

# FREQUÊNCIA DE *Giardia duodenalis* E *Cryptosporidium* spp. EM FÊMEAS DA RAÇA HOLANDESA DURANTE A FASE DE RECRIA EM UM REBANHO NO SUL DO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL, DURANTE O OUTONO-INVERNO DE 2008<sup>1</sup>

FABIANA ALVES DEME<sup>2</sup>, MARCOS AURÉLIO LOPES<sup>3</sup>, CAIO AUGUSTO PERAZZA<sup>4</sup>, GLAUBER DOS SANTOS<sup>5</sup>, ANDRÉ HENRIQUE OLIVEIRA DE CARVALHO<sup>2</sup>, ANGELO DIAS BRITO RIBEIRO<sup>4</sup>, MARCOS FERRAZANI PEDROSA<sup>6</sup>, ANTÔNIO MARCOS GUIMARÃES<sup>3</sup>, FÁBIO RAPHAEL PASCOTI BRHUN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pesquisa financiada pela FAPEMIG (FAPEMIG CVZAPQ-2178.5-04/07). Recebido para publicação em 09/11/10. Aceito para publicação em 25/06/11.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Caixa postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil. Bolsista da CAPES. Email: [fabiana.demeu@hotmail.com](mailto:fabiana.demeu@hotmail.com)

<sup>3</sup>Departamento de Medicina Veterinária, UFLA. CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil. Bolsista do CNPq.

<sup>4</sup>Programa de Graduação em Zootecnia, UFLA. Caixa postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil. Bolsista de Iniciação Científica da FAPEMIG.

<sup>5</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFLA. Caixa postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil. Bolsista da CAPES.

<sup>6</sup>Programa de Graduação em Ciências Biológicas do Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS). Rua Padre José Poggel, 506, Centenário.

**RESUMO:** Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a frequência da espécie *Giardia duodenalis* e do gênero *Cryptosporidium* spp. em bezerras leiteiras, de diferentes faixas etárias, durante a recria de um rebanho localizado em Boa Esperança, região Sul de Minas Gerais, Brasil, durante o outono-inverno. Foram analisadas 254 amostras de fezes de 37 fêmeas bovinas, da raça holandesa, com idades entre três e 10 meses, no período de maio a setembro de 2008, coletadas direto da ampola retal, a cada 30 dias. Para pesquisa de cistos ou trofozoítos de *Giardia duodenalis* foi utilizada a técnica de centrífugo-flutuação em solução de sulfato de zinco a 33%; para a detecção de *Cryptosporidium* utilizou-se a técnica de Ziehl-Neelsen modificada. Das 254 amostras analisadas, 37,79% apresentavam-se positivas para cistos e/ou trofozoítos de *Giardia* sp. e 8,93 % para *Cryptosporidium* spp. Na comparação entre faixa etária e positividade para *G. duodenalis* e *Cryptosporidium*, observou-se que para ambos os parasitos a faixa etária entre três e quatro meses é a mais acometida da fase de recria de bovinos. Considerando que o pós-desmame é um ponto crítico na recria, isso indica o potencial patogênico desses parasitos em gado leiteiro no Sul de Minas Gerais.

Palavras-chave: bovinocultura leiteira, endoparasitos, sanidade animal.

## PREVALENCE OF *Giardia duodenalis* AND *Cryptosporidium* spp. IN FEMALES OF THE HOLSTEIN BREED DURING THE POST WEANING PHASE IN THE HERD IN THE SOUTHERN STATE OF MINAS GERAIS DURING THE FALL-WINTER SEASON OF 2008

**ABSTRACT:** This study aimed to evaluate the frequency of the species of *Giardia duodenalis* species and the genus *Cryptosporidium* spp. in dairy calves at different ages during the post-weaning phase in a herd located in Boa Esperança, South of Minas Gerais State, Brazil, during the fall-winter season. It were analyzed 254 samples from 37 cows of Holstein breed, aged between three and 10 months in the period from May to September 2008, collected directly from the rectum every 30 days. To search cysts or trophozoites of *Giardia duodenalis* was used the flotation in zinc sulfate solution to 33% technique, and for detection of *Cryptosporidium* was used the Ziehl-Neelsen modified technique. Of the 254 samples, 37.79% were positive for cysts or trophozoites of *Giardia* and 8.93% for *Cryptosporidium* spp. The comparison of age and positivity to *G. duodenalis* and

*Cryptosporidium*, it was observed that for both parasites, the age between three and four months is the most affected in the post-weaning phase in cattle. Whereas the post-weaning is a critical point in the growing cattle, this would indicate the pathogenic potential for these parasites in dairy cattle in southern Minas Gerais.

