

# ***Cryptosporidium* spp. em cães domiciliados da cidade de Lages, SC**

*Cryptosporidium* spp. in domiciled dogs of the city of Lages, SC

**Anderson Barbosa de Moura<sup>1</sup>, Everton Borba Teixeira<sup>2</sup>, Antonio Pereira de Souza<sup>1</sup>, Amélia Aparecida Sartor<sup>1</sup>, Valdomiro Bellato<sup>1</sup>, Fernanda Magalhães Stalliviere<sup>3</sup>**

Recebido em 26/02/2009; aprovado em 23/09/2009.

## **RESUMO**

Este trabalho foi conduzido com os objetivos de detectar a ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de cães, determinar a prevalência pontual da infecção e avaliar a influência de fatores de risco para criptosporidiose canina. Foram colhidas fezes de 200 cães, domiciliados da cidade de Lages, SC. De cada amostra fecal, dois esfregaços foram realizados e submetidos à técnica modificada de coloração de Ziehl-Neelsen. As amostras também foram submetidas a centrífugo-flutuação em solução de Sheather. Microscopia e micrometria foram utilizadas para a visualização e identificação dos oocistos. A análise estatística foi realizada pelo teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para observar relação entre positividade e fatores de risco. Em oito (4%) das amostras avaliadas, foi verificada a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp., pela técnica de Ziehl-Neelsen. Destas, três também foram positivas na técnica de centrífugo-flutuação. Animais alimentados com dieta caseira e aqueles mantidos em ambiente com grama e/ou terra apresentaram maior positividade. Os resultados encontrados indicam que o cão, pelo seu estreito convívio com o ser humano, pode também representar uma fonte de infecção de criptosporidiose canina, considerada uma zoonose recorrente pela Organização Mundial da Saúde.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cryptosporidium* spp., cães, Ziehl Neelsen, centrífugo-flutuação.

## **SUMMARY**

This work was carried out aiming to detect oocysts of *Cryptosporidium* spp. occurrence in fecal samples of dogs, to determine the point prevalence of infection and to evaluate the influence of risk factors for canine cryptosporidiosis. Fecal samples of 200 domiciled dogs were collected in the city of Lages, SC, Brazil. From each fecal sample, two smears were made and submitted to the modified technique of Ziehl-Neelsen stain. The samples were also submitted to centrifugal-flotation with Sheather's solution. Microscopy and micrometry were used in order to view and identify oocysts. Statistical analysis was performed by chi-square test ( $\chi^2$ ) to observe the relationship between positive animals and risk factors. Eight (4%) of the evaluated samples had the presence of *Cryptosporidium* spp. oocysts on the Ziehl-Neelsen technique. Three of them were also positive by the method of centrifugal-flotation. Animals fed with homely diet and maintained on environment with grass and/or soil showed higher positivity. The results indicate that dogs, due to their close interaction with humans, can also represent a source of infection of canine cryptosporidiosis, considered a recurrent zoonose disease by the World Health Organization.

**KEY WORDS:** *Cryptosporidium* spp., dogs, Ziehl Neelsen, centrifugal-flotation.

<sup>1</sup> Professor do Departamento de Medicina Veterinária - Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) - Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) - Av. Luís de Camões, 2090 - CEP 88520-000 - Lages - SC. Autor para correspondência. Email: a2abm@cav.udesc.br.

<sup>2</sup> Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária - CAV/UDESC, Bolsista de Iniciação Científica do PROBIC.

<sup>3</sup> Mestre em Ciências Veterinárias - CAV/UDESC.

## INTRODUÇÃO

Cães infectados com *Cryptosporidium* spp. podem contaminar o meio, tornando o solo, a água (tanto potável como aquela utilizada na irrigação e também de recreação) e até moluscos comestíveis, fontes de infecção para o ser humano.

Os primeiros casos de criptosporidiose em humanos foram relatados por Meisel et al. (1976) e Nime et al. (1976). Após estas descrições iniciais, poucos foram os diagnósticos relatados até a doença ser relacionada como causa de morte em pacientes portadores de HIV/Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Desde então, a atenção à criptosporidiose tem aumentado.

