

Adriana Mello Garcia

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



000094119303

NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

103/04
06

**FREQUENCIA DO *Cryptosporidium* SP
(TYZZER, 1907) EM BEZERROS
LACTENTES NA BACIA LEITEIRA DE
PARÁ DE MINAS,
M.G. 1991.**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de
Minas Gerais, como
requisito parcial para a
obtenção do grau de
Mestre em Medicina
Veterinária.
Área Epidemiologia
Orientadora Prof. José
Divino Lima

Belo Horizonte
UFMG - Escola de Veterinária
1993

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA
 08/11/93
 941193-03

MF-00006538-8

G 216/ Garcia, Adriana Mello, 1967 -
 Frequencia do *Cryptosporidium*
 sp (TYZZER, 1907) em bezerros lac-
 tentes na bacia leiteira de Pará
 de Minas, M.F.G., 1991. / Adriana Mel-
 lo Garcia. - Belo Horizonte: UFMG -
 Escola de Veterinária, 1993.
 80 p.: il
 Dissertação (Mestrado)
 1. Bezerro - Doenças - Teses. 2.
 Protozoologia veterinária - Teses.
 I. v
 Título.

CDD - 636.208 969 36

Dissertação defendida e aprovada em 12/03/93, pela
Comissão examinadora constituída por:



José Divino Lima
Orientador



Romário Cerqueira Leite



Celine Maria Modena



Dedico este trabalho à
minha mãe, pelo apoio,
carinho e pelo exemplo
de força de vontade e
perseverança.



AGRADECIMENTOS

Ao Prof. José Divino Lima pela orientação, amizade e apoio durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Aos profs. Romário Cerqueira Leite e Celina Maria Modena pela amizade e sugestões .

Ao amigo e colega Andrey Pereira Lage e sua família pela amizade e apoio fundamental durante a fase de colheita do material.

Ao colega Márcio de Castro Botelho pela ajuda no processamento do material.

Aos colegas de mestrado e funcionários do departamento pela agradável convivência.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Aos funcionários da biblioteca da EV-UFMG, pelos serviços prestados.

A CAPES pela bolsa de estudos.



SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1	OCORRÊNCIA DE <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> EM BOVINOS..	21
2.2	FATORES RELACIONADOS COM A INFECÇÃO PELO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i>	27
2.3	PARTICIPAÇÃO DO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> ENTRE OS PRINCIPAIS MICROORGANISMOS PATOGENICOS, PRESEN- TES NO TRATO INTESTINAL DE BEZERROS.....	31
3	MATERIAL E METODOS.....	37
3.1	MARCO AMSTRAL.....	37
3.2	FAZENDAS E ANIMAIS.....	37
3.3	VARIÁVEIS ESTUDADAS.....	39
3.4	OBTENÇÃO DAS INFORMAÇÕES.....	40
3.5	COLHEITA DO MATERIAL.....	40
3.6	EXAMES COPROLÓGICOS.....	40
3.6.1	PARA <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SP.....	40
3.6.2	PARA HELMINTOS E OUTROS COCCÍDIOS.....	41
3.6.3	EXAMES BACTERIOLÓGICOS.....	42
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42

4	RESULTADOS.....	43
4.1	COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA.....	43
4.2	PREVALÊNCIA DO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i>	45
4.2.1	NOS REBANHOS.....	45
4.2.2	NOS ANIMAIS.....	46
4.3	PRESENÇA DO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SEGUNDO PRE- SENÇA OU AUSÊNCIA DE DIARRÉIA.....	47
4.3.1	DISTRIBUIÇÃO DOS BEZERROS E PROPRIEDA- DES DE ACORDO COM A CONSISTÊNCIA DAS FEZES.....	47
4.3.2	FREQUÊNCIA DO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SEGUNDO A PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE DIARRÉIA.....	49
4.4	PRÁTICAS DE MANEJO RELACIONADAS COM A IN- FECCÃO PELO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i>	51
4.4.1	DIVISÃO DAS FAZENDAS DE ACORDO COM AS VARIÁVEIS.....	51
4.4.2	FREQUÊNCIA DO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> RELACIO- NADA COM AS PRÁTICAS DE MANEJO ESTUDADAS.....	54
4.5	PESQUISA DE OUTROS ENTEROPATÓGENOS ASSO- CIADOS AO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SP NAS PROPRIEDADES AMOSTRADAS E NAS FEZES DOS BEZERROS.....	57
5	DISCUSSÃO.....	58
5.1	PREVALÊNCIA DO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SP.....	58
5.1.1	NOS REBANHOS.....	58
5.1.2	NOS ANIMAIS.....	59
5.2	PRESENÇA DO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SP RELACIONA- DO COM A PRESENÇA OU AUSÊNCIA DA DIARRÉIA.....	60



5.3 DISTRIBUIÇÃO DO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SP DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA.....	61
5.4 PRÁTICAS DE MANEJO RELACIONADAS COM A INFECCÃO PELO <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SP.....	63
5.5 PARTICIPAÇÃO DE <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> ENTRE OS PRINCIPAIS ENTEROPATÓGENOS DE BEZERROS.....	64
6 CONCLUSÃO.....	68
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71



LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Prevalência de Cryptosporidium em bezerros com até 60 dias de idade em Pará de Minas, M.G.1991.....	44
TABELA 2 Frequência de propriedades com animais positivos, de acordo com a consistência das fezes, em Pará de Minas,M.G.,1991.....	45
TABELA 3 Frequência de enteropatógenos em 72 bezerros com idade de 1 a 60 dias, em Pará de Minas ,M.G.,1991.....	57



LISTA DE GRÁFICOS

GRAFICO 1 Frequência de bezerros, de acordo com a faixa etária, do total de animais (n=262) com até 60 dias, oriundo de 33 propriedades leiteiras de Pará de Minas, M.G., 1991.....	43
GRAFICO 2 Frequência de infecção pelo Cryptosporidium, em bezerros, segundo a faixa etária, em Pará de Minas, M.G., 1991.....	46
GRAFICO 3 Frequência da infecção pelo Cryptosporidium, em bezerros, segundo a faixa etária, em propriedades positivas para o parasito, em Pará de Minas, M.G., 1991.....	47
GRAFICO 4 Frequência da diarreia em bezerros com até 60 dias de idade de 33 propriedades leiteiras de Pará de Minas, M.G., 1991.....	48
GRAFICO 5 Frequência da diarreia em bezerros, segundo a faixa etária, em 33 propriedades leiteiras de Pará de Minas, M.G., 1991.....	48
GRAFICO 6 Frequência de bezerros diarreicos, segundo a presença de oocistos de Cryptosporidium, em Pará de Minas, M.G., 1991.....	49
GRAFICO 7 Frequência de animais com infecção pelo Cryptosporidium, segundo a presença de diarreia, em Pará de Minas, M.G., 1991.....	50
GRAFICO 8 Frequência de animais diarreicos com infecção pelo Cryptosporidium de acordo com a faixa etária em Pará de Minas, M.G., 1991.....	51

GRAFICO 9	Frequência de animais diarréicos sem infecção pelo <i>Cryptosporidium</i> , de acordo com a faixa etária, em Pará de Minas, M.G., 1991.....	52
GRAFICO 10	Distribuição porcentual dos tipos de produtos químicos utilizados para cura de umbigo, em 33 propriedades leiteiras de Pará de Minas, M.G., 1991.....	52
GRAFICO 11	Distribuição porcentual do tempo de ingestão de colostro, em 33 propriedades leiteiras de Pará de Minas, M.G., 1991.....	53
GRAFICO 12	Distribuição porcentual do regime de criação dos bezerros nas 33 propriedades leiteiras de Pará de Minas, M.G., 1991.....	54
GRAFICO 13	Frequência de propriedades positivas para o <i>Cryptosporidium</i> segundo o sistema de criação, em Pará de Minas, M.G., 1991.....	55
GRAFICO 14	Frequência de propriedades positivas para o <i>Cryptosporidium</i> , segundo o tipo de produto usado para cura de umbigo, em Pará de Minas, M.G., 1991.....	56
GRAFICO 15	Frequência de propriedades positivas para o <i>Cryptosporidium</i> segundo o tempo de ingestão de colostro, em Pará de Minas, M.G., 1991.....	56



RESUMO

A frequência da infecção pelo *Cryptosporidium* sp (TYZZER, 1907), foi determinada em bezerros lactentes da bacia leiteira de Pará de Minas, M.G.. A infecção foi relacionada com consistência das fezes, práticas de manejo e também com a presença de enteropatógenos.

Para determinar a frequência do *Cryptosporidium*, foram colhidas amostras de fezes, em 33 propriedades, de todos os bezerros de 2 a 60 dias de idade. De cada amostra foi feito um esfregaço fecal, adicionado de uma gota de ovoalbumina e corado pelo método de Ziehl-Neelsen modificado, com visualização dos oocistos sob imersão (x1000). Oocistos foram observados em 69,7% das propriedades. A frequência geral da infecção pelo *Cryptosporidium* nos animais foi de 19,5%. Quando os bezerros foram distribuídos por faixa etária, observou-se que a frequência da infecção foi de 10,0% nos animais de 2 a 7 dias, 19,1% nos animais de 8 a 15 dias, 24,0% nos animais de 16 a 30 dias e 18,4% nos animais de 31 a 60 dias de idade.

Por ocasião da colheita, as fezes foram classificadas de acordo com a consistência, em diarreicas e não diarreicas. Além disso, foram registradas as informações referentes ao manejo dos bezerros, incluindo tipos de produtos usados para cura de umbigo, tempo no qual o bezerro permanece com sua mãe para ingestão do colostro e o local de permanência desses animais.

Do total de amostras colhidas, 42,2% foram consideradas diarreicas e 90,9% das propriedades tinham pelo menos um animal com diarreia. Entretanto não foi observado nenhuma relação estatisticamente significativa entre a presença da infecção por *Cryptosporidium* e diarreia.

A maioria das propriedades (74,4%) usava produtos

organofosforados puro ou associados para curar umbigo, 19,4% usavam iodo e 6,5% não realizavam a prática da cura de umbigo. Não foi observado relação estatisticamente significativa entre o tipo de produto usado para cura de umbigo e a presença da infecção pelo *Cryptosporidium*.

Em todas as propriedades os bezerros ingeriam o colostro, sendo que em 61,9% delas, os animais permaneciam até 24 horas com suas mães, em 14,3% os animais permaneciam até 48 horas e 23,8% mais de 48 horas com suas mães para uma melhor ingestão do colostro. Não foi observado relação estatisticamente significativa entre o tempo de permanência do bezerro com a mãe para a ingestão do colostro e a presença da infecção pelo *Cryptosporidium*.

O local de permanência dos bezerros pôde ser dividido em três sistemas distintos. Primeiro, o sistema "preso" onde os animais permaneciam em bezerreiros coletivos nas adjacências do curral todo o dia, adotado em 36,4% das propriedades. Segundo, o sistema "misto" onde os animais ficavam parte do dia soltos em piquetes e à tarde eram recolhidos para bezerreiros coletivos utilizado em 39,4% das propriedades e terceiro, o sistema "solto" onde os animais permaneciam todo o tempo soltos em piquetes que incluiu 24,2% das propriedades. Estes sistemas de criação também não estiveram relacionados com a presença da infecção pelo *Cryptosporidium*.

Entre os enteropatógenos diagnosticados, o *Campylobacter* foi o mais frequente (54,2%), seguido de *Eimeria* (52,2%) e *Salmonella* (23,6%), ficando o *Cryptosporidium* em quarto lugar (22,2%). Os outros agentes envolvidos foram helmintos (19,4%) e *Escherichia coli* enterotoxigênica (16,7%). Quando o *Cryptosporidium* esteve associado com um único agente, este foi o *Campylobacter*. Nas demais associações dois ou mais agentes sempre estiveram presentes. Não foi observado relação estatisticamente significativa entre a presença dos enteropatógenos diagnosticados e a presença de diarreia.



1 INTRODUÇÃO

O *Cryptosporidium* é um coccídio que foi descrito, pela primeira vez, por TYZZER, em 1907, em estômago de camundongos, época em que foi classificado de oportunista, sem causar maiores problemas para os hospedeiros parasitados. Por essa razão, ficou esquecido por décadas. No entanto, nos anos setenta, muitos relatos davam conta de sua presença em diferentes animais e humanos e isso chamou novamente a atenção para essa patogenia. Recebeu a nomeação de acordo com as espécies de hospedeiros nas quais era encontrado. Somente no início da década de oitenta, através de experimentos em animais "germ-free" e infecções cruzadas, ficou estabelecido então que se tratava de duas espécies que parasitavam todos os mamíferos e que colonizavam principalmente as microvilosidades intestinais. O parasito causa diarreia profusa e aquosa, podendo levar à morte por desidratação e/ou desequilíbrio hidroeletrolítico, e representa um sério problema para a idética, uma vez que não há tratamento específico para a infecção.

Assim, o parasito passou a ter grande interesse de estudo e sua prevalência em bovinos começou a ser estimada em todo o mundo, chegando, em algumas áreas, a 70% de animais e 100% dos rebanhos positivos para o *Cryptosporidium*.

Pelo fato de a infecção ser uma zoonose emergente e de a diarreia ser um grande entrave na criação dos animais domésticos de valor econômico, a necessidade de se verificar, em Minas Gerais, o envolvimento do *Cryptosporidium* nas criações domésticas tornou-se evidente. Os bovinos foram eleitos pelo fato de este rebanho ser o de maior expressão econômica, com cerca de 20.471.639

cabeças (IBGE,1990),de, principalmente no caso de rebanhos leiteiros, o homem ter um contato constante com os animais e de a diarreia ser a doença de maior ocorrência nos rebanhos (LEITE & LIMA,1982 , RIBEIRO et al,1983, VIANA et al,1987). Foi iniciado, então, um estudo, em 1988, para conhecer a frequência do *Cryptosporidium* em Minas Gerais, sem uma amostragem pré-estabelecida e estimou-se que 27% dos animais e 75% dos rebanhos estavam positivos para o parasito. Constatado tal presença, o estudo sistemático e representativo passou a ser prioridade.

Em bovinos, a infecção ocorre, principalmente, em bezerros lactentes, de rebanhos leiteiros, com a faixa etária entre dois a sessenta dias.

Assim , foi proposto o estudo da frequência do *Cryptosporidium* em Pará de Minas, pela proximidade, facilidade de transporte do material colhido, por se tratar de rebanhos leiteiros e por estar sendo desenvolvida naquela área, uma pesquisa de enteropatógenos nas fezes de bezerros lactentes, na mesma faixa etária da maior ocorrência do *Cryptosporidium*.



