

Prevalência de *Cryptosporidium* spp. e *Cryptosporidium parvum* em bovinos no Estado da Paraíba, Brasil

João Victor Inácio dos Santos¹ (IFPB, Campus Sousa), Jordania Oliveira Silva² (IFPB, Campus Sousa), Victor Hugo Alves de Sousa Formiga³ (IFPB, Campus Sousa), Janielton Albuquerque Lima⁴ (IFPB, Campus Sousa), Thais Ferreira Feitosa⁵ (IFPB, Campus Sousa), Vinícius Longo Ribeiro Vilela⁶ (IFPB, Campus Sousa).

E-mails: jivsantos987@gmail.com,¹ oliveira.jordania@academico.ifpb.edu.br,² victorallves.96@gmail.com,³ janieton.albuquerque@academico.ifpb.edu.br,⁴ thais.feitosa@ifpb.edu.br,⁵ vinicius.vilela@ifpb.edu.br.⁶

Área de conhecimento: 5.05.02.00-0 Medicina Veterinária Preventiva

Palavras-chave: criptosporidiose; diagnóstico; protozoário; zoonose.

1. Introdução

Exercendo um papel significativo no desenvolvimento econômico do país, a bovinocultura leiteira evoluiu continuamente nas últimas décadas, resultando no crescimento incessante da produção (MAPA, 2018). De acordo com o Censo Agropecuário de 2022, o efetivo bovino brasileiro corresponde a 234.352.649 cabeças, com um crescimento 20.543.204 de cabeças, quando com parado aos números de 2018 (IBGE, 2022). Apesar de expressiva, diversos problemas assolam essa cadeia produtiva, a exemplo das enfermidades parasitárias, doenças de alta frequência que acarretam sérios danos à produção de leite (Ribeiro et al., 2011).

Dentre as parasitoses que acometem bovinos, a criptosporidiose tem destaque. É considerada uma enfermidade de ocorrência mundial, causada por protozoários do gênero *Cryptosporidium*, que também habitam o trato gastrointestinal de diversos hospedeiros (mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes), inclusive o homem (Rieux et al. 2013). Esses parasitas entéricos afetam tanto indivíduos imunocompetentes como imunocomprometidos e são reconhecidos como um importante agente etiológico da diarreia (Ryan et al. 2014). Em bovinos, as infecções estão relacionadas a fatores como neonatalidade, apresentando-se como gastroenterite em bezerros, comprometimento imunológico, condições precárias de manejo e a linhagem animal, onde as maiores prevalências de *Cryptosporidium* spp. são diagnosticadas em animais taurinos (Wegayehu et al., 2016). *Cryptosporidium parvum* é a única espécie conhecida por causar doença clínica em bezerros naturalmente infectados, além de apresentar alto potencial zoonótico (Thomson et al., 2017) Em humanos, grande parte dos casos de criptosporidiose é causada por *C. parvum*, em alguns casos também a infecção pela espécie humana adaptada *Cryptosporidium hominis*, espécies essas que juntas chegam a ser responsáveis por mais de 90% dos casos humanos em todo o mundo (Chalmers et al., 2011).

Neste cenário, torna-se necessária a realização de pesquisas voltadas à detecção, prevalência e fatores de risco associados à criptosporidiose em sistemas produtivos do Semiárido Brasileiro. Tais estudos são fundamentais para subsidiar estratégias de controle mais eficazes e a adoção de boas práticas de manejo sanitário, contribuindo para a saúde única e o fortalecimento da pecuária familiar nordestina. Devido a facilidade de transmissão, capacidade zoonótica e a diversidade de subtipos entre regiões, tornam-se extremamente relevantes os estudos sobre o gênero *Cryptosporidium*, sendo possível compreender as infecções entéricas entre animais, atuando como possível agente causador das infecções em humanos. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo determinar a prevalência de *Cryptosporidium* spp. e *C. parvum* encontrados em bovinos no Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil.

2. Materiais e métodos

2.1 Área do estudo

As coletas foram realizadas em fazendas criadoras de bovinos no Estado da Paraíba. As concentrações de oocistos foram realizadas no Laboratório de Parasitologia Veterinária (LPV) e as extrações de DNA e análises moleculares no Laboratório de Biologia Molecular (LabMol) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba (IFPB), campus Sousa.

2.2 Delineamento amostral

Para a determinação do número mínimo de amostras a serem coletadas, foi utilizado o cálculo para amostragem aleatória simples, de acordo com Thrusfield (2007):

$$n = (Z^2 \cdot P \cdot (1-P)) / d^2$$

Onde:

n: número de amostras; Z: valor de distribuição normal para o nível de confiança de 95% (1,96); P: Prevalência esperada de 50%; d: Erro amostral de 10%.

Com isso, o número mínimo de amostras a serem coletadas era de 96. Entretanto, foram coletadas 120 amostras de fezes de bezerros de até 30 dias de vida, em 39 propriedades de 12 cidades do Estado da Paraíba. Para aumentar a distribuição espacial amostral, amostras de no máximo 5 bezerros foram coletadas por propriedade, visitando apenas propriedades cuja atividade pecuária principal seja a produção leiteira.