Entre os coccídios, *Cryptosporidium* spp. apresenta um dos menores oocistos, o que dificulta seu diagnóstico preciso por meio das técnicas coproparasitológicas usuais. Estes são esféricos ou ovóides e medem 7,4 x 5,6µm no *C. muris* e 5,0 x 4,5µm no *C. parvum*, as espécies mais importantes em mamíferos (FAYER e UNGAR, 1986).

Inicialmente a infecção em cães pelo *Cryptosporidium* spp. foi atribuída ao *C. parvum*. Entretanto, estudos posteriores de transmissão cruzada evidenciaram que a infecção em cães é causada pelo *C. parvum* genótipo cão. Com a introdução das modernas ferramentas da biologia molecular (PCR e PCR-RFLP = Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição), Fayer et al. (2001) descreveram e propuseram uma nova espécie infectando cães, o *C. canis* que pode, inclusive, apresentar variabilidade genética (SATO et al., 2006). Por meio da PCR, Abe et al. (2002) verificaram a ocorrência de *C. parvum* genótipo cão, em um cachorro, no Japão. Entretanto, a maioria das infecções relatadas em cães são identificadas somente pelo gênero, uma vez que nem sempre a PCR ou outra ferramenta molecular estão disponíveis para uma identificação específica.

Segundo Thompson et al. (2008), cães não representam aumento de risco para criptosporidiose em seres humanos. Entretanto, infecções humanas com *C. canis* (FAYER et al., 2001; LINDSAY e ZAJAC, 2004) e *C. parvum* genótipo cão (PIENIAZEK et al., 1999; PEDRAZA DIAZ et al., 2001), tem sido observadas. Robertson et al. (2000)

verificaram que o cão pode representar uma importante fonte de infecção de *Cryptosporidium* spp. para o ser humano e Xiao et al. (2007), no Peru, identificaram um possível elo de transmissão entre cão e crianças.

Os sinais clínicos da criptosporidiose em cães variam desde uma infecção assintomática até a ocorrência de diarreia crônica ou intermitente (GREENE et al., 1990; RIGGS, 1990). Síndrome da má absorção atribuída à infecção por *Cryptosporidium* spp. foi registrada por Greene et al. (1990). Associação com o vírus da cinomose foi observada por Aydn et al. (2004). Gonzales et al. (2003), observaram atrofia mediana das vilosidades do jejuno do animal, com achatamento e fusão das microvilosidades até seu total desaparecimento. Criptas intestinais edemaciadas e apresentando alterações degenerativas também foram observadas pelos autores. Infiltrado celular da lâmina própria com linfócitos e plasmócitos também pode ocorrer (JONES et al., 2000).

Gennari et al. (1999), na cidade de São Paulo, observaram 2,83% de animais infectados. Lindsay e Zajac (2004) informam que até 44,8% dos cães podem ser portadores da infecção por *Cryptosporidium* spp. Na cidade de Lages, Marques et al. (2005) encontraram 10% (10/100) dos cães avaliados eliminando oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Desta forma, torna-se importante o conhecimento do "status" da infecção criptosporidiana em cães e a influência de determinadas variáveis nesta ocorrência como uma medida de saúde pública, uma vez que o índice de infecção nesta espécie animal poderá contribuir para os estudos epidemiológicos da criptosporidiose na cidade de Lages.

## MATERIAL E MÉTODOS

Entre agosto de 2007 e julho de 2008 foram colhidas amostras fecais (n=200), de forma aleatória, de cães domiciliados da cidade de Lages em 10 diferentes bairros da cidade (cinco localizados na região central e cinco na região periférica) que, devidamente acondicionadas e identificadas, foram remetidas sob refrigeração ao Laboratório de Doenças Parasitárias e Parasitologia do CAV/

UDESC.

As amostras foram homogeneizadas, liquefeitas em solução salina (0,85%) e esfregados com um grama de fezes (dois por amostra). Estes foram fixados em metanol absoluto e submetidos à técnica modificada de coloração de Ziehl-Neelsen, conforme descrito por Ortolani (2000). As amostras também foram submetidas à técnica de centrífugo-flutuação com solução de Sheather, conforme Hoffmann (1987), seguida de micrometria.