2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 OCORRÊNCIA DE *CRYPTOSPORIDIUM* EM BOVINOS

Os autores da primeira de uma série de publicações sobre o parasito em bovinos, no mundo, foram PANCIEIRA *et al* (1971), em Oklahoma-USA, que examinaram cortes histológicos intestinais de uma bezerra da raça Santa Gertrudes, de oito meses de idade e observaram estruturas ovoides com diâmetro variando de 1,2 a 3,5 micras, localizadas no epitélio das bordas em escova das vilosidades, que foram, então, identificadas como coccídios do gênero *Cryptosporidium*.

POHLENZ *et al* (1978) trabalharam com 38 bezerros, com 1 a 17 dias de idade, dos quais 20 tinham diarreia. O *Cryptosporidium* foi encontrado, histologicamente, no íleo de 6 dos 20 bezerros com diarreia e em nenhum dos 18 animais sem diarreia. Os animais infectados provinham de 4 dos 7 rebanhos pesquisados. A idade afetada variou de 6 a 17 dias.

ANDERSON & HALL (1982) pesquisaram a presença da infecção criptosporídica em 73 rebanhos de Idaho-USA, onde examinaram fezes de bezerros com 12 dias de idade, uma vez que essa idade foi determinada como ótima para a detecção dos oocistos por ANDERSON (1981), através da mesma técnica de flutuação em solução saturada de sacarose. De um total de 284 amostras, 110 (38,7%) tinham oocistos de *Cryptosporidium* sp, oriundos de 41 (56,2%) rebanhos positivos.

SANFORD & JOSEPHSON (1982), em Ontario- Canadá, realizaram um estudo em 161 bezerros diarreicos. Destes, 42 (26%) estavam infectados, representando 26 fazendas. As amostras fecais foram submetidas a

flutuação em solução saturada de açúcar e examinados tanto por microscopia de contraste de fase quanto pela coloração dos esfregaços pelo método de May-Grunwald-Giemsa. Foram também necropsiados 40 animais, dos quais, foram retiradas amostras de tecido para histopatologia. Destes, 25 (63%) estavam infectados pelo coccídio. A idade dos animais que estavam eliminando oocistos variou de 7 a 30 dias, com maior frequência entre os 7 e 14 dias de vida.

JUNGMAN & HIEPE (1983), em Berlim-Alemanha, pesquisaram oocistos de *Cryptosporidium* sp em 172 bezerros de 6 rebanhos com idade variando de 2 a 28 dias e encontraram uma taxa de 51% de animais positivos. A faixa etária mais atingida foi de 8 a 14 dias de idade, com 61% de animais positivos, 45% dos quais tinham diarreia aguda. Foi usado, para diagnóstico, a flutuação em sais (NaCl, NaNO₃) e coloração pelo GIEMSA.

FISHER (1984) examinou 943 bezerros de Hudcova-Tchecoslovaquia, com idade de 1 a 198 dias, dos quais, 224 (23,7%) continham oocistos de *Cryptosporidium* em suas fezes, detectados pelo método quantitativo de BURKER. Ao extratificá-los por faixa etária, obteve-se 20,6% de animais positivos com 1 a 10 dias de idade; 43,7% de animais com 11 a 20 dias; 16,4% de animais com 21 a 30 dias; 4,1% de animais com 31 a 60 dias e 9,5% de animais com 61 a 198 dias de idade.

LEEK & FAYER (1984) determinaram a prevalência do *Cryptosporidium* em 12 fazendas aleatoriamente escolhidas, em um raio de 97 km de Beltsville, Maryland-USA. A idade da população estudada variou de 7 a 14 dias, num total de 136 animais. As amostras fecais foram submetidas à flutuação com solução açucarada de Sheather, centrifugadas e examinadas em microscópio de contraste de fase. Em 9 (75%) das 12 fazendas, de 8,3 a 75% dos animais eliminavam oocistos de *Cryptosporidium*. Em 3 (26,5%) fazendas que estavam positivas para o parasito, 16 (11,8%) animais tinham diarreia. Apenas 8 (5,9%) bezerros que tinham diarreia estavam eliminando oocistos de *Cryptosporidium*.

MARKOVICKS *et al* (1984) realizaram um estudo de prevalência em bezerros leiteiros de Israel e detectaram o *Cryptosporidium* em 140 (70%) dos 201 bezerros com idade de 1 a 3 semanas, através do exame de fezes submetidos à flutuação em solução açucarada. Adicionalmente, foram necropsiados 81 bezerros com idade superior a 8 meses. Destes, 31 (38,3%) foram positivos para o agente. A prevalência geral encontrada foi de 69,5% (197 positivos num total de 283 bezerros). Ao todo, foram examinados animais de 44 propriedades, sendo que, em 40, foram detectados oocistos de *Cryptosporidium*.

FIEDLER (1985) detectou o *Cryptosporidium* em 44 dos 284 bezerros examinados e em 45,2% dos rebanhos do distrito de Weser-Ems-Weiland, Alemanha, pelo método de GIEMSA.

HENRIKSEN & KROGH (1985) estudaram a prevalência da criptosporidiose na Dinamarca. Foram examinados um total de 4269 bezerros: 3358 submetidos à necrópsia e 911 ao exame de material fecal. Da necrópsia foram feitos esfregaços de mucosas da metade posterior do intestino delgado e, juntamente com os esfregaços de fezes, foram corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada. O *Cryptosporidium* só foi detectado pelo esfregaço de fezes em animais com até dois meses de idade com uma prevalência total de 15,4%. Acima dessa idade, o agente foi encontrado em material de autópsia, com frequência baixa (3,6%).

MANN *et al* (1986) examinaram 182 amostras de fezes de bezerros com diarreia representando 148 rebanhos (incluindo corte e leite). Em 10 fazendas, foram colhidas amostras adicionais de animais para determinar se estes poderiam ter infecções assintomáticas, servindo como fonte de infecção para os neonatos. Em 47 (25,8%) dos bovinos, representando 38 (25,7%) dos rebanhos examinados, foram encontrados oocistos de *Cryptosporidium*. Vinte e oito dos 152 (18,4%) bezerros leiteiros foram positivos para oocistos do agente. Das amostras fecais, foram feitos esfregaços e corados pelo método de Kingoun. O

agente foi identificado nos casos adicionais, em 10 neonatos com diarreia, 15 não diarreicos e em 3 bezerros mais velhos com histórico de diarreia. Em 18 casos, poucos oocistos foram encontrados em fezes de bovinos adultos assintomáticos.

SPILLMANN *et al* (1986) pesquisaram a prevalência do *Cryptosporidium* na Suíça, pela técnica de coloração com carbofucsina, em 275 bezerros de 47 fazendas. Em 40 (14,5%) animais foram encontrados oocistos do protozoário. Em 61 (22,2%) com diarreia, 32,8% foram positivos em contraste com 9,3% de assintomáticos. A infecção foi mais alta entre bezerros de 1 a 4 semanas de vida (37%), sendo estratificada entre animais de 1 a 2 semanas com 35,3% de positivos; de 2 a 3 semanas com 58,8% de positivos e de 3 a 4 semanas com 30,9% de positivos.

MODOLO *et al* (1987) fizeram o diagnóstico de *Cryptosporidium* em 220 bezerros com e sem diarreia, por meio de esfregaços de conteúdo intestinal, corado pelo método de Kingoun, em Hannover-Alemanha. Das 145 amostras com diarreia, 32 (22,1%) e das 75 não diarreicas, 5 (6,7%) foram positivas. Considerando-se somente amostras fecais provenientes do reto, a porcentagem aumentou para 36,8% (22 em 57) entre os animais com diarreia e 11,1% (5 em 45) entre os sem diarreia. A idade dos animais não foi mencionada pelos autores.

SOBIEH *et al* (1987) estudaram a prevalência da criptosporidiose em San Bernadino, California-USA. Foram colhidas 500 amostras de bezerros até 20 dias de idade de 5 propriedades, coradas com auramina-rodamina e examinadas em microscópio de imunofluorescência. Do total, 405 eram de bezerros sem diarreia, das quais 8(1,9%) foram positivas. Das 95 de bezerros com diarreia, 20(21,05%) continham oocistos de *Cryptosporidium*. A prevalência foi alta em uma das 5 fazendas, nos bezerros diarreicos (60%), o que fez a prevalência em animais dessa categoria aumentar muito em relação à outra. Excluindo esta propriedade, a prevalência da infecção em bezerros diarreicos foi de 6,7%, contrastando com os 1,9% em



bezerros não diarreicos, com diferença estatisticamente significativa entre as taxas.

KOZAKIEWICZ & MASZEWSKA (1988) examinaram 832 bezerros de 3 semanas de 35 fazendas, da região de Wielkopolski-Polônia e detectaram a presença de oocistos em 468 (56,25%) animais. Das 35 propriedades, 33(94,3%) foram positivas. Em fazendas onde a parição ocorria durante todo o ano, a percentagem de animais positivos foi de 69% e, naquelas em que a parição era sazonal, a percentagem variou de 21 a 41%.

MODOLO *et al* (1988) fizeram o primeiro diagnóstico do *Cryptosporidium* em bovinos do Brasil, em Botucatu São Paulo, examinando fezes de 23 bezerros de origem "leiteira", com idade variando entre 11 dias e 6 meses, provenientes de um surto de diarreia, coradas pelo método de Kingoun. O parasito foi encontrado em 6(26%) dos animais diarreicos com idade entre 11 e 16 dias e em 5 (22%) sem diarreia, com idade variando entre 2,5 a 6 meses.

ORTOLANI (1988) examinou fezes de 400 bezerros, 200 com e 200 sem diarreia, provenientes de 43 rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo, com idade entre 01 e 60 dias, através da técnica de Ziehl-Neelsen modificada. O agente foi encontrado em 38% dos bezerros diarreicos e 11,5% dos portadores assintomáticos, com uma frequência geral de 24,75%.

TOWNSEND & LANCE (1988), em Hamilton_Nova Zelândia, durante três anos, examinaram fezes de 550 bezerros diarreicos através de esfregaços corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada, com idade conhecida e extratificada em até 1 mês e acima de um mês de vida. A percentagem de animais positivos até um mês foi de 45,2% (198 em 438) e acima de um mês de 7,1% (8 em 112). O total foi de 37,5% (206 em 550).

ONGERTH & STIBBS (1989) determinaram a prevalência da infecção pelo *Cryptosporidium* em bezerros leiteiros no oeste de Washington-USA. Os autores examinaram 445 bezerros de 10 propriedades, sendo que 342 (77%) tinham entre 7 a 21 dias de idade. Esfregaços fecais foram preparados e corados com dimetilsulfóxido-

carbofucsina. Entre os animais examinados, 181 (40,7%) foram positivos e todas as 10 propriedades foram positivas.

NOURI & TOROGHI (1991) verificando a infecção criptosporídica em 283 bovinos representando 33 propriedades, examinados através da técnica de Ziehl-Neelsen modificada, constataram que a infecção foi mais presente entre bezerros diarreicos. Bezerros machos diarreicos com idade de 8 a 25 dias mostraram níveis mais altos de infecção (42,8%) que fêmeas de 10 a 15 dias de idade. Dez por cento de bezerros de 20 a 25 dias de idade e com histórico de diarreia e 9,0% de bezerros assintomáticos com 8 a 30 dias de idade estavam infectados. Bovinos mais velhos que essa idade sem sinais clínicos excretaram baixos níveis de oocistos de *Cryptosporidium* (3,8%).

SIEBERT & GRUNDER (1991) observaram oocistos de *Cryptosporidium* em 41,0% dos bezerros com diarreia através do exame de esfregaços corados pela técnica de Ziehl-Neelsen carbo-fucsina. A maioria dos bezerros que excretaram o *Cryptosporidium* tinham menos de 4 semanas de vida. A prevalência da eliminação de oocistos foi maior durante os meses frios, ou seja, de outubro a março. Em 45,5% dos bezerros com diarreia, foi o único agente encontrado. Trinta e sete por cento dos bezerros sem diarreia estavam eliminando oocistos do parasito. A diarreia desenvolve-se em 33,0% dos 656 animais.

VILLACORTA et al (1991), na Galícia- Espanha, examinaram 141 amostras de fezes de bovinos de 8 dias de idade a adultos, pela técnica de HEINE (1982). *Cryptosporidium* sp foi encontrado em 6,38% dos animais, sendo 2 em animais com diarreia com 20 dias de idade, 5 em animais com diarreia de 10 a 15 dias de idade e 2 com 3 anos de idade e sem diarreia.

2.2 FATORES RELACIONADOS COM A INFECÇÃO PELO CRYPTOSPORIDIUM

Vários autores tentaram determinar fatores que poderiam estar diretamente relacionados com maior ou menor presença, persistência e prevenção do *Cryptosporidium*.

Já foi determinado, em humanos, que a imunossupressão está diretamente relacionada com o aparecimento e persistência do *Cryptosporidium*. Em bezerros, tal imunodeficiência é mais relacionada com a ingestão inadequada e/ou insuficiente de colostro e consequente má absorção das imunoglobulinas colostrais, que iriam conferir a proteção passiva nas primeiras semanas de vida, enquanto o sistema imune atinge o seu desenvolvimento completo. Esta relacionada também com má nutrição (desnutrição) e estresse (TZIPORI, 1988).

TZIPORI *et al* (1983) observaram pouca ou nenhuma diferença na resposta para a infecção pelo *Cryptosporidium* entre bezerros com ou sem proteção materna e um leve aumento no período de incubação do agente.

Na pesquisa feita por POHJOLA *et al* (1986), todos os bezerros que não estavam diarréicos e em que não foi encontrado o enteropatógeno, tinham ingerido o colostro nas 2 primeiras horas de vida. A quantidade de colostro na primeira ingestão não pareceu ser um determinante crítico, embora, pequenas quantidades de colostro oferecidas com maior frequência possam ser mais benéficas.

ANGUS (1987) comentou que o colostro tem pouca ou nenhuma capacidade protetora contra o *Cryptosporidium*, mas em um estudo não controlado, a administração empírica de 20 ml de soro de cervo adulto para os filhotes, na alimentação, durante sete dias, seguido de colostro bovino por mais duas semanas, foi aparentemente útil na profilaxia.

ARROWOOD *et al* (1989) pesquisaram o efeito do colostro proveniente de fêmeas que tiveram a infecção e anticorpos monoclonais antiesporozoitos, administrados oralmente, na infecção do *C.parvum* em camundongos recém-nascidos. Os resultados confirmaram a observação de que o colostro não conseguiu proteger camundongos neonatos da infecção por *C.parvum*. Estudo semelhante foi feito também por MOON *et al* (1989), e encontrou-se o mesmo resultado.

