.I.J.; FIUZA, A.R.S.; DE OLIVEIRA, F.C.R. Importância do manejo na criptosporidiose em criações de ovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 209-214, 2008.
- DAUGSCHIES, A.; AGNEESSENS, J.; GOOSSENS, L.; MENGEL, H.; VEYS, P. The effect of a metaphylactic treatment with diclazuril (Vecoxan) on the oocyst excretion and growth performance of calves exposed to a natural *Eimeria* infection. **Veterinary Parasitology**, v. 149, p. 199-206, 2007.
- DE CARLI, G.A.; MOURA, H. **Métodos de Coloração para Coccídios Intestinais**. In: DE CARLI, G. A. Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas. 1ª ed, Editora Atheneu Ltda, 2001.
- DE WALL, T. Advances in diagnosis of protozoan diseases. **Veterinary Parasitology**, v. 189, p. 65-74, 2012.
- FANTINATTI, M.; GONÇALVES-PINTO, M.; LOPES-OLIVEIRA, L.A.P.; DA-CRUZ, A.M. Epidemiology of *Giardia duodenalis* assemblages in Brazil: there is still a long way to go. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, p. e200431, 2020.
- FAUST, E. C.; D'ANTONI, J. S.; ODOM, V.; MILLER, M. J.; PERES, C.; SAWITZ, W.; et al. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. Preliminary communication. **American Journal of Tropical Medicine**, v. 18, p. 169-183, 1938.
- FAYER, R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. **Experimental Parasitology**, v. 124, n. 1, p. 90-97, 2010.
- FEITOSA, F.L.F; SHIMAMURA, G.M.; ROBERTO, T; MENDES, L.C.N.; PEIRÓ, J.R.; FÉRES, F.C. et al. Importância do *Cryptosporidium* spp. como causa de diarreia em bezerros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 10, p. 452-456, 2008.
- FENG Y.; XIAO L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 1, p. 110–140, 2011.
- FENG, Y.; KARNA, S.R.; DEAREN, T.K.; SINGH, D.K.; ADHIKARI, L.N.; SHRESTHA, A.; et al. Common occurrence of a unique *Cryptosporidium ryanae* variant in zebu cattle and water

buffaloes in the buffer zone of the Chitwan National Park, Nepal. **Veterinary Parasitology**, v. 185, n. 2-4, p. 309-314, 2008.

GOULART, P.R.M.; SUDRÉ, A.P.; PEREIRA, P.F.V.; BASTOS, B.F.; BRENER, B. *Giardia duodenalis* associated with other gastrointestinal parasites in sheep in the North of the Brazilian state of Parana. **Veterinária Notícias**, v. 26, n. 1, p. 13-13, 2020.

GREGORY, M.W.; JOYNER, L.P.; CATCHPOLE, J.; NORTON, C.C. Ovine coccidiosis in England and Wales 1978-1979. **Veterinary Record**, v. 106, p. 461-462, 1980.

HELLER, L.; BASTOS, R.K.X.; VIEIRA, M.B.C.M.; BEVILACQUA, P.D.; BRITO, L.L.A.D.; MOTA, S.M.M.; et al. Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*: circulação no ambiente e riscos à saúde humana. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 13, n. 2, p. 79-92, 2004.

HUANG, D.B.; WHITE, A.C. An updated review on *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Gastroenterology Clinics of North America**, v. 35, p. 291-314, 2006.

IDRIS, A.; MOORS, E.; SOHNREY, B.; GAULY, M. Gastrointestinal nematode infections in German sheep. **Parasitology Research**, v. 110, p. 1453-1459, 2012.

KEETON, S.T.N.; NAVARRE, C.B. Coccidiosis in Large and Small Ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 34, n. 1, p. 201-208, 2017.

KOMMURU, D. S.; BARKER, T.; DESAI, S.; BURKE, J. M.; RAMSAY, A.; MUELLER-HARVEY, I.; et al. Use of pelleted sericea lespedeza (*Lespedeza cuneata*) for natural control of coccidia and gastrointestinal nematodes in weaned goats. **Veterinary Parasitology**, v. 204, p. 191-198, 2014.

KOUTNY, H.; JOACHIM, A.; TICHY, A.; BAUMGARTNER, W. Bovine *Eimeria* species in Austria. **Parasitology Research**, v. 110, p. 1893-1901, 2012.

LASEK-NESELQUIST, E.; WELCH, D.M.; SOGIN, M.L. The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marine systems. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 9, p. 1063-1074, 2010.

LIMA, J.D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. supl. 1, 2004.

LYU, L.; SHAO, J.; XUE, M.; YE, Q.; CHEN, B.; QIN, Y.; et al. A new species of *Giardia* Künstler, 1882 (Sarcomastigophora: Hexamitidae) in hamsters. **Parasites & Vectors**, v.11, p. 202, 2018.

MITCHELL, E.S.; SMITH, R.P.; ELLIS-IVERSEN, J. Husbandry risk factors associated with subclinical coccidiosis in young cattle. **The Veterinary Journal**, v.193, p.119-123, 2012.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 11^a ed, Atheneu, 2005.