2.3 Colheita e processamento das amostras

Amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais, acondicionadas a vácuo, individualmente, em sacos plásticos tipo zip lock devidamente identificados. As amostras foram resfriadas e transportadas em isopor com gelo até o processamento laboratorial.

As amostras fecais foram processadas de acordo com Wells et al. (2016), em duas etapas. Etapa 1: o material fecal foi diluído em uma solução ácida, seguida por uma flutuação em solução salina e repetidas centrifugações para concentrar os oocistos em pellet; Etapa 2: as amostras foram submetidas a ciclos de congelamento/descongelamento de 10x em nitrogênio líquido antes do DNA ser extraído usando um protocolo de kit de tecido Macherey-Nagal, modificado (NZ740952250, Macherey-Nagel, Duren, Alemanha).

2.4 PCR 18S nssm

A positividade das amostras foi determinada por meio da técnica de nested PCR multiplex espécie-específica, que amplifica a região 18S do rDNA e permite a identificação da espécie bovina comum, *C. parvum*. Inicialmente, foi realizada uma PCR primária utilizando os primers AL1691 e AL1687. Em seguida uma nested PCR: uma reação para o gênero *Cryptosporidium* (com os primers AL1598 e AL3032) e outra específica para a espécie *C. parvum* (com os primers CphF e AL3032). Todas as amostras de DNA foram analisadas em duplicata, com um controle negativo, um controle de extração de DNA e um controle positivo. As condições de ciclagem foram de 3 minutos a 94°C, seguidos de 35 ciclos de 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 60°C e 1 minuto a 72°C. A extensão final foi de 7 minutos a 72°C (Thomson et al., 2016).

Os produtos da nested PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corado com GelRed™ (Biotium) e observados em um transiluminador. Foram obtidos fragmentos de 840 pb para o gênero *Cryptosporidium* e de 305 pb para a espécie *C. parvum*, confirmando a positividade das amostras (Thomson et al., 2016).

3. Resultados e discussão

A taxa de positividade observada neste estudo foi de 15% (18/120) para *Cryptosporidium* spp., evidenciando a significativa infecção por esse protozoário na população analisada. Silva Junior et al. (2011) relataram uma taxa superior, de 21%, em um total de 356 amostras. Esse valor elevado pode estar relacionado ao sistema de criação adotado, já que animais mantidos em regime de confinamento tendem a apresentar maiores taxas de infecção. De forma semelhante, Feitosa et al. (2013) descreveram pela primeira vez a presença de *Cryptosporidium* spp. em bezerros no Nordeste do Brasil, com uma taxa de positividade de 16% para o gênero, valor próximo ao observado no presente estudo.

A taxa de positividade para *C. parvum* foi de 5% (6/120), superior à observada por Cardoso et al. (2008), que relataram 1,4%, e aos achados de Feitosa et al. (2013), que não identificaram animais positivos por meio do teste de imunocromatografia. Esses resultados reforçam a maior sensibilidade e especificidade da PCR empregada neste estudo, especialmente eficaz na detecção de infecções subclínicas. Além disso, foi registrada uma taxa simultânea de 4,2% (5/120) de amostras positivas para o gênero *Cryptosporidium* spp. e espécie *C. parvum*, sendo uma amostra positiva apenas para *C. parvum*. Esses resultados reforçam a eficácia da PCR espécie-específica, especialmente considerando resultados de Katiyar et al. (2023), onde a PCR demonstrou sensibilidade de 87,5% para *C. parvum* e 92,9% para *C. hominis*, com uma especificidade de 100% para ambas as espécies.

Os resultados evidenciam a presença de diferentes espécies do gênero *Cryptosporidium* na população amostral, sendo *C. parvum* uma das espécies identificadas. Sua detecção em 5% (6/120), das amostras é particularmente relevante, considerando o potencial zoonótico dessa espécie, frequentemente associada a casos de criptosporidiose em humanos e em animais jovens, especialmente bezerros (Ryan et al. 2014).

Figura 1 – Prevalência de *Cryptosporidium* spp. e *C. parvum* em amostras de fezes de bovinos.

	Número de amostras	%
<i>Cryptosporidium</i> spp.	18	15
<i>C. parvum</i>	6	5
<i>Cryptosporidium</i> spp. + <i>C. parvum</i>	5	4,2
Total de amostras	120	100

É importante destacar que a faixa etária dos animais avaliados neste estudo, compreendida entre 0 e 30 dias de vida, é semelhante à observada por Vargas Junior et al. (2014), cujo foco foi em animais entre 30 e 45 dias de idade. De maneira geral, os estudos previamente citados também apontam maior frequência de resultados positivos em animais com até 60 dias de vida. Esse padrão etário recorrente pode estar associado à imaturidade do sistema imunológico nos primeiros dias de vida, tornando os neonatos mais suscetíveis a infecções.