FAYER *et al* (1989a) realizaram dois experimentos sobre a proteção de colostro em camundongos neonatos (3 a 5 dias de idade). No primeiro, administraram, em um grupo, colostro bovino hiperimune (CH), em outro, colostro controle (CC) e num terceiro, solução de Hanks' (SBH) balanceada por intubação gástrica em 3 diluições, desafiando-os posteriormente com uma suspensão de oocistos misturadas com CH, CC e SBH também por intubação gástrica. Os resultados mostraram uma taxa de infecção significativamente menor quando usado CH do que CC e SBH. Num segundo experimento misturaram os esporozoitos com CH, CC, SBH e testaram sua infectividade. Quando não usaram diluição nenhuma, tanto CH como CC foram capazes de neutralizar o esporozoito, mas nas diluições 1:20 e 1:50, a neutralização pelo CH foi significativamente maior que CC e SBH.

FAYER *et al* (1989b) administraram, em um grupo de bezerros recém-nascidos, CH, em outro, CC na primeira e segunda mamada. Aos 3 dias de idade, foram desafiados com suspensão aquosa de 5×10^8 , oocistos de *C.parvum* via oral. Fezes foram colhidas diariamente até 21 dias de idade. Todos os bezerros desafiados foram susceptíveis à infecção. Entretanto, bezerros alimentados com colostro hiperimune, eliminaram menores quantidades de oocistos e a duração da diarreia foi significativamente menor do que em bezerros alimentados com colostro normal.

HARP *et al* (1989) estudaram o efeito de anticorpos colostrais na susceptibilidade de bezerros à infecção pelo *C.parvum*, e observaram que a administração de colostro e o tempo de administração

não tiveram nenhum efeito no início e duração da diarreia, nem tampouco sobre o tempo de eliminação de oocistos.

Outro fator determinante na susceptibilidade da doença é a idade. Em bovinos, a faixa etária de maior susceptibilidade e de maior taxa de eliminação de oocistos é de 8 a 14 dias (JUNGMAN & HIEPE, 1983 ; HENRIKSEN & KROGH, 1985 ; KORINEK & CHROUST, 1988 ; TOWNSEND & LANCE, 1988 ; ONGERTH & STIBBS, 1989).

ANDERSON (1981) estudou o padrão da eliminação de oocistos em 15 bezerros diarreicos do nascimento aos 20 dias de idade, examinados diariamente, detectados por flutuação fecal.

Na maioria dos animais, os oocistos foram detectados no 8º dia de vida indo até o 16º dia, quando também a maior parte já não eliminava mais oocistos de *Cryptosporidium* nas fezes. No 12º dia, todos os 15 bezerros estavam eliminando oocistos. Em alguns casos, oocistos foram detectados intermitentemente. HENRIKSEN & KROGH (1985) estudaram a prevalência do *Cryptosporidium* por faixa etária, sendo que foram os animais de 8 a 14 dias que tiveram uma taxa mais alta de infecção (24,8%). Animais com até dois meses de idade tiveram uma taxa significativamente maior (15,4%) do que os com mais de 2 meses (3,3%).

KORINEK & CHROUST (1988) estudaram a dinâmica da incidência de *Cryptosporidium* em 60 bezerros com idade de até 28 dias. A observação mais precoce do parasito foi feita no 5º dia de vida. O pico da infecção ocorreu nos dias 11, 12 e 13 de vida, em que pelo menos 95% dos animais estavam eliminando oocistos de *Cryptosporidium* nas fezes.

ORTOLANI (1988) dividiu os bezerros de seu estudo em cinco grupos etários: 0 a 7 dias, 8 a 15 dias, 16 a 22, 23 a 30 dias e de 30 a 60 dias de idade, sendo que a ocorrência foi equivalente nos 3 primeiros grupos, respectivamente, 50%, 45,6% e 37%.

TOWNSEND & LANCE (1988) estratificaram os animais de

estudo em 6 grupos etários, sendo eles de 1 a 3 dias, 4 a 7, 8 a 14, 15 a 21, 22 a 30 e maiores que 30 dias de idade e a infecção foi mais frequente no grupo de 4 a 14 dias.

ONGERTH & STIBBS (1989) em estudo de prevalência, examinaram animais com até 21 dias de idade, divididos em 3 grupos etários, sendo 3 a 7 dias, 8 a 14 dias, 15 a 21 dias de idade, com pico de infecção em bezerros de 8 a 14 dias (60%), praticamente o dobro do grupo de animais de faixa etária de 15 a 21 dias (21,74%) e o triplo que o 1º grupo.

Outros fatores são citados ainda como podendo estar relacionados com a infecção. Entretanto as pesquisas são escassas e não conclusivas acerca destas variáveis.

SANFORD & JOSEPHSON (1982) comentaram em seu trabalho que a concentração de casos de criptosporidiose no final do outono e inverno poderia ser circunstancial, pois esta época coincide com o confinamento necessário dos animais combinado com as perdas na condição sanitária e práticas de manejo restritas, o que poderia contribuir para um aumento da população de oocistos e reinfecção de gerações sucessivas de bezerros.

Um aumento da prevalência foi observado por FIEDLER (1985), durante o inverno e primavera, e o desbalanço dietético e higiene precária foram acusados de predispor os animais à infecção.

REYNOLDS *et al* (1986), analisando o manejo das fazendas e o histórico da doença, não encontraram associações estatisticamente significantes entre a detecção do patógeno e o tipo de acomodação (bezerreiro individual, coletivo ou solto com a mãe) ou práticas de alimentação.

ORTOLANI (1988) estudou os índices de contaminação do ambiente, por oocistos de *Cryptosporidium* em bezerreiros e sua correlação com a presença de infecção criptosporídica em bezerros. Os bezerreiros foram classificados em coletivos e individuais ,

que por sua vez foram divididos em coletivos de concreto, ripado e cama e chão batido e os individuais em concreto e cama e ripado. Nos resultados, a ocorrência da criptosporidiose em bezerros mantidos em bezerreiros coletivos foi significativamente maior (44,8%) que nos individuais (8,1%). Entre os coletivos, o tipo ripado apresentou ocorrência significativamente menor (14,3% que os demais (44,1%, 51,3% e 58,8% respectivamente) e entre os individuais, não houve diferenças estatisticamente significativas.

CHERMETTE & BOUFASSA-OUZROUT (1988), apud CASEY (1991) afirmaram que as condições de criação precárias e doenças de qualquer natureza podem reduzir a resistência geral dos animais e facilitar a aquisição e desenvolvimento de várias infecções, particularmente criptosporidiose.

SIEBERT & GRUNDER (1991) observaram oocistos de *Cryptosporidium* em bovinos, sendo que a prevalência da criptosporidiose foi maior durante os meses frios (outubro a março).

2.3 PARTICIPAÇÃO DO *CRYPTOSPORIDIUM* ENTRE OS PRINCIPAIS MICROORGANISMOS PATOGENICOS PRESENTES NO TRATO INTESTINAL DE BEZERROS

Uma variedade de agentes infecciosos, incluindo *E.coli* enterotoxigênica (ETEC), *Salmonella* sp, *Campylobacter* sp, *Cryptosporidium* sp, *Eimeria* sp., rotavírus e coronavírus são considerados importantes causadores de diarreia em bezerros. A presença desses agentes no trato intestinal de bezerros diarreicos é frequentemente usada para estabelecer a importância etiológica do agente. Tais microorganismos estão também presente no trato intestinal de bezerros sem diarreia.

MYERS *et al* (1984) pesquisaram 7 agentes nas fezes de 136 bezerros de corte de 22 rebanhos aparentemente sem a presença de diarreia, com idade variando de 1 dia até 12 semanas. *Salmonella* sp, ETEC, *Cryptosporidium* e coronavírus não foram detectados em

nenhum dos bezerros. *Campylobacter* sp foi encontrado em 38% das amostras, rotavírus em 2,20% e *Yersinia enterocolitica* 0,73%. Em 218 amostras foram isoladas *E.coli* das quais 21, de 16 bezerros, foram k99 positiva, mas todas falharam no teste de produção de toxina termo-estável.

KROGH & HENRIKSEN (1985) durante dois anos, estudaram a prevalência do *Cryptosporidium* e sua associação com outros enteropatógenos. Foram examinados, ao todo, 4.269 bezerros: 3.358 submetidos à necrópsia e 911 ao exame de material fecal. Esfregaços de conteúdo de intestino delgado e de fezes foram feitos e corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada. O *Cryptosporidium* foi detectado em animais até dois meses de idade, com uma prevalência de 15,4%. Acima de dois meses, o agente só foi encontrado em material de necrópsia, numa frequência de 3,6%. De 203 casos positivos, em 111(55%) não houve a presença de nenhum outro enteropatógeno; em 43(21,1%) foi demonstrado também rotavírus; em 17(8,4%), coronavírus; em 13(6,4%), coronavírus e rotavírus. Nas amostras restantes houve combinações entre esses enteropatógenos e outros como ETEC e *Salmonella*.

POHJOLA *et al* (1986) acompanharam 68 bezerros para a pesquisa de *Cryptosporidium*, rotavírus, coronavírus, parvo-vírus, *Salmonella* e *E.coli* enterotoxigênica. Dos 68 animais, 24 eram diarreicos e 44 não diarreicos. Oocistos de *Cryptosporidium*, foram encontrados em 11 (46%), dos diarreicos e em 25 (57%) dos não diarreicos com uma prevalência geral de 53%. Os bezerros pesquisados tinham até três semanas de idade. O *Cryptosporidium* foi detectado em todos os rebanhos com ocorrência variando de 29 a 88% por propriedade. O segundo de maior frequência foi o rotavírus (43%), sendo 16(36,4%) não-diarreico e 13 (54,2%) diarreicos. O terceiro e último agente encontrado foi *E.coli* (22%), sendo 3(16,7%) em diarreicos e 11 (25%) em não diarreicos.

REYNOLDS *et al* (1986) investigaram a presença do coronavírus, rotavírus, calicevírus, *Salmonella*, *E.*

coli-K99 e *Cryptosporidium*. Para tal, foram examinadas 490 amostras de fezes de bezerros com diarreia oriundos de 45 surtos e de 385 bezerros saudáveis, sem histórico de diarreia. Nos bezerros diarreicos, o rotavírus foi o mais frequente com 42% de positivos; *Cryptosporidium* em segundo com 23% de positivos, seguidos de coronavírus com 14%; *Salmonella* 12%, calicevírus 11% e *E.coli*-k99 3% de positivos. A frequência desses agentes foi estatisticamente menor em bezerros saudáveis ($p < 0,05$) com 13% ; 8% ; 0% ; 3% ; 0% ; e 0,6% de positivos respectivamente. A idade dos bezerros com oocistos de *Cryptosporidium* variou de 2 a 29 dias.

RYCKE *et al* (1986) determinaram a prevalência de rotavírus, *E.coli* enterotoxigênica, *Cryptosporidium*, *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens* (enterotoxina), *Yersinia enterocolitica*, *Chlamidia psitaci* e coronavírus em bezerros diarreicos (n=32) e não diarreicos (n=21). *E.coli*-k99, *Y. enterocolitica* e *C.psitaci* não foram detectados. Pelo menos um dos outros agentes citados estava presente em 72% dos bezerros diarreicos e 62% dos saudáveis. Os animais tinham menos de 3 semanas de idade. Com exceção do coronavírus, os agentes foram mais frequentemente excretados pelos bezerros diarreicos, embora só para rotavírus essa diferença tenha sido estatisticamente significativa ($p < 0,001$). Coronavírus foi o mais frequente (33,96%), seguido do rotavírus (24,53%), *Campylobacter jejuni* (18,87%) e *E.coli* (13,21%). Para *Cryptosporidium* foi encontrado uma prevalência de 3,77% sendo 2 bezerros diarreicos (6,25%) e nenhum saudável.

SNODGRASS *et al* (1986) estudaram a presença de enteropatogenos em bezerros jovens de 32 rebanhos que tiveram surtos de diarreia, sendo 302 animais diarreicos e 49 saudáveis. Foram pesquisadas as ocorrências de rotavírus, coronavírus, *Cryptosporidium*, *E.coli* enterotoxigênica, *Salmonella* sp e *Campylobacter* sp. O agente mais detectado foi o rotavírus em 50,3% dos bezerros diarreicos, combinado ou não com outros agentes. Em seguida,

foi o *Cryptosporidium* em 24,5%, coronavírus em 8,0%, *E.coli* enterotoxigênica em 3,6% e *Salmonella* sp em 0,6%. *Campylobacter* foi investigado em 21 propriedades em 34 bezerros saudáveis e 156 diarreicos com uma frequência de 33,7%. Somente o rotavírus apresentou diferenças estatisticamente significativas com relação à excreção de oocistos por animais saudáveis e diarreicos ($p < 0.0001$). A idade dos animais estudados variava de 1 a 28 dias.

BALJER *et al* (1987) estudaram a prevalência e distribuição de rotavírus, coronavírus, *Cryptosporidium* e *E.coli* enterotoxigênica. De 1021 amostras examinadas, rotavírus foi encontrado em 22%, *Cryptosporidium* em 17%, *E.coli* enterotoxigênica em 12% e coronavírus em 11%.

UVIEDO *et al* (1987) analisaram 101 amostras de fezes de bezerros diarreicos até dois meses de idade, para a detecção de rotavírus, coronavírus, *Eimeria*, *Strongyloides*, *Giardia bovis*, *Cryptosporidium*, *E.coli* enterotoxigênica, *Strongyloidea* e *Salmonella*. O agente mais encontrado foi *Eimeria* com 25% de amostras positivas, *Cryptosporidium* com 22%, rotavírus e coronavírus com 20%, ETEC 18%, *Strongyloidea* 13%, *Strongyloides* 11% e *G.bovis* 1%. HALL *et al* (1988) examinaram 21 bezerros com diarreia em 11 fazendas, que tinham surtos de diarreia, com idade variando de 1 a 23 dias, pesquisando rotavírus, coronavírus, *Cryptosporidium*, *E.coli*-k99 e *Salmonella* sp. Foram colhidos fezes e material de necrópsia. Ao exame de fezes, o patógeno mais encontrado foi rotavírus, seguido de *Cryptosporidium*, *Salmonella*, coronavírus e *E.coli*-k99. Pelo exame de mucosa, o mais encontrado foi o *Cryptosporidium* 52,4%, em segundo o rotavírus e coronavírus com 47,6%, *Salmonella* com 9,5% e *E.coli* com 4,8%. No total, foram 13 animais positivos para rotavírus, 11 para *Cryptosporidium*, 10 para coronavírus, 3 para *Salmonella* e 1 para *E.coli*-k99.