Key words: dairy cattle, endoparasites, animal health.

## INTRODUÇÃO

Os protozoários *Giardia* e *Cryptosporidium* são considerados um dos principais parasitos intestinais dos bovinos e do homem. Principalmente se associados a outros agentes infecciosos, causam diarreia e redução do ganho de peso, levando a relevantes perdas econômicas (OLSON *et al.*, 2004)

Infecções por *Giardia* e *Cryptosporidium* são comuns no mundo todo (BECHER *et al.*, 2004). Além disso, são parasitos que apresentam alta ocorrência em propriedades de criação de bovinos leiteiros no Brasil, podendo alcançar 96,3% das fazendas para o *Cryptosporidium* (EDERLI *et al.*, 2004) e 66% das propriedades para a *Giardia duodenalis* (SILVA JUNIOR, 2010). Isso indica a importância epidemiológica e o potencial destes agentes como causadores de perdas produtivas e, conseqüentemente, prejuízos à produção leiteira do país.

*Giardia duodenalis* é um protozoário flagelado, encontrado no intestino delgado de mamíferos, roedores, aves, répteis e anfíbios, pertencente à família dos Hexamitídeos (JOHNSON *et al.*, 1997). Segundo MUNDIM e CURY (2002), morfológicamente apresentam-se sob duas formas: trofozoita (considerada a forma vegetativa e de multiplicação) e forma de cisto (forma resistente e infectante).

*Cryptosporidium* spp., classificados dentro do filo Apicomplexa, parasitam várias espécies de animais, incluindo mamíferos, pássaros, répteis, anfíbios e peixes. Os bovinos podem ser infectados com pelo menos quatro espécies de *Cryptosporidium*: *C. parvum*; *C. andersoni* (LINDSAY *et al.*, 2000); *C. bovis* (FAYER *et al.*, 2007) e *Cryptosporidium* genótipo *deerlike* (FAYER *et al.*, 2006).

A transmissão desses parasitos se dá pela via fecal-oral ou pela ingestão de água e alimentos contaminados (JOHNSON *et al.*, 1997). ROBERTSON *et al.* (1992) afirmaram que pode ser influenciada pelo nível de contaminação ambiental e pela sobrevivência de cisto às

condições do meio; ou ainda pela resistência do oocisto aos métodos usados no tratamento da água, como a cloração, a ozonização e a filtração.

A sanidade na recria de bovinos se apresenta como um ponto crítico importante, pois em função de práticas estressantes associadas a esta fase, como o pós-desmame, os animais se tornam potencialmente mais suscetíveis às infecções parasitárias.

Apesar disso, a frequência de *Giardia* e de *Cryptosporidium*, principalmente nas diferentes faixas etárias, ainda não está bem elucidada (WADE *et al.*, 2000). Assim, esta pesquisa teve como objetivo verificar a frequência da espécie *Giardia duodenalis* e do gênero *Cryptosporidium* spp. em bezerras de diferentes faixas etárias durante a recria pertencentes a um rebanho leiteiro localizado na região Sul do Estado de Minas Gerais, durante o outono-inverno.

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida em um sistema de produção de leite, no município de Boa Esperança, Sul do Estado de Minas Gerais, cujas coordenadas geográficas são: 21°05'24" de latitude; 45°33'57" de longitude; e altitude de 775 metros.

Os animais foram identificados com brinco convencional nas duas orelhas e brinco eletrônico na orelha esquerda (contendo um número específico do *microchip*). Durante todo o período pré e experimental, permaneceram aloçados em três piquetes formados com capim estrela (*Cynodon* sp.), com taxa de lotação média de 6,86 UA/ha, onde receberam silagem de milho "*ad libitum*" e concentrado Purina Milktech 45 Concentrado (2kg/animal/dia), sendo submetidos ao mesmo manejo durante todo o período avaliado. A água fornecida era captada de poço semi-artesiano, e fornecimento por meio de um bebedouro instalado no piquete.