Dados referentes à raça, idade, sexo, nutrição e sanidade animal foram obtidos por meio de questionário aplicado aos proprietários. A análise estatística foi realizada por meio do teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ), com nível de significância de 5%, para verificar correlação entre positividade e as variáveis analisadas.

Os resultados obtidos foram tabulados, analisados e discutidos quanto às implicações de caráter zoonótico e de saúde pública.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras submetidas à técnica de coloração de Ziehl-Neelsen, em oito (4%) foi verificada a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. Destas, três amostras também foram positivas pela técnica de centrífugo-flutuação (1,5%). A prevalência de *Cryptosporidium* spp. foi baixa, estando de acordo com os resultados de estudos anteriores em populações caninas no Brasil e em outros países.

Gennari et al. (1999) demonstraram, no estado de São Paulo, uma prevalência de 2,8% de *Cryptosporidium* spp. na detecção dos oocistos em fezes de cães, enquanto o presente trabalho revelou 1,5% dos caninos da cidade de Lages (SC) com oocistos nas fezes, de acordo com a mesma técnica (Centrífugo-flutuação).

Huber et al. (2004), comparando as técnicas de detecção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. encontraram positividade em 2,4% das amostras fecais dos cães submetidas à técnica de centrífugo-flutuação e Figueiredo et al. (2004), nas cidades de Lavras e Viçosa (MG), observaram 1,85% dos cães excretando oocistos de *C. parvum* utilizando um Kit de ELISA.

Huber et al. (2005), na cidade do Rio de Janeiro (RJ), e Ederli et al. (2005), na cidade de Campos dos Goytacazes (RJ) verificaram que 2,41% e 40% dos cães avaliados eliminaram oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes. Lallo e Bondan (2006), estudando prevalência de *Cryptosporidium* spp. em cães por meio da técnica de Ziehl-Neelsen para detecção dos oocistos, observaram 8,8% dos animais como portadores do parasita, valor superior ao aqui encontrado.

Labruna et al. (2006) em cães da cidade de Monte Negro (RO) detectaram 2,1% dos animais parasitados por *Cryptosporidium* spp. Mundin et al. (2007), em Uberlândia (MG), encontraram 1,4% dos animais positivos para a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes.

A infecção por *Cryptosporidium* spp. em cães, a despeito das diferentes técnicas diagnósticas empregadas, varia desde 0,6% (BATCHELOR et al., 2008) até 44,8% (LINDSAY e ZAJAC, 2004). No presente trabalho o índice de infecção encontrado entre os cães de Lages ficou em 4%, valor próximo a maioria dos levantamentos registrados na literatura científica, que normalmente não ultrapassa os dois dígitos. O presente estudo complementa as observações anteriormente realizadas em Lages por Marques et al. (2005) que encontraram 10% dos cães examinados positivos para *Cryptosporidium* spp. Um índice duas vezes e meia superior, possivelmente porque alguns dos cães deste levantamento convivem com outras espécies como bovinos, ovinos e suínos. Entretanto, mesmo os valores relativamente baixos de prevalência encontrados no presente trabalho revelam a importância do cão na cadeia zoonótica da criptosporidiose. O grande número de genótipos do *C. parvum* (SMITH et al., 2007) favorece a ocorrência de transmissão deste protozoário para o ser humano.

A análise estatística revelou que animais mantidos em ambiente com terra/grama ( $P=0,035$ ) e aqueles alimentados com dieta caseira ( $P=0,009$ ) apresentaram maior positividade (Tabela 1). Nenhuma referência na literatura científica aborda a influência destas variáveis na incidência/prevalência de criptosporidiose canina. Animais mantidos em ambiente com piso composto por terra e/ou grama estão mais expostos à infecção uma vez que este tipo

Tabela 1- Resultados da pesquisa de *Cryptosporidium* spp. (Ziehl-Neelsen e Centrífugo-flutuação) em amostras fecais de cães domiciliados em Lages, SC, 2007 (por variável analisada e total).