MOORE & ZEMAN (1991), estudando 860 casos de enterite bovina, encontraram o rotavírus como o mais

frequentemente diagnosticado (36%); *Cryptosporidium* em segundo (32%); coronavírus (28%) e *E.coli* (26%). O *Cryptosporidium* foi o único patógeno encontrado em 142 (51,3%) dos 277 bezerros positivos para algum dos agentes. Os demais foram associados com outros enteropatógenos. A idade dos bezerros afetados foi de 2 a 20 dias e mais da metade dos casos foram diagnosticados no inverno.

No Brasil, nenhum estudo envolvendo vários enteropatógenos simultaneamente foi realizado.

Para o *Cryptosporidium* pode-se citar os estudos de ORTOLANI (1988), de GARCIA *et al* (1989) que diagnosticaram o *Cryptosporidium* em Minas Gerais, Brasil, em um surto de diarreia em 32 animais com idade entre uma e 3 semanas, através de esfregaços corados pelo método de Ziehl-Neelsen modificado. Dos 32, 19 (59,4%) foram positivos e o de OGASSAWARA *et al* (1989) que diagnosticaram o *Cryptosporidium muris* em 8 de 29 amostras fecais provenientes de 2 propriedades no Estado de São Paulo, através da técnica de centrifugo-flutuação, em solução saturada de açúcar.

Entre os que foram desenvolvidos para os demais protozoários, pode-se citar GOMES DE FARIA, referido por CESAR PINTO (1923) que observou, pela primeira vez, a ocorrência do gênero *Eimeria* em bovinos. Desde então, o gênero tem sido descrito por vários autores (PENHA, 1929, TORRES & RAMOS, 1939, MEGALE, 1946, COSTA, 1974, LEITE, 1982, FIGUEIREDO, 1985, PINHO, 1988, FACURY FILHO, 1992). Trata-se de um protozoário amplamente distribuído nos rebanhos, chegando até 100% de rebanhos leiteiros positivos (LEITE, 1982) e podendo infectar bezerros bastante jovens com eliminação de oocistos já aos 13 dias de idade e diarreias severas, de sangue, com 20 dias de idade (FACURY FILHO, 1992).

No campo da bacteriologia em fezes de bezerros, PENHA & D'APICE (1944) citaram a *Salmonella dublin* como responsável por 23% dos casos de diarreia infecciosa, *Proteus* por 17% e *E.coli* por 10% em bezerros. MORENO *et al* (1973) isolaram *Salmonella* nos animais.

COSTA *et al* (1979) pesquisaram a frequência e causas de doenças do aparelho digestivo de bezerros e observaram uma frequência de 39,3% de *E.coli* enteropatogênica, 13,4% de *Salmonella* e 8,9% de *Pseudomonas*, destacando-se a *E.coli* com 44,5% em bezerros de até dois meses de idade, *Salmonella* com 20,2% e *Proteus* com 11,3% em bezerros acima de dois meses de idade. RIBEIRO & SILVA (1982) fizeram o isolamento e identificação de bactérias entéricas em 2100 amostras de fezes de bezerros com diarreia e com idade variando entre 2 a 12 meses. Encontraram 14,19% de amostras positivas para *Salmonella* spp e 1,76% de *E.coli* enteropatogênica.

Um trabalho mais abrangente foi feito por MADRUGA *et al* (1982) que pesquisaram as causas de morbidade e mortalidade de bezerros, no Mato Grosso de Sul, e encontraram o quadro clínico caracterizado pela diarreia, com maior frequência (55,3%). Dentre as causas da diarreia as bacterianas foram mais frequentes, sendo a *E.coli* isolada em maior número, seguindo-se a *Salmonella* spp. O helminto mais encontrado foi *Strongyloides papillosus*. *Eimeria* sp foi observada em 11,2% das amostras colhidas e, em quase todos os casos, associada com diarreia escura. A faixa etária mais atingida foi dos 60 aos 90 dias.

KUCHEMUCK *et al* (1984) pesquisaram os agentes de enterites bacterianas em 57 bezerros, na faixa etária de 01 a 90 dias e isolaram 21,1% de *E.coli*-k99 e 3,5% de *Salmonella* sp.

JEREZ (1985) apud ORTOLANI (1988), caracterizou, pela primeira vez no Brasil, a presença do rotavírus em material fecal de bezerros diarreicos, determinando 4 tipos eletroforéticos diferentes e encontrando-os em 29% das amostras fecais.

RANGEL FILHO & LIMA (1987) diagnosticaram o rotavírus em um bezerro, proveniente de um rebanho mestiço-leiteiro, de aproximadamente 6 meses de idade.



3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MARCO AMOSTRAL

O município de Para' de Minas está situado na região metalúrgica de Minas Gerais, a 73 km de Belo Horizonte, com acesso pela rodovia MG 262, latitude 18°36'S, longitude 46°32'W, altitude de 895 metros, com precipitação pluviométrica média anual de 1464,6 mm, concentrada nos meses de novembro a fevereiro e temperatura média anual de 20,10C. (5o DISTRITO DE METEOROLOGIA).

O município conta com uma área de 588 km² (IBGE, 1980) com população estimada em 61.063 habitantes (CENSO IBGE, 1991), com 85,74% desta situada na zona urbana.

A micro-região tem, como principal atividade a avicultura de corte. A bovinocultura de leite é também uma atividade expressiva na região com 69.871 cabeças. Em 1990 estimou-se que 18.583 vacas estavam em lactação, produzindo 29.415.000 litros de leite (IBGE, 1990).

3.2 FAZENDA E ANIMAIS

A pesquisa foi realizada na bacia leiteira de Para' de Minas onde foram escolhidas, aleatoriamente, 33 fazendas dentre as que fornecem leite à "Cooperativa Regional dos Produtores de Para' de Minas".

O tamanho da amostra foi calculado por métodos estatísticos, utilizando-se os critérios recomendados pelo CEPANZO (1979).

O caráter considerado para os cálculos foi a prevalência da infecção por *Cryptosporidium* em

propriedades leiteiras, que foi estimada em 75%, baseada em pre'-experimento realizado na região centro-sul de Minas Gerais.

O grau de precisão, ou margem de erro admitida entre o valor verdadeiro e o estimado, foi igual a 20% (L). O nível de confiança (Z) foi de 95%.

Aplicando-se a fórmula:

$$n = Z^2 \cdot \frac{P(100 - P)}{L^2}$$

Onde:

$$L = \frac{75 \cdot 20}{100} \text{ (margem de erro esperada)}$$

$$Z = 1,96 \text{ (grau de confiança)}$$

$$P = 75\% \text{ (prevalência esperada)}$$

Então,

$$n = \frac{(1,96)^2 \cdot 75 \cdot 25}{\frac{(75 \cdot 20)^2}{(100)^2}} = \frac{7200}{225} = 32 \text{ fazendas}$$

De cada fazenda foi anotado o tipo de leite produzido, segundo as normas do Ministério da Agricultura. Todas as propriedades se enquadraram no do leite tipo C, com média de produção de 258 litros de 38 vacas por fazenda, 6,8 litros/vaca. Além disso, o rebanho bovino de todas as fazendas visitadas era constituído de animais mestiços, da raça Holandesa, com ordenha manual e manejo semelhante dos animais.

Foram colhidas fezes de todos os bezerros presentes nas fazendas de 1 a 60 dias de idade, totalizando 262 animais, nos meses de janeiro a março de 1991.

A idade dos animais e a consistência das fezes foram anotadas no momento da colheita das amostras. As fezes foram classificadas de acordo com o aspecto



macroscópico em diarréicas quando estavam líquidas ou semi-líquidas e normais ou sem diarréia quando estavam sólidas ou semi-sólidas.

3.3 VARIÁVEIS ESTUDADAS

De cada propriedade foram anotados os produtos químicos usados para curar umbigo dos animais, o tempo em que os animais permaneciam com suas mães para a ingestão de colostro e o sistema em que os animais eram criados.

A primeira variável, denominada "cura de umbigo", foi dividida de acordo com as bases químicas usadas para curar umbigo dos bezerros. Assim, as propriedades foram divididas naquelas que curavam o umbigo com produtos à base de organofosforados puros ou associados, naquelas que curavam o umbigo com iodo e naquelas que não curavam o umbigo dos bezerros.

A segunda variável estudada foi o tempo em que os animais permaneciam com suas mães após o nascimento para ingestão do colostro, para justificar uma maior ou menor absorção, uma vez que, em todas as propriedades, foi relatado que os animais ingeriam colostro ("leite sujo"). Assim, foram divididas naquelas em que os animais permaneciam menos de 24 horas após o nascimento com suas mães em tempo contínuo, até 48 horas e naquelas em que os animais permaneciam mais de 48 horas em tempo contínuo com as mães, ou seja, até o final do período de colostro ou "leite sujo", por volta de oito dias após o nascimento.

A terceira variável estudada, "criação de bezerros", foi assim designada para caracterizar o tempo de permanência dos bezerros em piquetes e o tempo preso. O termo "preso" foi designado para as propriedades onde os animais permaneciam a maior parte do tempo em bezerreiros, geralmente coletivos, onde se acomodavam todos os bezerros lactentes que eram soltos somente após a retirada do leite das

respectivas mães. O tipo de criação "misto" foi designado para as propriedades em que os animais eram soltos pela manhã, logo após a retirada do leite, ficavam até o final da manhã com a mãe, eram separados destas, mas ainda permaneciam até o final da tarde, quando então eram recolhidos para o curral ou bezerreiros, nas adjacências destes. E, finalmente, o termo "solto" foi reservado para as propriedades que mantinham os bezerros o tempo todo em piquete e só eram recolhidos ao curral, pela manhã, para a retirada do leite de suas mães.

3.4 OBTENÇÃO DAS INFORMAÇÕES

As informações foram obtidas através de questionários (anexo I) preenchidos em entrevistas feita por ocasião das visitas às propriedades e colheita das amostras. Complementações necessárias a respeito do tempo de ingestão do colostro e tipo de cura de umbigo foram acrescentadas ao questionário.

3.5 COLHEITA DO MATERIAL

As fezes foram colhidas diretamente do reto, em sacos plásticos e transportadas para o laboratório em gelo onde foram separadas para exames parasitológicos e bacteriológicos.

As colheitas foram feitas no período de 23 de janeiro a 11 de março de 1991, quando a precipitação pluvial média foi de 356,4 mm, a temperatura média de 24,3°C e a umidade relativa do ar de 59,2%.

3.6 EXAMES COPROLÓGICOS

3.6.1 PARA *CRYPTOSPORIDIUM* SP

As fezes que estavam estocadas em geladeira a 4°C foram submetidas à flutuação em solução saturada de açúcar (Sheather). Para processar a flutuação, as

fezes foram diluídas em água e colocadas em tubo de centrifuga de 10 ml com igual volume da solução de Sheather e centrifugadas a 1500 rpm por 10 minutos. Sobre o menisco do tubo foi colocada uma lâmina. Junto com o conteúdo retido na lâmina, foi colocada uma gota de ovoalbumina para aumentar a adesão do esfregaço na lâmina e reter melhor o corante. Desse conteúdo, foi feito um esfregaço que foi corado pela técnica de Ziehl-Neelsen, modificada segundo HENRIKSEN & POHLENZ (1981) com as seguintes alterações:

- a) Fixação somente com metanol a 96%, não levando a lâmina ao fogo;
- b) Coloração com fucsina por 20-30 min;
- c) Diferenciação feita com H_2SO_4 a 2% por 30 seg. e repetindo quando necessário;
- d) Coloração com verde malaquita a 5%, por 30 segundos.

As lâminas, depois de secas, eram examinadas em objetivas de imersão (1000x). Os oocistos apresentavam-se como estruturas arredondadas, com material denso em seu interior fortemente corado de rosa, por vezes contendo grânulos escuros, medindo de 4 a 8 micra. Para considerar as lâminas negativas foram examinados, no mínimo, 100 campos microscópicos.

3.6.2 PARA HELMINTOS E OUTROS COCCÍDIOS

Para o exame de helmintos e outros coccídios, utilizou-se as mesmas amostras de fezes diluídas para o exame do *Cryptosporidium* e submetidas à flutuação centrifuga com solução de Sheather, contendo laminulas (22x22mm) sobre o menisco. Após a centrifugação, estas eram examinadas em sua totalidade diretamente ao microscópio óptico (1000x).

3.6.3 EXAMES BACTERIOLÓGICOS

Os exames bacteriológicos para a detecção de *Campylobacter* sp, *Salmonella* sp e *E. coli* enterotoxigênica foram feitos no laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva .

Devido à dificuldade de execução das técnicas bacteriológicas, a amostra utilizada foi apenas de 72 bezerros .

Para *Campylobacter*, os "swabs" foram transportados em meio de CHAN & MAKENZIE (1982) e inoculados em ágar BHI. Após 24 horas de enriquecimento, foram semeados em placas de SKM (vancomicina, trimetropin e polimixina B) e CMS (cefoperazona, ciclohexamida e vancomicina); para *Salmonella* as fezes foram inoculadas em tubos contendo caldo de tetracionato, iodo-iodeto e verde-brilhante (EDWARD & EWING, 1972) , incubados com posterior inoculação em ágar de Mac Conkey e ágar *Salmonella-Shigella*; para *E.coli* as amostras foram semeadas em placas de ágar MC e posteriormente feita pesquisa de toxinas termoestáveis pelo teste do camundongo recém-nascido, segundo as recomendações de CASTRO *et al* (1978).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas pelo teste de Qui-quadrado (SNEDECOR & COCHRAN, 1967) e teste de Fisher (GOMES, 1976).

Os dados de prevalência e frequência foram sempre comparados através dos seus intervalos de confiança. Para comparar os resultados obtidos neste trabalho com os encontrados na literatura, as faixas etárias foram reagrupadas de acordo com as apresentadas pelos trabalhos comparados.

4 RESULTADOS

4.1 COMPOSIÇÃO DA AMOSTRA

Foram colhidos, ao todo, amostras de 262 animais, distribuídos em 4 grupos, de acordo com a faixa etária. O grupo G1 tinha 20 animais (7,63%), com idade entre 2 a 7 dias; G2 42 animais (16,03%), com idade entre 8 a 15 dias; G3 75 animais (28,63%), com idade entre 16 a 30 dias; G4 125 animais (47,71%), com idade entre 31 a 60 dias (GRAF.1).

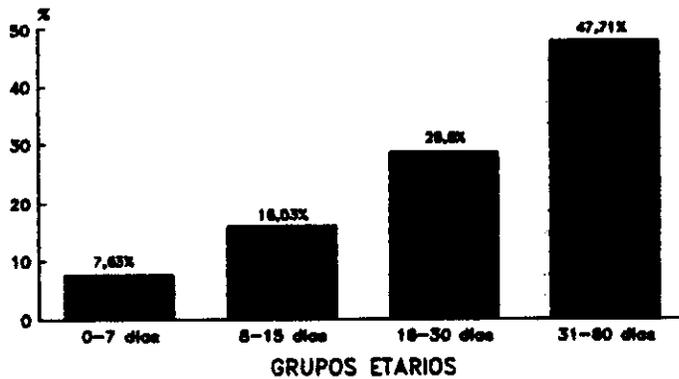


GRAFICO 1 Frequência de bezerros, de acordo com a faixa etária, do total de animais (n=262) com até 60 dias, oriundo de 33 propriedades leiteiras, em Para de Minas, M.G. 1991.