Foram analisadas 254 amostras de fezes de 37 fêmeas bovinas, da raça holandesa, durante a fase de recria, com idades entre três a 10 meses, no período de maio a setembro de 2008. A situação avaliada neste

**Tabela 1. Frequência de *Giardia* sp e *Cryptosporidium* sp em amostras de fezes de fêmeas bovinas da raça holandesa na fase de recria, de acordo com a faixa etária, Sul de Minas Gerais, Brasil, outono/inverno de 2008**

Gênero	Status	Faixa etária (meses)								Total	
		Lote A (3 a 4)		Lote B (5 a 6)		Lote C (7 a 8)		Lote D (9 a 10)			
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Giardia</i> sp	Positivos	42	51,21	28	43,75	15	25	11	22,91	96	37,79
	Negativos	40	48,88	36	56,25	45	75	37	77,08	158	62,20
	Total	82	100	64	100	60	100	48	100	254	100
<i>Cryptosporidium</i> sp	Positivos	12	19,04	4	6,25	2	3,33	3	6,25	21	8,93
	Negativos	51	80,95	60	93,75	58	96,66	45	93,75	214	91,06
	Total	63	100	64	100	60	100	48	100	235	100

N = quantidade de amostras

estudo condiz com o manejo normal da propriedade, pois os animais jovens eram mantidos juntos em piquetes separados dos bovinos já em idade de reprodução. As amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal, a cada 30 dias, identificadas no saco plástico com o número do animal e armazenadas a temperatura de 4°C, para posterior avaliação laboratorial.

Para pesquisa de cistos ou trofozoítos de *Giardia* foi utilizada a técnica de centrífuga-flutuação em solução de sulfato de zinco a 33%, segundo FAUST *et al.* (1938). Para a pesquisa de *Cryptosporidium* utilizou-se a técnica de Ziehl-Neelsen modificada (Henriksen e POHLENS, 1981). Tais exames foram realizados no laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A quantidade de oocistos por amostra foi determinada pela contagem de 25 campos, observados ao microscópio ótico, em objetiva de 100x sob imersão. Considerou-se como amostra negativa a ausência de oocistos após exame de 50 campos da lamínula (XIAO *et al.*, 1993).

Foi feita a distribuição da frequência de positivos em função da idade dos animais. Para isto, os bezerros foram divididos em quatro lotes de acordo com a faixa etária, no início do experimento: lote A (três a quatro meses), lote B (cinco a seis meses), lote C (sete a

oito meses) e lote D (nove a 10 meses), sendo a frequência de positivos avaliada em cada lote.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 254 amostras analisadas, 96 (37,79 %) apresentavam-se positivas para cistos e/ou trofozoítos de *Giardia* spp. e 21 (8,26 %) para oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Em relação aos *Cryptosporidium*, a frequência encontrada no presente estudo está acima do encontrado por WADE *et al.* (2000) em bezerros com menos de seis meses em Nova York, Estados Unidos, que foi de 2,9%. Porém, a maior parte dos autores encontraram frequência maior à encontrada no presente estudo, tais como SILVA-JUNIOR *et al.* (2010), em bezerros leiteiros com idade entre um dia e 12 meses, na Mesorregião Campo das Vertentes, Minas Gerais (21,6%); EDERLI *et al.* (2004), em Campo dos Goytacazes, Rio de Janeiro, ao avaliar bovinos de quatro dias a 12 meses de idade (43,6%); BECHER *et al.* (2004), no oeste da Austrália em bezerros de até três meses de idade (48,1%), NGUYEN *et al.* (2007) em bovinos com mais de três meses de idade no VIETNAM (35,7%); McALLISTER *et al.* (2005) e ENEMARK *et al.* (2002) em bezerros de corte com até dois meses de idade, respectivamente, na Columbia Britânica, Canadá (12,6%), e Dinamarca (8,3%).