Variável		Animais		Positivos <sup>1</sup>		Positivos <sup>2</sup>		P
		n	%	n	%	n	%	
Raça	SRD	96	48	5	5,2	5	62,5	0,4
	RD	104	52	3	2,9	3	37,5	
Sexo	Macho	97	48,5	3	3,1	3	37,5	0,175
	Fêmea	103	51,5	5	4,9	5	62,5	
Idade	0 a 12 M	42	21	1	2,4	1	12,5	0,821
	13 ou + M	158	79	7	4,4	7	87,5	
Dieta	Ração	78	39	3	3,8	3	37,5	0,009
	Caseira	29	14,5	4	13,8	4	50	
	Mista	93	46,5	1	1,1	1	12,5	
Ambiente	Piso total	41	20,5	3	7,3	3	37,5	0,035
	Grama/Terra	159	79,5	5	3,1	5	62,5	
Contato animais	Sim	62	31	3	4,8	3	37,5	0,685
	Não	138	69	5	3,6	5	62,5	
Total		200	100	8	4	8	100	

Positivos<sup>1</sup>= Relação entre o número total de animais positivos por variável e o número total de animais dentre cada variável.

Positivos<sup>2</sup>= Relação entre o total de animais positivos dentre cada variável e o número total de animais positivos.

SRD = Animais sem raça definida

RD = Animais com raça definida

P: Nível descritivo do teste de  $\chi^2$

de ambiente favorece a viabilidade dos oocistos no meio. Dos cães positivos, 62,5% são mantidos em ambiente com terra/grama. Com relação a dieta, 62,5% dos animais infectados recebem dieta caseira total ou parcialmente. Dietas caseiras em geral são mais suscetíveis a contaminação ambiental, o que poderia explicar a associação positiva observada no presente estudo.

O reduzido número de amostras positivas não permitiu estabelecer variação na sensibilidade das técnicas empregadas, embora tenha ocorrido tendência de um melhor desempenho da técnica de Ziehl-Neelsen, corroborando, desta forma, os resultados encontrados por diversos autores (ORTALANI, 2000; RIGO e FRANCO, 2002).

## CONCLUSÕES

A ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em cães na cidade de Lages, SC foi de 4%, com os animais mantidos em ambientes com terra/grama. Aqueles que recebem dieta caseira apresentaram maior positividade.

O cão, pelo seu estreito convívio com o ser humano, pode também representar uma fonte de infecção de criptosporidiose, considerada atualmente como uma zoonose reemergente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, N.; KIMATA, I.; ISEKI, M. Identification of genotypes of *Cryptosporidium parvum* isolates from a patient and a dog in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tóquio, v. 64, n. 2, p.165-168, 2002.
- AYDN, Y. et al. Intestinal cryptosporidiosis associated with distemper in a dog. **Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, Ankara, v. 51, n. 3, p. 233-235, 2004.
- BATCHELOR, D. J. et al. Detection of endoparasites with zoonotic potential in dogs with gastrointestinal disease in the UK. **Transboundary and Emerging Diseases**, Winnipeg, v. 55, n. 2, p. 99-104, 2008.
- EDERLI, B. B.; RODRIGUES, M. F. G.; CARVALHO, C. B. DE. Oocistos do gênero *Cryptosporidium* em cães domiciliados na cidade de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, p. 129-131, 2005.
- FAYER, R.; UNGAR, B. L. P. *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. **Microbiological Reviews**, v. 50, n. 4, p. 458-483, 1986.
- FAYER, R. et al. *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. **Journal Parasitology**, Winston-Salem, v. 87, n. 6, p. 1415-1422, 2001.
- FIGUEIREDO, H. C. P. et al. Excreção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em cães saudáveis das cidades de Lavras e Viçosa, Estado de Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.5, p.1625-1627, 2004.
- GENNARI, S. M. et al. Occurrence of protozoa and helminths in faecal samples of dogs and cats from São Paulo city. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 36, n.1/3, p. 87-91, 1999.
- GONZALEZ, B. O.; LLANES, H.; DOMINGUEZ, C. Ultrastructural report of *Cryptosporidium* sp. in dog. **Revista Salud Animal**, Havana, v. 25, n. 1, p. 56-58, 2003.
- GREENE, C. E.; JACOBS, G. J.; PRICKETT, D. Intestinal malabsorption and cryptosporidiosis in an adult dog. **Journal American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 197, n. 3, p. 365-367, 1990.
- HOFFMANN, R. P. **Diagnóstico de parasitismo veterinário**. Porto Alegre: Sulina, 1987. 156 p.
- HUBER, F.; BOMFIM, T. C.; GOMES, R. S. Comparação da eficiência da coloração pelo método da safranina a quente e da técnica de centrífugo-flutuação na detecção de oocistos de *Cryptosporidium* em amostras fecais de animais domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p. 81-84, 2004.
- HUBER, F.; BOMFIM, T. C.; GOMES, R. S. Comparison between natural infection by *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. in dogs in two living situations in the West Zone of the municipality of Rio de Janeiro. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 130, n. 1-2, p. 69-72, 2005.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6.ed. Barueri: Manole, 2000.
- LABRUNA, M. B. et al. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do Município de Monte Negro, Rondônia. **Arquivos do Instituto Biológico São Paulo**, São Paulo, v. 73, n. 2, p. 183-193, 2006.
- LALLO, A. M.; BONDAN, E. F. Prevalence of *Cryptosporidium* sp. in institutionalized dogs in the city of São Paulo, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 120-125, 2006.
- LINDSAY, D. S.; ZAJAC, A. M. *Cryptosporidium* infections in cats and dogs. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 26, n. 11, p. 864-874, 2004.
- MARQUES, S. M. T.; QUADROS, R. M.; AMENDOEIRA, C. et al. *Cryptosporidium* sp. em quatro espécies domésticas em Lages, Santa Catarina. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 34, Suplemento Especial, 2005.
- MEISEL, J. L. et al. Overwhelming watery diarrhea