O número de animais amostrados por fazenda variou de 3 a 15 (média de $7,94 \pm 3,76$) (TAB.1).

TABELA 1 Prevalencia de *Cryptosporidium* em bezerros com até 60 dias de idade em Pará de Minas, M.G., 1991.

PROPRIEDADES	ANIMAIS		
	EXAMINADOS	POSITIVOS	%
01	13	06	46,2
02	11	01	9,1
03	03	00	0
04	10	00	0
05	04	01	25,0
06	06	00	0
07	04	00	0
08	11	02	18,2
09	04	01	25,0
10	10	03	30,0
11	14	02	14,3
12	15	04	26,7
13	06	02	33,3
14	10	00	0
15	09	01	11,1
16	06	02	33,3
17	06	01	16,7
18	07	01	14,3
19	07	03	42,9
20	14	02	26,7
21	10	03	33,3
22	03	00	0
23	04	00	0
24	09	01	11,1
25	03	00	0
26	07	02	28,6
27	03	00	0
28	10	04	40,0
29	06	01	16,7
30	03	00	0
31	10	05	50,0
32	15	02	13,3
33	09	01	11,1
TOTAL	262	51	19,5



4.2 PREVALÊNCIA DO *CRYPTOSPORIDIUM*

4.2.1 NOS REBANHOS

Das 33 propriedades estudadas, 23 (69,7%) foram positivas para oocistos de *Cryptosporidium* sp, sendo que a porcentagem de animais parasitados por fazenda variou de 9,1% a 50,0%.

As fazendas, considerando-se a condição clínica dos bezerros, foram distribuídas da seguinte maneira: 10 foram negativas (30,3%); 9 apresentaram somente bezerros diarreicos positivos (27,3%); 8 apresentaram bezerros tanto não diarreicos como diarreicos eliminando oocistos (24,2%); e 6 só apresentaram bezerros não diarreicos eliminando oocistos (18,2%) (TAB.2).

TABELA 2: Porcentagem de propriedades com animais positivos, de acordo com a consistência das fezes, em Pará de Minas, M.G., 1991.

CONSISTÊNCIA DAS FEZES /PRESENÇA <i>CRYPTOSPORIDIUM</i>	PROPRIEDADES	
	EXAMINADAS	(%)
Positivos com diarreia	09	27,3
Positivos com e sem diarreia	08	24,2
Positivos sem diarreia	06	18,2
Negativos	10	30,3
TOTAL	33	100,0

4.2.2 NOS ANIMAIS

A porcentagem de animais com oocistos de *Cryptosporidium* nas fezes foi de 19,5%. Considerando-se a faixa etária, encontrou-se 10,0% dos animais com a infecção no grupo G1, 19,1% no grupo G2, 24,0% no grupo G3 e 18,4% no G4 (GRAF.2).

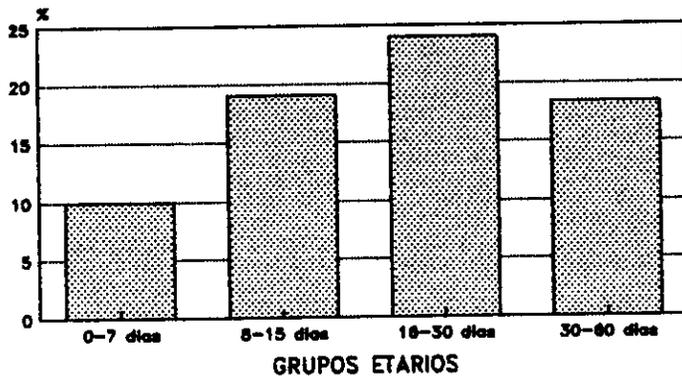


GRAFICO 2 Frequencia da Infeccao pelo *Cryptosporidium* em bezerros,segundo a faixa etaria, nas 33 propriedades leiteiras de Para de Minas,M.G., 1991.

Considerando-se somente as fazendas positivas, as porcentagens para os respectivos grupos etários passaram para 20,0% , 21,6% , 25,9% e 23,9%(GRAF. 3).

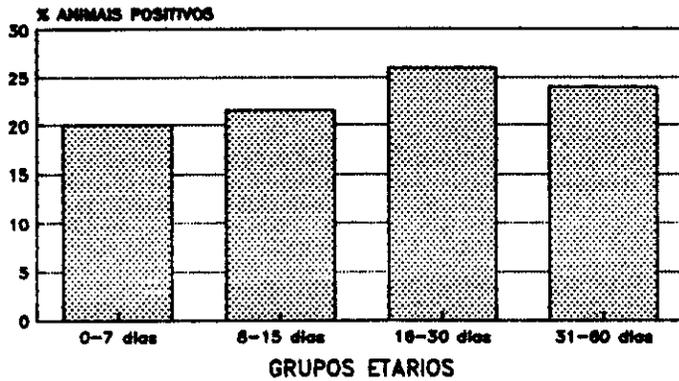


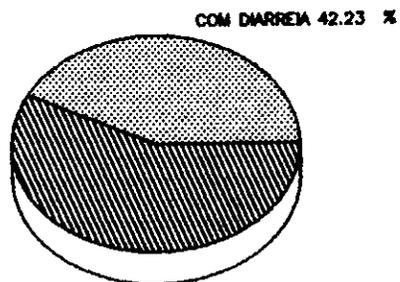
GRAFICO 3 Frequencia da infeccao pelo *Cryptosporidium* em bezerras,segundo a faixa etaria nas propriedades positivas para o parasito,em Para de Minas,M.G.,1991.

4.3 PRESENCIA DO *CRYPTOSPORIDIUM* SEGUNDO PRESENCIA OU AUSÊNCIA DE DIARRÉIA

4.3.1 DISTRIBUIÇÃO DOS BEZERROS E PROPRIEDADES DE ACORDO COM A CONSISTÊNCIA DAS FEZES

A presença ou não da diarreia foi avaliada em 251 animais, sendo que 57,8% destes foram considerados normais (fezes solidas ou semi-solidas) e 42,2% foram considerados diarreicos (semi-líquidas ou líquidas) (GRAF. 4).

Quando separados por faixa etária, o G1 apresentou 47,4% animais com diarreia e ; o G2 48,8% ; o G3 37,5% e o G4 42,0% com diarreia (GRAF.5).



SEM DIARREIA 57.77 %

GRAFICO 4 Frequencia da diarrea em bezerros com ate 60 dias de idade de 33 propriedades leiteiras de Para de Minas, M.G. 1991.

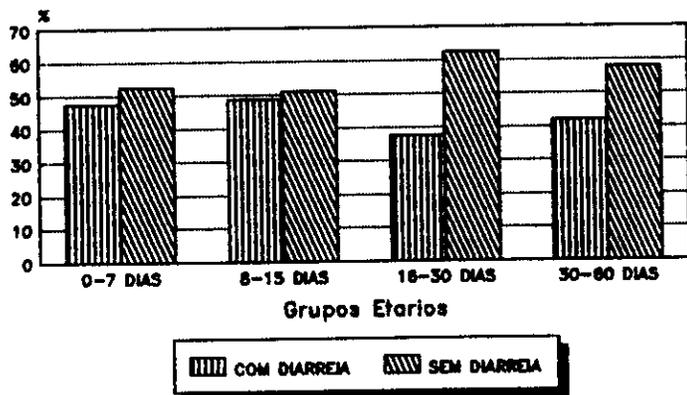


GRAFICO 5 Frequencia da diarrea em bezerros, segundo a faixa etaria, em 33 propriedades leiteiras de para de Minas, M.G., 1991.

Com relação às propriedades, somente 3 das 33 fazendas (9,1%) não apresentaram, no momento da colheita, animais com o sinal diarreia. Nas demais, pelo menos uma amostra foi considerada diarreica.

4.3.2 FREQUÊNCIA DO *CRYPTOSPORIDIUM* SEGUNDO A PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE DIARRÉIA

Considerando-se a consistência das fezes dos animais, dentre os diarreicos, 22,6% estavam positivos para o *Cryptosporidium* sp e 77,3% negativos. Dos não-diarreicos, 17,2% continham oocistos em suas fezes e 82,8% não. Do total de animais positivos (n = 51), 49,0% tinham diarreia e dentre os negativos, 40,6% apresentavam diarreia (GRAF. 6). Ajustando o tamanho da amostra de diarreicos e não-diarreicos (n = 100 para cada estrato), a porcentagem de animais positivos com diarreia foi de 11,32%, positivos sem diarreia 8,6%; negativos com diarreia 38,7% e negativos sem diarreia 41,4% (GRAF. 7).

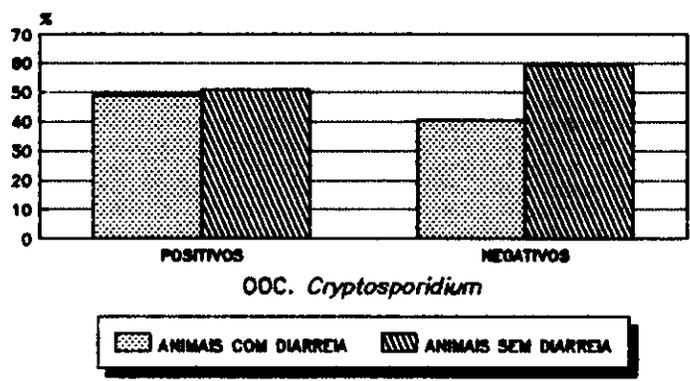


GRAFICO 6 Frequência de bezerros diarreicos ,segundo a presença de oocistos de *Cryptosporidium* em Para de Minas,M.G.,1991.

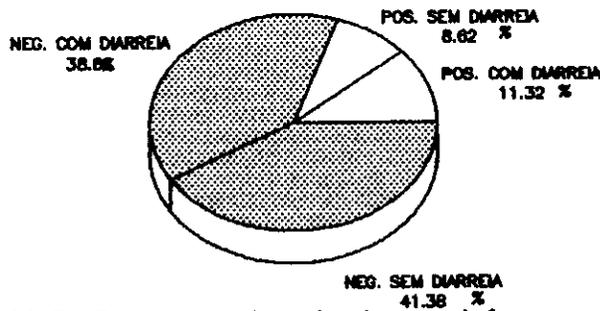


GRAFICO 7 Frequencia de animais com Infecção pelo *Cryptosporidium*, segundo a presença de diarreia, em Para de Minas, M.G., 1991.

Ainda considerando-se presença ou ausência de diarreia, de acordo com a faixa etária foram observados por estrato: no grupo G1, 11,1% de animais com diarreia e 10,0% dos animais sem diarreia estavam eliminando oocistos de *Cryptosporidium*; no grupo G2, 25,0% dos animais diarreicos e 14,3% dos animais sem diarreia estavam positivos para oocistos de *Cryptosporidium*; do G3 29,4% dos diarreicos e 20,0% dos não diarreicos estavam positivos e, no grupo G4 observou-se 20,0% de animais diarreicos e 17,4% de não diarreicos com amostras fecais positivas para o parasito.

Ao separar somente os animais positivos para *Cryptosporidium* e ainda, por faixa etária, observa-se que no G1, a proporção de diarreicos é de 50,0%; no G2 é de 62,5%; G3 de 44,4% e G4 de 43,5%. Apesar de não haver diferenças estatisticamente significativas, observa-se um maior numero de casos de animais com diarreia positivos para *Cryptosporidium* se no grupo G2 (GRAF. 8).

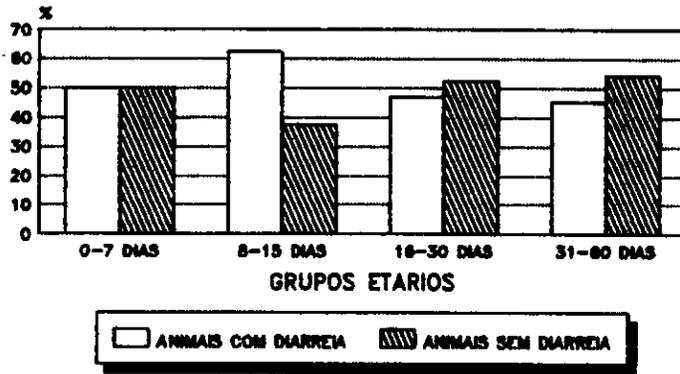


GRAFICO 8 Frequência de animais diarreicos com a infecção pelo *Cryptosporidium*, de acordo com a faixa etária, em Para de Minas, M.G., 1991.

Quando considerar somente os animais negativos para *Cryptosporidium*, o perfil se assemelha à composição inicial da amostra (GRAF. 5), ou seja, menor número de animais com diarreia, com proporções também semelhantes (GRAF.9).

4.4 PRÁTICAS DE MANEJO RELACIONADAS COM A INFECÇÃO PELO *CRYPTOSPORIDIUM*

4.4.1 DIVISÃO DAS FAZENDAS DE ACORDO COM AS VARIÁVEIS

A variável "cura de umbigo" foi dividida de acordo com as bases químicas usadas para curar umbigo dos bezerros. Em 74,2% das propriedades usava-se organofosforados puros ou associados; em 19,3% usava-se iodo e em 6,4% a prática da cura de umbigo não era realizada (GRAF.10).

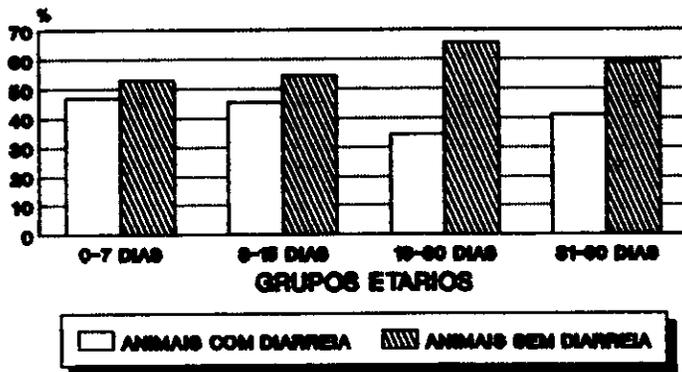


GRAFICO 9 Frequencia de animais diarreicos sem a infeccao pelo *Cryptosporidium*, de acordo com a faixa etaria, em Para de Minas, M.G., 1991.