Em relação a *Giardia*, McALLISTER *et al.* (2005) encontraram uma prevalência de 35,7% em bezerros com até dois meses, enquanto BECHER *et al.* (2004) e SILVA JUNIOR (2010) verificaram frequências, respectivamente, de 88,9% e 25,6%, de bezerros positivos com até três meses, enquanto WADE *et al.* (2000) encontraram uma frequência de 20,1% em bezerros com até seis meses de idade.

*Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. têm sido encontrados em bovinos de corte e leite em todo o mundo (McALLISTER *et al.*, 2005). Entretanto, presume-se que a prevalência pode variar, devido às condições epidemiológicas, sanitárias, de manejo, clima e delineamento de estudo (WADE *et al.*, 2000). A baixa porcentagem de animais infectados no presente estudo pode ser explicada pelo fato dos animais estarem alocados em piquetes, o que segundo HAMNES *et al.* (2006), reduz a probabilidade de infecção por *G. duodenalis* e *Cryptosporidium* spp., embora Garcia e LIMA (1994) não encontraram efeito significativo de diferentes sistemas de criação na positividade para *Cryptosporidium* spp, em estudo conduzido em Minas Gerais. Além disso, *Cryptosporidium* e *Giardia* são agentes encontrados com maior frequência até o segundo mês de vida (BECHER *et al.*, 2004; SILVA JUNIOR, 2010), o que pode explicar a baixa positividade encontrada neste estudo, pelo fato da pesquisa ter sido realizada com animais mais velhos (três a dez meses de idade), faixa etária em que a ocorrência destes agentes passa a declinar em bovinos (BECHER *et al.*, 2004).

No estudo comparativo realizado entre faixa etária e positividade para *G. duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. verificou-se que os animais do lote A apresentaram maior frequência de positivos, seguido pelo lote B, C, D, no caso da *G. duodenalis*, enquanto que para *Cryptosporidium* spp, a menor ocorrência de animais positivos foi verificada no lote C (Tabela 1).

Esses resultados estão de acordo com os encontrados por outros autores, ao verificarem que bezerros de um a dois meses apresentam maior risco de positividade a *Giardia* em relação aos com menos de três semanas ou mais de dois meses (BECHER *et al.*, 2004), ou na faixa etária entre dois e três meses (Silva Junior, 2010), e indicando que a faixa etária de um a três meses de idade é de maior susceptibilidade de bovinos leiteiros a *Giardiase*, fato que pode estar relacionado ao estresse gerado em função de práticas de manejo geralmente realizadas nesta fase, como o desmame. WADE *et al.* (2000) também verificaram que animais com menos de seis meses de idade apresentam

maior positividade a *Giardia* em relação a animais mais velhos.

Em relação ao *Cryptosporidium*, os autores SILVA JUNIOR (2010), BECHER *et al.* (2004) e NGUYEN *et al.* (2007) verificaram, respectivamente, que bezerros com até um mês, menos de três semanas e com menos de três meses, apresentaram maior risco de positividade em relação a bezerros mais velhos. SILVA JUNIOR (2010) observou, ainda, ao avaliar a frequência de bezerros positivos para *Cryptosporidium* de acordo com a faixa etária, que o pico da frequência de positivos foi encontrado com duas semanas de vida. Apesar de animais com menos de três meses de idade não terem sido avaliados no presente estudo, os resultados encontrados por estes autores, bem como os encontrados neste estudo, indicam que animais mais jovens são os mais susceptíveis ao agente, principalmente os com idade de até três meses, pois tendem a apresentar maior positividade para ao parasito. WADE *et al.* (2000) também observaram que as ocorrências de *Cryptosporidium* spp. é dependente da idade dos animais, sendo os bovinos com maior positividade aqueles com idade inferior a seis meses.

No presente estudo, foi encontrada ocorrência de animais positivos para *Cryptosporidium* maior entre bovinos com idade entre nove e dez meses (lote D) em relação a animais com idade entre sete e oito meses (lote C). É difícil encontrar na literatura explicação para esse fato, uma vez que os animais de todos os lotes foram mantidos sob as mesmas condições e expostos aos mesmos fatores de risco ao longo do estudo. Apesar disso, verifica-se que a quantidade de amostras avaliados no lote D (48) é menor que dos demais lotes (60 a 64), o que pode ter aumentado o erro do estudo, induzindo assim a este resultado contraditório.