- associated with *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. **Gastroenterology**, Amsterdam, v. 70, p. 1156-1160, 1976.
- MUNDIM, M. J. et al. Prevalence of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in dogs from different living conditions in Uberlândia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 144, n. 3-4, p. 356-359, 2007.
- NIME, F. A. et al. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. **Gastroenterology**, Amsterdam, v. 70, p. 592-598, 1976.
- ORTOLANI, E. L. Standardization of the modified Ziehl-Neelsen technique to stain oocysts of *Cryptosporidium* sp. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 9, n.1, p. 29-31, 2000.
- PEDRAZA-DIAZ, S. et al. Unusual *Cryptosporidium* species recovered from human faeces: first description of *Cryptosporidium felis* and *Cryptosporidium* 'dog type' from patients in England. **Journal of Medical Microbiology**, Reading, v. 50, n. 3, p. 293-296, 2001.
- PIENIAZEK, N. J. et al. New *Cryptosporidium* genotypes in HIV-infected persons. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 5, n. 3, p. 444-449, 1999.
- RIGGS, M. W. Cryptosporidiosis in cats, dogs, ferrets, raccoons, opossums, rabbits, and non-human primates. In: DUBEY, J. P. **Cryptosporidiosis of man and animals**. Boca Raton: CRC, 1990. cap. 2, p. 113-123.
- RIGO, C. R.; FRANCO, R. M. B. Comparação entre os métodos de Ziehl-Neelsen modificado e Acid Fast Trichrome para a pesquisa fecal de *Cryptosporidium parvum* e *Isospora belli*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 35, n. 3, p. 209-214, 2002.
- ROBERTSON, I. D. et al. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. **International Journal for Parasitology**, Amsterdam, v. 30, p. 1369-1377, 2000.
- SATOH, M. et al. Characterization of *Cryptosporidium canis* isolated in Japan. **Parasitology Research**, Düsseldorf, v. 99, n. 6, p. 746-748, 2006.
- SMITH, H. V. et al. *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 149, n. 1-2, 29-40, 2007.
- THOMPSON, R. C. A.; PALMER, C. S.; O'HANDLEY, R. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. **Veterinary Journal**, Amsterdam, v. 177, n. 1, p. 18-25, 2008.
- XIAO, L. H. et al. Possible transmission of *Cryptosporidium canis* among children and a dog in a household. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 45, n. 6, p. 2014-2016, 2007.