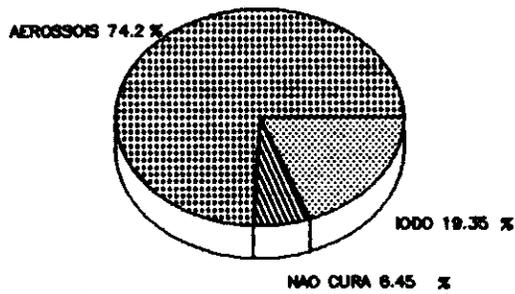


GRAFICO 10 Distribuicao porcentual dos tipos de tratamento utilizados para cura de umbigo, em 33 propriedades de Para de Minas, MG, 1991.

Na variável "tempo de ingestão de colostro" que foi dividida de acordo com o tempo de permanência do bezerro com suas mães, encontrou-se que em 61,9% das propriedades os animais permaneciam até 24 horas com a mãe ; em 14,3% , 24 -48 horas com a mãe e em 23,8%, mais de 48 horas com a mãe (GRAF. 11).

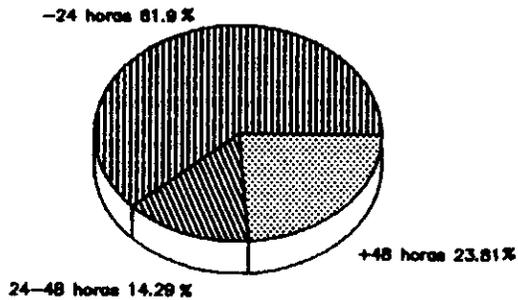


GRAFICO 11 Distribuição percentual tempo de ingestão de colostro em 33 propriedades leiteiras de Paro de Minas, M.G., 1991.

Para a terceira variável estudada, "criação de bezerras", no sistema "preso", foram incluídas 36,4% das fazendas, na classe "misto", 39,4% das fazendas e na classe "solto", 24,2% das fazendas (GRAF. 12.).

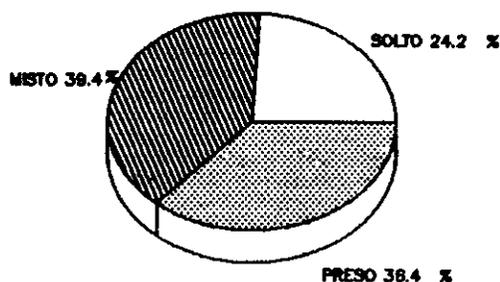


GRAFICO 12 Distribuicao percentual do regime de criação de bezerras em 33 propriedades leiteiras de Para de Minas, M.G., 1991.

4.4.2 FREQUÊNCIA DO *CRYPTOSPORIDIUM* RELACIONADAS COM AS PRÁTICAS DE MANEJO ESTUDADAS

De acordo com o critério usado, a distribuição das fazendas positivas e negativas para a variável "criação" pode ser vista no gráfico 13, sendo que a proporção de positivos/negativos permaneceu na relação de 70,0% : 30,0% respectivamente, semelhante ao resultado geral, ou seja, para "solto" foi 62,5% de fazendas positivas (n = 5); para "misto" foi de 69,2% de positivas e para "preso", 75,0% de positivas. Não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$), para estes valores encontrados, ou seja, de acordo com tais critérios, a presença do *Cryptosporidium* não foi influenciada por estes sistemas de criação, nesta região.

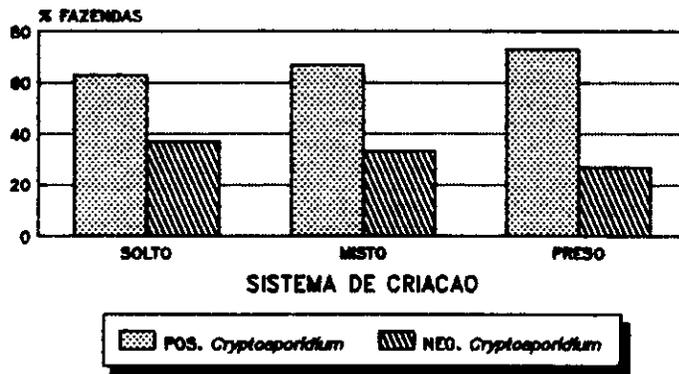


GRAFICO 13 Frequencia de propriedades positivas para o *Cryptosporidium*, segundo o sistema de criaçao, em Para de Minas, M.G., 1991.

Segundo a variável "cura de umbigo", a porcentagem de propriedades positivas para produtos sob a forma de aerossóis foi de 73,9% de positivos contra 26,1% de negativos; para as propriedades que disseram "não curar" o umbigo, as positivas e negativas tiveram igual proporção (50,0%) e para aquelas que utilizaram iodo, a porcentagem foi de 66,7% de positivas para 33,3% de negativas. Por esses resultados, o iodo não mostrou exercer influência para evitar a infecção por *Cryptosporidium* (GRAF. 14).

Segundo o critério usado para separar os estratos da variável "ingestão de colostro", a porcentagem de fazendas, cujos bezerros permaneciam com a mãe 24 horas após nascimento, foi de 61,5% contra 38,5% de negativas; para as que os mantinham de 24 - 48 horas, todas foram positivas e as que mantinham os bezerros por mais de 48 horas com as mães a porcentagem de positivas foi de 60,0%. Também não houve diferenças

estatisticamente significativas para as classificações quanto à porcentagem de positivas e negativas (GRAF.15)

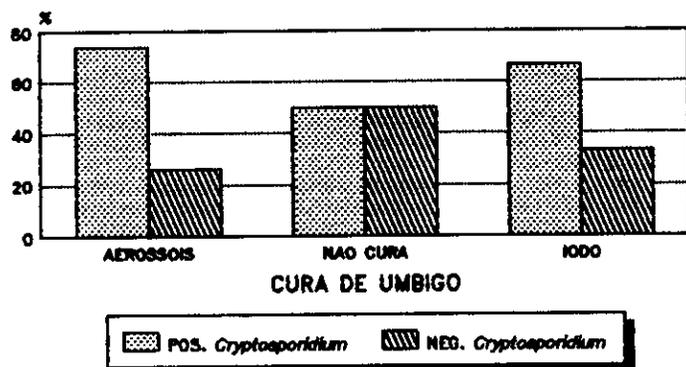


GRAFICO 14 Frequencia de propriedades positivas para oocistos de *Cryptosporidium*, segundo o tipo de tratamento usado para cura de umbigo, em Para de Minas, M.G., 1991.

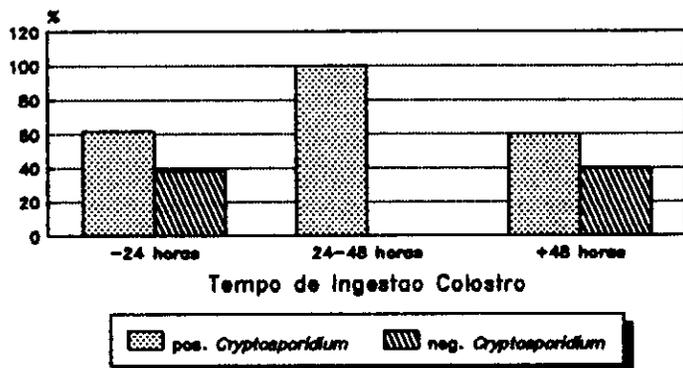


GRAFICO 15 Frequencia de propriedades positivas para oocistos de *Cryptosporidium*, segundo o tempo de ingestao de colostro, em Para de Minas, M.G., 1991.

4.5 PEQUISA DE OUTROS ENTEROPATÓGENOS ASSOCIADOS AO *CRYPTOSPORIDIUM* SP NAS PROPRIEDADES AMOSTRADAS E NA FEZES DOS BEZERROS

A prevalência de helmintos por fazendas foi de 84,9% e de coccídios do gênero *Eimeria* de 87,9%, e , nos animais, foi de 26,6% e 48,6% respectivamente.

O *Cryptosporidium* foi encontrado em associação com helmintos, *Eimeria* , bem como com *Campylobacter*, *Salmonella* e *E.coli* enterotoxigênica.

Dos 72 animais, 16 foram positivos para *Cryptosporidium*, sendo que 2 não apresentaram associações com qualquer outro agente pesquisado. Quando associado com apenas um agente, este foi o *Campylobacter* sp. Nas demais associações dois ou mais agentes estiveram presentes.

Dentre os enteropatógenos pesquisados, o *Campylobacter* sp. teve maior frequência seguido de *Eimeria* e *Salmonella*, ficando o *Cryptosporidium* em 4o lugar na frequência geral (Tab 3). Nenhum dos agentes pesquisados teve uma associação estatisticamente significativa com o sinal clínico da diarreia.

TABELA 5 : Frequência de enteropatógenos em 72 bezerros com idade de 1 a 60 dias em Para de Minas, M.G., 1991.

Enteropatógenos	Frequência	%
<i>Campylobacter</i>	39	54,2
<i>Eimeria</i> sp	38	52,8
<i>Salmonella</i> sp	17	23,6
<i>Cryptosporidium</i> sp	16	22,2
Helmintos	14	19,4
<i>E.coli</i>	12	16,7



5 DISCUSSÃO

5.1 PREVALÊNCIA DO *CRYPTOSPORIDIUM* SP

5.1.1 NOS REBANHOS

O resultado de prevalência obtido com os rebanhos de Pará de Minas, de 69,7% foi equivalente aos resultados verificados por ANDERSON & HALL (1982) que encontraram 56% dos 73 rebanhos pesquisados positivos para oocistos de *Cryptosporidium* sp.; por LEEK & FAYER (1984) que obtiveram uma prevalência de 75% de 12 rebanhos positivos e por ORTOLANI (1988) de 60% de 43 propriedades positivas em São Paulo, Brasil.

Obtiveram-se ainda resultados na literatura que foram superiores, ($p < 0,05$) ao encontrado neste trabalho como o de MARKOVICKS *et al* (1984) que encontraram 91% de rebanhos positivos, POHJOLA *et al* (1986) que constataram a presença do *Cryptosporidium* sp. em todos os 8 rebanhos pesquisados. Entretanto, estes rebanhos foram selecionados, pelos autores, por apresentarem uma história prévia de problemas com diarreia em bezerros, o que não aconteceu nesta pesquisa onde as propriedades foram escolhidas aleatoriamente, podendo explicar, assim, o alto índice do trabalho referido em relação a este em questão; e também foi inferior aos resultados obtidos por KOZAKIEWICZ & MASZEWSKA (1988), que encontraram 94,3% de rebanhos que apresentaram, pelo menos, um animal eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. sem entretanto discutir os fatores que estariam propiciando tão alto nível de infecção.



5.1.2 NOS ANIMAIS

Os resultados obtidos por SANFORD & JOSEPHSON (1982) que encontraram uma ocorrência de 26% de positivos entre 161 bezerros diarreicos; por FISHER (1984) com 23,7% de 943 bezerros de 1 a 198 dias de idade; por LEEK & FAYER (1984) com uma prevalência de 26,5% para animais de 7 a 14 dias; por MANN *et al* (1986) que obtiveram 25,8% de 182 animais eliminando oocistos; por MODOLO *et al* (1987) com 16,8% de animais positivos e por NOURI & TOROGHI (1991) que encontraram uma taxa de 13,07% para animais de 8 a 30 dias que foram estatisticamente equivalentes aos resultados obtidos acerca da prevalência do protozoário nos animais desta pesquisa.

HENRIKSEN & KROGH (1985) e ORTOLANI (1988) trabalharam com esfregaços fecais corados com Ziehl-Neelsen modificado de animais até 2 meses e em ambos os trabalhos, as taxas de 19,33% e 24,75%, encontrados respectivamente não diferiram estatisticamente dos do presente trabalho.

Os resultados obtidos por SOBIEH *et al* (1987) que encontraram uma prevalência de 5,6% e os obtidos por VILLACORTA *et al* (1991) de 6,38% foram estatisticamente inferiores aos obtidos no presente trabalho. No de SOBIEH *et al*, a idade dos bezerros examinados era de até 20 dias, mas a técnica usada pelos autores, coloração com auramina-rodamina, poderia influenciar no resultado final e no segundo, a idade estudada variou de 1 a 198 dias o que pode ter diluído muito a taxa de infecção.

Resultados estatisticamente superiores ao obtido neste experimento foram encontrados por ANDERSON & HALL (1982) que obtiveram 38,7% de animais positivos, mas estes autores só colheram amostras dos animais quando estes completaram o 12^o dia de vida, o que poderia aumentar a possibilidade de encontrar o parasito uma vez que esta idade foi escolhida como ótima para a eliminação de oocistos; por JUNGSMANN & HIEPE (1983) que encontram uma taxa de 51% de animais de 2 a 28 dias, positivos para oocistos de

Cryptosporidium sp.; por KOZAKIEWICZ & MASZEWSKA (1988), que detectaram a presença de oocistos em 56,25% dos animais de 3 semanas de idade.

TOWNSEND & LANCE (1988) examinaram animais de até um mês de idade, e encontraram uma taxa de 45,21%, entretanto, todos os animais examinados estavam com diarreia; ONGERTH & STIBS (1989) com uma ocorrência de 40,7% de animais de 7 a 21 dias positivos e SIEBERT & GRUNDER (1991) que, num total de 656 animais examinados, 41,1% estavam positivos, embora só tenham sido colhidas amostras de animais diarreicos e sem indicar a faixa etária com a qual trabalharam, que também foram resultados significativamente superiores aos obtidos..

5.2 PRESENÇA DO *CRYPTOSPORIDIUM* SP RELACIONADO COM A PRESENÇA OU AUSÊNCIA DA DIARRÉIA

Neste experimento o número de animais que apresentaram oocistos de *Cryptosporidium* em suas fezes e estavam diarreicos não diferenciou estatisticamente daqueles positivos para oocistos do parasito e que não se apresentaram diarreicos. Estes resultados concordam somente com os dados encontrados por POHJOLA *et al* (1986) e, apesar de terem encontrado uma taxa de animais positivos mais alta que a do presente trabalho, a diferença entre animais positivos diarreicos e positivos não-diarreicos não diferiu estatisticamente, e por RYCKE *et al* (1986) e MODOLO (1988) com porcentagens semelhantes às encontradas no presente.

POHLENS *et al* (1978), MYERS *et al* (1984), REYNOLDS *et al* (1986), SPILLMANN *et al* (1986), SOBIEH *et al* (1987) e ORTOLANI (1988) observaram diferenças na presença do *Cryptosporidium* em bezerros diarreicos e não diarreicos o que não foi observado nos resultados do presente trabalho.