NG-HUBLIN, J.S.Y.; COMBS, B.; REID, S.; RYAN, U. Comparison of three cryptosporidiosis outbreaks in Western Australia: 2003, 2007 and 2011. **Epidemiology & Infection**, v. 146, n. 11, p. 1413-1424, 2018.

OLIVEIRA, R.P.; AGUIAR, A.T.S.; CARVALHO, S.M.R.; SILVA, C.N.; MARINHO, G.L.O.C.; SCHWARZ, D.G.G.; et al. Occurrence of natural infection by *Giardia* sp. in goats and sheep

reared in extensive system in cerrado of Piauí, Brazil. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 76457-76464, 2020.

OLSON, M.E.; MCALLISTER, T.A.; DESELLIERS, L.; MORCK, D.W.; CHENG, K.J.; BURET, A.G.; et al. Effects of giardiasis on production in a domestic ruminant (lamb) model. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, p. 1470–1474, 1995.

OLSON, M.E.; O'HANDLEY, R.M.; RALSTON, B.J.; MCALLISTER, T.A.; THOMPSON, R.C.A. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. **Trends Parasitology**, v. 20, p. 185-191, 2004.

RIBEIRO, M.G.; LANGONF, H.; JEREZ, J.A.; LEITE, D.S.; FERREIRA, F.; GENNARI, S.M. Identification of enteropathogens from buffalo calves with and without diarrhoea in the Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 2, p. 159-165, 2000.

RYAN, U.; FAYER, R.; XIAO, L. *Cryptosporidium* species in humans and animals: Current understanding and research needs. **Parasitology**, v. 141, n. 13, p. 1667-1685, 2014.

SAHRAOUI L.; THOMAS M.; CHEVILLOT A.; MAMMERI, M.; POLACK, B.; VALLÉE, I.; et al. Molecular characterization of zoonotic *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* pathogens in Algerian sheep. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 16, p. 100280, 2019.

SANTÍN, M. *Cryptosporidium* and *Giardia* in Ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 36, n. 1, p. 223–238, 2020.

SANTÍN, M.; TROUT, J.M.; FAYER, R. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* species and genotypes in sheep in Maryland. **Veterinary Parasitology**, v. 146, p. 17–24, 2007.

SOARES, R.; TASCA, T. Giardiasis: an update review on sensitivity and specificity of methods for laboratorial diagnosis. **Journal of Microbiological Methods**, v. 129, p. 98–102, 2016.

SOUZA, M.F.; PIMENTEL-NETO, M.; SILVA, R.M.; FARIAS, A.C.B. GUIMARAES, M.P. Gastrointestinal parasites of sheep, municipality of Lajes, Rio Grande do Norte, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 1, p. 71- 73, 2012.

SPINOSA, H.S; GÓRNIAC, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6ª ed, Guanabara Koogan, 2018.

TAYLOR, M. Protozoal disease in cattle and sheep. **In Practice**, v. 22, p. 604-617, 2000.

TAYLOR, M.A., COOP, R.L.; WALL, R.L. **Parasitologia Veterinária**. 4ª ed, Guanabara Koogan, 2017.

THOMPSON, R.C.; ASH, A. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections – What's new? **Infection, Genetics and Evolution**, v. 75, p. 103951, 2019.

THOMPSON, R.C.; OLSON, M.E; ZHU, G.; ENOMOTO, S.; ABRAHAMSEN, M.S.; HIJJAWI, N.S. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. **Advances in Parasitology**, v. 59, p. 77-158. 2005.

THOMPSON, R.C.; PALMER, C.S.; O'HANDLEY, R. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. **The Veterinary Journal**, v. 177, n. 1, p. 18-25, 2008.

TZANIDAKIS, N., SOTIRAKI, S.; CLAEREBOUT, E.; EHSAN, A.; VOUTZOURAKIS, N.; KOSTOPOULOU, D.; et al. Occurrence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in sheep and goats reared under dairy husbandry systems in Greece. **Parasite**, v. 21, n. 41, 2014.

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4ª Ed, JICA, 1998.

VARGAS JR, S.F.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; ADRIEN, M.L.; FISS, L.; MOLARINHO, R.K.; SOARES, M.P.; et al. Surto de criptosporidiose em bezerros no Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 8, p. 749-752, 2014.

XIAO, L.; FAYER, R. Molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 11, p. 1239-1255, 2008.

XIAO, L.; RONALD, F.; RYAN, U.; STEVE, J. *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n.1, p. 72-97, 2004.

YANG, R.; ELANKUMARAN, Y.; HIJJAWI, N.; RYAN, U. Validation of Cell-free Culture Using Scanning Electron Microscopy (SEM) and Gene Expression Studies. **Experimental Parasitology**, v. 153, p. 55- 62, 2015.

YOUNG, K.H.; BULLOCK, S.L.; MELVIN, D.M.; SPRUILL, C.L. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 10, n. 6, p. 852-853, 1979.

ZACHARY, J.F.; MCGAVIN, D.M. **Bases da patologia em veterinária**. 5ª ed, Elsevier, 2013.