5. Considerações finais

Os resultados deste estudo evidenciam a prevalência de *Cryptosporidium* spp. e, em especial, a detecção de *C. parvum*, reforçando a importância dessa espécie como agente predominante em infecções em bovinos e como risco zoonótico para os seres humanos. A alta sensibilidade e especificidade da técnica de PCR empregada conferem maior confiabilidade aos achados, demonstrando sua eficácia na detecção de infecções subclínicas.

6. Referências

- CARDOSO, J. M. S.; SILVEIRA, L. F.;1; ARAÚJO1, A. J. U. S.; CARVALHO, J. C.; KANAMURA, H. Y. Ocorrência de *cryptosporidium* spp. em um rebanho bovino leiteiro no município de caçapava, estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 239-242, 2008. DOI: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=397841469051>
- CHALMERS, R.M.; SMITH, R.; ELWIN, K.; CLIFTON-HADLEY F.A.; GILES, M. Epidemiologia da criptosporidiose humana antroponótica e zoonótica na Inglaterra e País de Gales, 2004–2006. **Epidemiol Infect**, v. 139, n. 05, p. 700–712, 2011. DOI: 10.1017/S0950268810001688
- FERREIRA FEITOSA, T.; LONGO RIBEIRO VILELA, V.; RODRIGUES ATHAYDE, A. C. First report of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in calves from northeastern Brazil. **Turkish Journal Of Veterinary and Animal Sciences**, v. 37, p. 743–746, 2013. DOI:10.3906/vet-1301-63
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção de Leite. 2022. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/br>>, Acesso em: 28 mai. 2025.
- KATIYAR, M.; PADUKONE, S.; GULATI.; SINGH, R. A multiplex PCR assay for the detection of *Cryptosporidium* species and simultaneous differentiation of *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum* in clinical stool samples. v. 1, p. 1-20, 2023. **BioRxiv**, DOI: <https://doi.org/10.1101/2023.03.22.533796>
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano Agrícola e Pecuário. Brasília: MAPA/ACS. 2018. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/plano-agricola-epecuario/arquivos-pap/PAP1718.pdf>. Acesso em: 28 mai. 2025.
- RIBEIRO, V. L. S.; AVANCINI. C.; GONÇALVES, K.; TOIGO, E.; VON-POSER, G. Acaricidal activity of *Calea serrata* (Asteraceae) on *Boophilus microplus* and *Rhipicephalus sanguineus*. **Veterinary Parasitology**, v.151, p. 351-354, 2011. DOI: 10.1016/j.vetpar.2007.11.007
- RIEUX, A.; CHARTIER, C.; PORS, I.; DELAFOSSE, A.; PARAUD, C. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from high-excreting young dairy calves in dairy cattle herds in Western France. **Parasitology Research**, v. 112, p. 3423-3431, 2013. DOI: 10.1007/s00436-013-3520-2
- RYAN, U.N.A.; FAYER, R.; XIAO, L. *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. **Parasitology**, v. 141, n. 13, p. 1667-1685, 2014. DOI: 10.1017/S0031182014001085
- SILVA JÚNIOR3, F. A.; CARVALHO, A. H.O.; ROCHA, C. A. H. O. Fatores de risco associados à infecção por *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* em bovinos leiteiros na fase de cria e recria na mesorregião do Campo das Vertentes de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 690-695, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011000800010>
- THOMSON, S.; HAMILTON, C.A.; HOPE, J.C.; KATZER, F.; MABBOTT, N.A.; MORRISON, L.J.; INNES, E.A. Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. **Veterinary Research**, v. 48, p. 1-16, 2017. DOI: 10.1186/s13567-017-0447-0
- THOMSON, S.; INNES, E.A.; JONSSON, N.N.; KATZER, F. A multiplex PCR test to identify four common cattle-adapted *Cryptosporidium* species. **Parasitology Open**, v. 2, p. e5, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1017/pao.2016.2>
- THRUSFIELD, M. *Veterinary Epidemiology*. Cambridge: **Blackwell Science**. 2007. 2v, 479p. <https://doi.org/10.1016/B0-72-169777-1/50023-8>
- VARGAS JUNIOR, S. F.; PEREIRA, C. M.; ADRIEN, M. L.; FISS, L.; MOLARINHO, K. R.; SOARES, M. P.; SCHILD, A. L.; SALLIS, E. S. V. Surto de criptosporidiose em bezerros no Sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 34, n. 8, p. 749-752, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000800007>
- WEGAYEHU, T.; KARIM, R.M.; ANBERBER, M.; ADAMU, H.; ERKO, B.; ZHANG, L.; TILAHUN, G. Prevalence and genetic characterization of *Cryptosporidium* species in dairy calves in central Ethiopia. **PLoS One**, v. 11, n. 5, p. e0154647, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0154647
- WELLS, B.; THOMSON, S.; INNES, E.; KATZER, F. Development of a sensitive method to extract *Cryptosporidium* oocysts from adult cattle faecal samples. **Veterinary Parasitology**, v. 227, n. 1, p. 26–29, 2016. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.07.018