Apesar de alguns autores não terem observado relação estatisticamente significante entre diarreia e

presença de oocistos de *Cryptosporidium*, há uma predominância dos autores que encontraram diferenças entre assintomáticos e diarreicos positivos, sendo estes significativamente menores que os primeiros. Isto poderá ser justificado talvez, pela idade estudada, pelo critério de classificação das fezes em diarreicas ou não-diarreicas, ou mesmo pelo fato de que a consistência das fezes, no momento da colheita, pode não retratar fielmente o quadro em que o animal realmente se encontra. Note-se que, apesar de ter uma pequena diferença nos grupos G₁ e G₄, pouco maior no G₂ e G₃ e não haver diferença estatisticamente significativa, ainda assim, há um maior número de bezerros positivos diarreicos que não diarreicos positivos. Assim, tais resultados mostram a dificuldade de interpretação da condição clínica em relação à presença ou ausência do *Cryptosporidium* sp.

5.3 DISTRIBUIÇÃO DO *CRYPTOSPORIDIUM* SP DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA

De uma maneira geral, houve discrepâncias em relação ao presente trabalho, quanto à faixa etária mais atingida pelo *Cryptosporidium* e quanto à distribuição do agente por faixa etária. O padrão de eliminação não correspondeu ao encontrado por ANDERSON, 1981, KORINEK & CHROUST, 1985 sendo que, no presente trabalho, o início e pico da eliminação foram mais tardios, o que poderia ser justificado pelo tipo de manejo dos bezerros menos confinados e com menor densidade que nos países de clima frio e temperado.

SANFORD & JOSEPHSON (1982) não determinaram a frequência especificando a faixa etária. Os autores só relatam que a faixa etária dos bezerros atingidos variava de 7 a 30 dias com maior frequência entre o 7^o e 14^o dias de vida. No presente trabalho, bezerros de todas as faixas etárias examinados, ou seja, de até 60 dias de idade, foram positivos e ainda poderia ter animais mais velhos positivos, se estes fossem examinados e a faixa etária com maior número de animais positivos entre 16 a 30 dias de idade.



JUNGMANN & HIEPE (1983) relatoram que a faixa etária mais atingida foi de 8 a 14 dias, concordando com a maioria dos dados da literatura consultada, mas os dados do presente trabalho discordaram dos já encontrados por estes autores. FISHER (1984) estratificou em quatro faixas, sendo elas, 1 a 10 dias (G₁), 11 a 20 (G₂), 21 a 30 (G₃), 31 a 60 (G₄) dias de idade. Ajustando os estratos do presente trabalho de acordo com o relatado, obteve-se em ordem crescente dos grupos etários: 20,6%, 43,7%, 16,4% e 4,1% no trabalho de FISHER (1984) e 16,3%, 27,0%, 19,3% e 17,0% na presente pesquisa. Ambos os trabalhos concordaram com a faixa etária mais atingida, apesar de terem valores discrepantes, mas a ordem dos grupos em relação à frequência de animais atingidos diferenciou sendo no 1º trabalho G₂, G₁, G₃ e G₄ e no 2º, G₂, G₃, G₄, G₁.

HENRIKSEN & KROGH (1985) obtiveram, para os grupos etários de 1 a 7 dias, 13,9%, 8-14 dias 27,8%, 15-30 dias 20,4%, 31 a 60 dias 8,6%, em comparação com o presente experimento de 10%, 19,1%, 24%, 18,4% para os respectivos grupos, chamando a atenção para o grupo etário mais atingido em que os dois trabalhos não concordaram e para a frequência do último grupo onde o valor do presente trabalho superou o valor do 1º em mais que o dobro.

SPILMANN *et al* (1986), com estratificação dos animais de 7 a 30 dias em 7 a 14, 15 a 21 e 22 a 30 dias de idade, observaram 35,3%, 58,8% e 30,9% de ocorrência para cada grupo respectivamente. Concordando em ordem de frequência com o presente trabalho, sendo 21,6%, 30,8% e 19,3% mas discrepantes quanto ao valor percentual de animais positivos, com taxas bem maiores para o primeiro.

OVIEDO *et al* (1987) extratificaram apenas em animais menores que 1 mês com 26,3% de positivos e maiores que um mês com 8% de positivos. Estes valores discrepantes vão de encontro com o observado neste trabalho onde-se encontrou, para as respectivas faixas etárias, 20,4% e 18,40% que são bastante semelhantes.

TOWNSEND & LANCE e ORTOLANI (1988) encontraram resultados bastante semelhantes com maior taxa de infecção na 1ª semana de vida, bastante alta também na 2ª semana e decrescendo até 60 dias de idade diferentemente do presente trabalho onde, a taxa de infecção dos bezerros com até 1 semana de vida foi a menor, apesar de não ser estatisticamente diferente das demais.

No trabalho de ONGERTH & STIBBS (1989) houve inversão de valores no 1º e 3º estratos quando comparado com a presente pesquisa, ou seja, foi superior no 1º estrato, no 1º e inferior no 1º estrato do presente trabalho.

5.4 PRÁTICAS DE MANEJO RELACIONADAS COM A INFECÇÃO PELO *CRYPTOSPORIDIUM* SP

Nenhuma das práticas de manejo avaliadas mostraram uma relação, estatisticamente significativa, com a presença da infecção pelo *Cryptosporidium*, à semelhança do observado por ARROWOOD *et al* (1989) e HARP *et al* (1989) em relação à ingestão de colostro; REYNOLDS *et al* (1986), em relação ao tipo de criação (bezerreiro individual, coletivo ou solto com a mãe) e discordando de ANGUS, 1981, POHJOLA *et al* (1986), ORTOLANI (1988), FAYER *et al* (1989a) e FAYER *et al* (1989b).

SANFORD & JOSEPHSON (1982) e FIEDLER (1985) encontraram um aumento de casos no inverno e atribuíram ao confinamento associado com condição sanitária precária e práticas de manejo deficiente; ORTOLANI (1988), em relação ao tipo de acomodação utilizada, encontrou ocorrência significativamente menor em bezerreiros individuais e em locais de chão ripado, e CHERMETTE & BOUFASSA DUZROUT (1988), apud CASEY (1991), afirmaram que condições de criações precárias facilitariam o desenvolvimento da infecção criptosporídica.

Quanto a cura de umbigo, poder-se-ia esperar que a cura mal feita ou por fazer propiciaria infecções

sistêmicas como, por exemplo, colibacilose, debilitando o animal e facilitando a aquisição de outras doenças intercorrentes e ou oportunistas onde o *Cryptosporidium* teria importância, como sugeriu CHERMETTE & BOUFASSA-OUZROUT (1988) apud CASEY (1991). Entretanto, não existe nenhum trabalho que relacione tal variável.

Em vista disso, deve-se então propor a realização de um experimento onde as fazendas sejam escolhidas de acordo com as práticas de manejo determinadas para se obter dados mais conclusivos acerca destas variáveis, uma vez que as fazendas deste experimento foram amostradas aleatoriamente e, apesar das divisões das práticas de manejo, tinham características muito semelhantes para a criação de bezerros.

5.5 PARTICIPAÇÃO DO *CRYPTOSPORIDIUM* DENTRE OS PRINCIPAIS ENTEROPATÓGENOS DE BEZERROS .

De uma maneira geral, os trabalhos de etiologia abordam os agentes, em ordem decrescente, de ocorrência de rotavírus, *Cryptosporidium*, coronavírus *E. coli*, *Salmonella*, que são os mais estudados em bezerros com até 1 a 2 meses de idade. O diagnóstico do *Campylobacter* é realizado com menor frequência mas, quando incluído, é bastante frequente sendo, geralmente, o 2º mais encontrado. Entretanto, quando os animais amostrados são separados de acordo com a condição clínica, os autores relacionados só encontraram diferença estatisticamente significativa para rotavírus sendo a frequência deste maior em bezerros diarreicos que em não-diarreicos. Parasitos como *Eimeria* sp., Strongylídeos, *Strongyloides* só foram pesquisados por OVIEDO et al (1987).

A frequência, em ordem decrescente neste trabalho, foi *Campylobacter*, *Eimeria* sp., *Salmonella* sp., *Cryptosporidium*, helmintos e *E. coli*. Assim, a frequência do *Campylobacter* está de acordo com achados obtidos por MYERS et al (1984), RYCKE et al (1986), SNOODGRASS et al (1986) sendo só superado pela infecção viral.

Entretanto, *Cryptosporidium* que geralmente é o 2º mais frequente de acordo com vários trabalhos (BALJER *et al.*, 1987, HALL *et al.*, 1988, MOORE & ZEMAN, 1991) não o foi no presente trabalho.

Os demais agentes têm uma ordem de ocorrência muito variada nos diversos trabalhos relacionados.

O fato de não ter detectado nenhuma diferença estatisticamente significativa em bezerros diarreicos e não-diarreicos com oocistos de *Cryptosporidium* ocorreu no presente experimento bem como em outros. O agente que apresentou correlação com presença de diarreia com maior frequência, em outros experimentos, foi o rotavírus o qual não foi possível ser pesquisado no presente trabalho.

Assim, pode-se observar que os resultados variam muito de lugar para lugar, de metodologia para metodologia. No presente trabalho, as relações feitas entre o *Cryptosporidium* sp e outros fatores relacionados com a infecção foram pouco consistentes, sendo necessário um estudo metodologicamente diferenciado para as diferentes variáveis, para se conhecer, principalmente, as variáveis que determinam ou não a infecção pelo *Cryptosporidium*.



6 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados, obtidos de acordo com o delineamento experimental utilizado neste trabalho, nos permite as seguintes conclusões para a região estudada:

- a) O *Cryptosporidium* é comum em propriedades leiteiras da bacia leiteira de Pará de Minas;
- b) O *Cryptosporidium* é frequente em bezerros lactentes com até 60 dias de idade, e se distribui sem variações significativas entre as diferentes faixas etárias estudadas;
- c) As práticas de manejo, sistema de criação, cura de umbigo e tempo de ingestão de colostro, aparentemente não influenciam a frequência da infecção pelo *Cryptosporidium*;
- d) A presença de diarreia não apresenta associação significativa com a frequência de oocistos de *Cryptosporidium* nas fezes de bezerros lactentes com até 60 dias de idade;
- e) O *Cryptosporidium* está frequentemente associado com outros enteropatógenos, principalmente *Campylobacter*, *Eimeria* e helmintos.



SUMMARY

The frequency of *Cryptosporidium* infection was determined in weaning dairy calves from Pará de Minas. This infection was related with feces consistency, colostrum ingestion, navel treatment and rearing of calves managements and with other enteropathogens.

Fecal samples were collected from all calves two days old to sixty days old from 33 dairy farms. To detection *Cryptosporidium* oocysts, each fecal sample was smeared onto a microscope slide with one drop of ovoalbumin. After air-drying, smears were fixed with 96% metanol and stained according to the modified Ziehl-Neelsen technique. Oocysts of *Cryptosporidium* was found in 69,7% of the farms and in 19,5% of the animals. When the calves were separated by age in four groups, 2-7 days; 8-15 days; 16-30 days and 31-60 days old, oocysts was observed in 10,0% , 19,1%, 24,9%, and 18,4% of animals, respectively.

Fecal samples were classified according to their consistency in diarrhoeic and nondiarrhoeic. Informations about calf management including navel treatment, colostrum ingestion and rearing of calves were registered.

All of samples, 42,2% were diarrheic and in 90,9% of the farms, at least one calf was diarrheic. No statistical relation between *Cryptosporidium* infection and diarrhoea was found.

Most of the farms have been used organo-phosphorus (74,2%) for to treat navels, 19,4% iodine and 6,5% of the farms have been not used any product to treat calf navel. No statistical relation between this management and *Cryptosporidium* infection was found.

Colostrum feeding was a comum practice in the farms

studied. For that purpose , 61,9% out the farms,calves stayed with their mothers for 24 hours after birth, in 14,3% 48 hours and in 23,8% the calves stayed more than 48 hours with their mothers.No statistical relation between colostrum feeding and *Cryptosporidium* infection was found.

Three systems were used to rear calves. In the first, used in 36,4% of farms, animals were kept all day in collective pens near stables.Second ,used in 39,4% of the farms , calves stayed part of the day in pasture and in the evening, they were kept in collective pens near the stables including 39,4% of farms and the last system, where the animals all the time stayed in the pasture, used in 24,2% of the farms. No statistical realtion between rearing system and *Cryptosporidium* infection was found.

Other enteropathogens, besides *Cryptosporidium*,were identified in fecal samples. The most frequent agents were *Campylobacter* (54,2%), *Eimeria* (52,2%) and *Salmonella* (23,6%). The *Cryptosporidium* ranked in fourth (22,2%). The other enteropathogens less frequently included helminths (19,4%) and *Escherichia coli* enterotoxigenic (16,7%). *Cryptosporidium* and *Campylobacter* was the association most frequent in fecal samples. No statistical relation was found between presence of any enteropathogens and diarrhoea.



7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACRES, S.D. & BABIUK, L.A. Studies on rotaviral antibody in bovine serum and lacteal secretions, using radioimmunoassay. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.173, n.05, p.555-559, Sep.1978.
- ANDERSON, B.C. Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 178, n. 09, p. 982-984, May 1981.
- ANDERSON, B.C. & BULGIN, M.S. Enteritis caused by *Cryptosporidium* in calves. *Veterinary Medicine Small Clinician*, v. 76, n. 06, p. 865-868, June 1981.
- ANDERSON, B.C. & HALL, R.F. Cryptosporidial infection in Idaho dairy calves. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 181, n. 05, p. 484-485, Set. 1982.
- ANGUS, K.W. Cryptosporidiosis in domestic animals and humans. In *Practice*, v. 09, n. 02, p. 47-49, Mar. 1987.
- ARWOOD, M.J., MEAD, J.R., MAHRT, J.L. et al. Effects of immune colostrum and orally administered antiparasite monoclonal antibodies on the outcome of *Cryptosporidium parvum* infections in neonatal mice. *Infection and Immunity*, v.57, n.08, p. 2283-2286, Aug. 1989.
- BALJER, G., EICHORN, W., GOBEL, E. et al. [Prevalence and distribution of important diarrhoea pathogens in newborn calves in southern Germany in 1984-1986]. *Tierärztliche Umschau*, v. 42, n. 01, p. 56-60, 1987. Abstracts.

- CASEY, M.J. *Cryptosporidium* and bovine cryptosporidiosis: a review. *Irish Veterinary Journal*, v.44, n. 1-3, p. 02-07, Jan-Mar. 1991.
- CASTRO, A.F.P. , SERAFIM, M.B. , RANGEL, H.A. et al . Swiss and inbred mice in the infant mouse test for the assay of *Escherichia coli* thermostable enterotoxin. *Infection and Immunity*, v.22, p.972-974, 1978.
- CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS, Ramos Mejia. Procedimientos para estudios de prevalência de enfermedades crônicas por muestro. Ramos Mejia, 1979. 35p. (Nota Técnica, 18, Rev. 1).
- CERQUEIRA, M.M.O.P. Controle da coccidiose bovina através da administração contínua de anticoccídios na ração e no sal mineral. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1988. 61p. TESE (Mestrado) em Medicina Veterinária.
- CHAN, F.T.H. & MAKENZIE, A.M.R.. Enrichment medium control of calfhood morbidity on age at first calving in New York holstein herds. *Preventive Veterinary Medicine*, v.06, n. , p.253-262, 1988.
- COSTA, U.C. Verificação do parasitismo de bovinos do Rio Grande do Sul por mais três espécies de *Eimeria*. *Revista de Medicina Veterinária* , São Paulo, v.10, n.01, p.37-42, 1974.
- EDWARDS, P.R. & EWING, W.H. Identification of enterobacteriaceae. 4 ed. Minneapolis: Burgess Publishing Co., 1972. 362p.
- FACURY FILHO, E.J. Evolução da infecção por *Eimeria* spp em bezerros naturalmente infectados e seu controle através da administração de anticoccídios no suplemento mineral. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1992. 69p. TESE (Mestrado) em Medicina Veterinária.
- FAYER, R.; ANDREWS, C.; UNGAR, B.L.P.; BLAGBURN, B. Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for



prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *Journal of Parasitology*, v.75, n.3, p.393-397, 1989b.

FAYER, R.; PERRYMAN, L.E.; RIGGS, M.W. Hyperimmune bovine colostrum neutralizes *Cryptosporidium* sporozoites and protects mice against oocyst challenge. *Journal of Parasitology*, v.75, n.01, p.151-151, 1989a.

FIEDLER, H.H. [The prevalence of cryptosporidiosis in cattle in northern Germany]. *Tierärztliche Umschau*, v. 40, n. 07, p.526-528, Jul. 1985.

FIGUEIREDO, P.C. , SERRA FREIRE, N.M. , GRISI, L. Comparação entre bezerros holando-zebu de seis graus de sangue, naturalmente infectados por eimerias. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.7, p.136-139, 1985.

FICHER, O. [Economic importance of coccidia of the genus *Cryptosporidium* in calf rearing. *Veterinarij Medicina*, v. 29, n. 07, p. 419-424, Jul. 1984.

GARCIA, L.S. , BRUKNER, D.A. , BREWER, T.C. et al . Techniques for recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, v.18, n.01, p.185-190, July 1983.

GARCIA, A.M. , LIMA, J.D. , FACURY FILHO, E.J. et al . Ocorrência da criptosporidiose em bezerros lactentes de Minas Gerais. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 6, 1989, Baje. *Anais...* Baje, 1989, p.122.

GOMES, F.P. *Estatística experimental* Piracicaba: Nobel. 1976. p.377-380.

HALL, G.A.; REYNOLDS, D.J. PARSONS, et al. Pathology of calves with diarrhoea in southern Britain. *Research in Veterinary Science*, v. 45, n. , p. 240-250, 1988.

- HARP, J.A., WOODMANSEE, D.B., MOON, H.W. Effects of colostral antibody on susceptibility of calves to *Cryptosporidium parvum* infection. *American Journal Veterinary Research*, v. 50, n. 12, p. 2117-2119, Dec. 1989.
- HENRIKSEN, S.A. Epidemiology of cryptosporidiosis in calves. In: INTERNATIONAL WORKSHOP, 1, 1988, Edinburg. *Proceedings* ... Edinburg: Moredun Research Institute, 1989. p.79-83.
- HENRIKSEN, S.A. & KROGH, H.V. Bovine cryptosporidiosis in Denmark: prevalence, age distribution and seasonal variation. *Nordisk Veterinary Medicine*, v. 37, n. 01, p. 34-41, Jan. 1985.
- HENRIKSEN, S.A. & POHLENZ, J.F.L. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.20, n.3-4, p.594-596, July 1981.
- JERRETT, I.V. Cryptosporidia associated with outbreaks of neonatal calf diarrhoea. *Australian Veterinary Journal*, v. 57, n. 09, p. 434-435, Sep. 1981.
- JUNGMAN, V.R. & HIEPE, T. [Occurrence and intravital diagnosis of cryptosporidiosis in newborn calves]. *Monatshefte Veterinarmedizin*, v. 38, n.08, p. 299-300, Apr. 1983.
- KORINEK, J.; CHROUST, K. Dynamics of the incidence of cryptosporidia in calves. *Acta Veterinaria Brno*, v.57, n. p.39-52, 1988. KOSAKIEWICZ, B. & MASZEWSKA, I. [Extensiveness of *Cryptosporidium* sp invasion in diarrhoeic calves in large scale farms.] *Medycyna Weterynaryjna*, v.44, n.07, p. 404-407, July 1988.
- KROGH, H.V. & HENRIKSEN, S.A. Bovine cryptosporidiosis in Denmark: cryptosporidia associated with neonatal calf diarrhea. *Nordisk Veterinary Medicine*, v. 37, n. 01, p. 42-47, Jan. 1985.

- KUCHEMUCK, M.R.G. , SADATSUNE, T. , FIGUEIREDO, G. et al. Estudo clinico de enterites bacterianas de bezerros com o isolamento, identificação dos agentes e tratamento dos animais doentes com sulfato de apramicina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 20, Belém, 1984, Anais..., Belém, 1984, p.346.
- LEEK, R.G. & FAYER, R. Prevalence of *Cryptosporidium* infections, and their relation to diarrhea in calves on 12 dairy farms in Maryland. *Proceedings of Helminthological Society of Washington*, v. 51, n. 02, p. 360-361, July 1984.
- LEITE, R.C. Aspectos epidemiológicos da coccidiose e condições sanitárias da criação de bezerros até um ano de idade. Sete Lagoas, M.G., 1981. . Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1982. 84p. TESE (Mestrado) em Medicina Veterinária.
- LEITE, R.C. & LIMA, J.D. Fatores sanitários que influenciam na criação de bezerros. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG*, v. 34, n.03, p. 485-492, Dez. 1982.
- LOPEZ, J.W.; ALLEN, S.D.; MITCHELL, J.; QUINN, M. Rotavirus and *Cryptosporidium* shedding in dairy feces and its relationship to colostrum immune transfer. *Journal Dairy Science*, v.71, p.1288-1294, 1988.
- MADRUGA, C.R. , SCHENK, M.A.A. , GOMES M.A. et al. Identificação das principais causas de morbidade e mortalidade de bezerros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 19, Camboriú, 1982, Anais... , Camboriú, 1982, p.39.
- MANN, E.D., SEKLA, L.H., NAYAR, G.P.S. et al. Infection with *Cryptosporidium* spp. in humans and cattle in Manitoba. *Canadian Journal Veterinary Research*, v. 50, n. 02, p. 174- 178, Apr. 1986.

- MARKOVICKS, A., ELAD, D., PIPANO, E. The prevalence of *Cryptosporidium* in dairy calves in Israel. *Refuah Veterinarith*, v. 41, n. 04, p. 134-139, Out./Dez. 1984.
- MEGALE, F. Sobre o tratamento da eimeriose dos bezerros pela iodo-cloro-oxi-quimoleina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 3, Porto Alegre, 1945, Anais ..., Porto Alegre, 1946, p.200-204.
- MODULO, J.R., BISPING, W., KIRPAL, K. Pesquisa de *Cryptosporidium* sp. em bezerros com e sem diarreia. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 09, n. 01, p. 5-6, Jan/Mar. 1987.
- MODULO, J.R.; GONÇALVES, R.C.; KUCHEMUCK, M.R.G.; GOTTSCHALK, A.F. Ocorrência de cryptosporidiose em bezerros na região de Botucatu - S.P. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.10, n.01, p.9-10, 1988.
- MOORE, D.A. & ZEMAN, D.H. Cryptosporidiosis in neonatal calves: 277 cases (1986-1987). *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 198, n. 11, p. 1969-1971, June 1991.
- MORENO, G., GIORGI, W., LOPES, C.A.M. Resistência a drogas em *Salmonella* isoladas de animais. *Arquivos do Instituto de Biologia*, v.40, p.30-43, 1973.
- MYERS, I.L., FIREHAMMER, B.D., BORDER, M.M. et al. Prevalence of enteric pathogens in the feces of healthy beef calves. *American Journal Veterinary Research*, v. 45, n. 08, p. 1544-1548, Aug. 1984.
- NOURI, M. & TORUGHÍ, R. Asymptomatic cryptosporidiosis in cattle and humans in Iran. *The Veterinary Record*, v. 128, n. 15, p. 358-359, Apr. 1991.
- OGASSAWARA, S., CASTRO, J.M., KASAI, N. et al. *Cryptosporidium* tipo *C.muris* em bovinos do Estado de São Paulo. In: SEMINARIO BRASILEIRO DE



- PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 6, 1989, Bajé. Anais...
Bajé, 1989, p.123.
- ONGERTH, J.E. & STIBBS, H.H. Prevalence of *Cryptosporidium* infection in dairy calves in western Washington. *American Journal Veterinary Research*, v.50, n.07, p.1067-1070, July 1989.
- ORTOLANI, E.L. Padronização da técnica de Ziehl-Neelsen para pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium*. Estudo de alguns aspectos epidemiológicos de criptosporidiose em bezerros de rebanhos leiteiros no Estado de São Paulo. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, USP, 1988. 85p. (Tese-Doutor em Ciências-Parasitologia).
- OVIEDO, M.T., ARAYA, L.N., HERNANDEZ, F. Agentes bacterianos, parasitários y virales involucrados en la etiología de la diarrea de terneros en Costa Rica, *Ciencias Veterinarias*, v. 09, n. 01, p. 29-34, 1987.
- PANCIEIRA, R.J., THOMASSEN, R.W., GARNER, F.M. Cryptosporidial infection in a calf. *The Veterinary Pathology*, v. 08, n. 05, p. 479-484, 1971. PENHA, A.M. A *Eimeria zuernii* (RIVOLTA, 1878) como causa de coccidiose bovina no Brasil.
- PENHA, A.M. & D'APICE, N. Observações sobre a enterite infectuosa dos bezerros. *Revista da Sociedade Paulista de Medicina Veterinária*, v.06, p.154-160, 1944.
- PINTO, C. Protozoários observados no Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.18, n.01, p.211-302, 1925.
- POHLENZ, J.; MOON, H.W.; CHEVILLE, N.F.; BEMRICK, W.J. Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.172, n.04, p.452-457, 1978.
- POHJOLA, S.; OKSANEM, H.; VEIJALAINEN, P.;

- HENRIKSSON, K. Certain enteropathogens in calves of finnish dairy herds with recurrent outbreaks of diarrhea. *Preventive Veterinary Medicine*, v.3, p.547-558, 1986.
- RANGEL FILHO, F.B. & LIMA, J.G.P. Rotavirose diarréica em bezerros tipo leiteiro no Estado do Espírito Santo, Brasil. 1. Estudos de imunofluorescência. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.09, n.02, p.35-37, 1987.
- REYNOLDS, D.J., MORGAN, J.H., CHANTER, N. et al. Microbiology of calf diarrhea in southern Britain. *The Veterinary Record*, v. 119, n. 02, p. 34-39, July 1986.
- RIBEIRO, M.F.B. , PATARROYO, J.H.S. , BELEM, P.A.D. et al . Hipogamaglobulinemia em bezerros. *Arquivos de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.35, n.04, p.537-546, 1983.
- RIBEIRO, O.C. & SILVA, J.A.H. Isolamento e identificação de bactérias entéricas em bezerros na MRH Premonite Diamantina- Bahia .In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 19, Camboriú , 1982, *Anais...*, Camboriú, 1982.p.40.
- RYCKE, J., BERNARD, S. LAPORTE, J. et al. Prevalence of various enteropathogens in the feces of diarrheic and healthy calves. *Annales de Recherches Vétérinaires*, v.17, n.02, p.159-168, 1986.
- SANFORD, S.E. & JOSEPHSON, G.K.A. Bovine cryptosporidiosis: clinical and pathological findings in forty-two scouring neonatal calves. *The Canadian Veterinary Journal*, v. 23, n. 12, p. 343-347, Dec. 1982.
- SIEBERT, S. & GRUNDER, H.D. [Epidemiological studies of cryptosporidiosis in calves]. *Tierärztliche Umschau*, v. 46, n. 04, p. 202-204, Apr. 1991.
- SNEDOCOR, G.W. & COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. Ames: Iowa State University, 1967. 593p.



SNODGRASS, D.R., TERZOLO, H.R., SHEWOOD, D. et al. Aetiology of diarrhoea in young calves. *The Veterinary Record*, v. 119, n. 02, p. 31-34, July 1986.

SOBIEH, M., TACAL, J.V., WILCKE, B.W. et al. Investigation of cryptosporidial infection in calves in San Bernadino Country, California. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 191, n. 07, p. 816-818, 1987.

SPELLMANN, S.K., ECKERT, J., MERK, W. et al. [Prevalence of *Cryptosporidium* in calves in Switzerland]. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, v. 128, n. 03, p. 111-118, Mar. 1986.

TORRES, S. & RAMOS, I. Duas espécies de eimerias dos bovinos. *Boletim de Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 09, p. 251-259, 1939.

TOWNSEND, K.G.; LANCE, D.M. Cryptosporidiosis in calves. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 35, n. , p. 216-217, 1988.

TZIPORI, S.; SMITH, M.; HALPIN, C.; ANGUS, K.W.; SHERWOOD, D.; CAMPBELL, I. Experimental cryptosporidiosis in calves: clinical manifestations and pathological findings. *The Veterinary Record*, v. 112, n. , p. 116-120, 1983.

VIANA, F.C., CRUZ, F.E.R., LAENDER, F.C. et al. Diagnostico de situação de produção bovina de leite do município de Sete Lagoas-M.G. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 39, n. 05, p. 699-717, 1987.

VILLACORTA, I., ARES-MAZAS, E., LORENZO, M. J. *Cryptosporidium parvum* in cattle, sheep and pigs in Galicia (N.W. Spain). *Veterinary Parasitology*, v. 38, n. , p. 249-252, 1991.

WILLSON, P.J. & ACRES, S.D. A comparison of dichromate solution floatation and fecal smears for diagnosis

of criptosporidiosis in calves. *Canadian Veterinary Journal*, v.23, n. 3p. 240-246, Aug. 1982.

ZAJICEK, D., DVOROCKOVA, A., HAISL, K. [The prevalence of the coccidia of the genus *Cryptosporidium* (Cryptosporidiidae) in calves with diarrhoeal]. *Veterinarni Medicina*, v. 31, n. 04, p. 201-208, 1986.



UFMG - ESCOLA DE VETERINARIA - BIBLIOTECA
Doação de Colégio dos Anus de Pós -
Grad. da EV-UFMG 2700,00
Data 08/11/93