## CONCLUSÃO

*Cryptosporidium* spp. e, principalmente, *Giardia duodenalis* são parasitos que ocorrem na fase de recria na criação de bovinos leiteiros, e, no início dessa fase, ou seja, logo pós o desmame, os animais são mais acometidos. Considerando que o pós-desmame é um ponto crítico na recria, isso indica o potencial patogênico e a provável necessidade de controle desses parasitos em gado leiteiro no Sul de Minas Gerais.

Novos trabalhos devem ser realizados, relacionando-se o isolamento do(s) agente(s) à ocorrência de

sintomatologia clínica e desempenho dos bezerros, a fim de se verificar a necessidade de tratamento dessas doenças.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) o apoio recebido para a realização desta pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ECHER, K.A. et al. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. **Veterinary Parasitology**, v.123, n.1-2, p. 1-9. 2004.

EDERLI, B.B. et al. Ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* spp. em bezerros da Microrregião de Campos dos Goytacazes no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Universidade Rural: Série Ciências da Vida**, v.13, n.2, p. 45-48, 2004.

ENEMARK, H.L. et al. *Cryptosporidium andersoni* from a Danish cattle herd: identification and preliminary characterization. **Veterinary Parasitology**, v.107, n.1-2, p.37-49, 2002.

FAUST, E.C. et al. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces I. Preliminary communication. **American Journal of Tropical Medicine**, v.18, n.1, p.169-183, 1938.

FAYER, R. et al. Prevalence of *Cryptosporidium* species and genotypes in mature dairy cattle on farms in eastern United States compared with younger cattle from the same locations. **Veterinary Parasitology**, v.145, n. 3-4, p.260-266, 2007.

FAYER, R. et al. Prevalence of species and genotypes of *Cryptosporidium* found in 1-2-year-old dairy cattle in the eastern United States. **Veterinary Parasitology**, v.135, n.2, p.105-112, 2006.

GARCIA, A.M.; LIMA, J.D. Prevalência de *Cryptosporidium* spp. em rebanhos leiteiros de Pará de Minas (MG) e sua relação com práticas de manejo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.3, n.3, p. 23-28, 1994.

HAMNES, I.S. et al. Prevalence of *Giardia* and

*Cryptosporidium* in dairy calves in three areas of Norway. **Veterinary Parasitology**, v.140, n.3-4, p.204-216, 2006.

HENRIKSEN, S.A.; POHLENZ, J.F.L. Staining of *Cryptosporidia* by a modified Ziehl-Neelsen technique. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.22, n. 3-4, p.594-596, 1981.

JOHNSON, E. et al. The prevalence of shedding of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. based on a single fecal sample collection from each of 91 horses used for backcountry recreation. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.9, n.1, p.56-60, 1997.

LINDSAY, D.S. et al. *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos Taurus*. **Journal Eukariotic Microbiology**, v.47, n.1, p.91-95, 2000.

McALLISTER, T.A. et al. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in beef cows in southern Ontario and in beef calves in southern British Columbia. **Canadian Veterinary Journal**, v.46, n.1, p.47-55, 2005.

MUNDIM, M.J.S., CURY, M.C. Giardiase de cães e gatos. **Cadernos técnicos de Veterinária e Zootecnia**, v.45, n.5, p.7-11, 2002.

NGUYEN, S.T. et al. Prevalence and first genetic identification of *Cryptosporidium* spp. in cattle in central Viet Nam. **Veterinary Parasitology**, v.150, n.4, p.357-361, 2007.

OLSON, M.E. et al. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. **Trends in Parasitology**, v.20, n.4, p.185-191, 2004.

ROBERTSON, L.J. et al. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. **Applied and Environmental Microbiology**, v.58, n.11, p.494-497, 1992.

SILVA JUNIOR, F.A. **Fatores de risco associados à ocorrência de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis* em propriedades de produção de leite na região do Campo das Vertentes de Minas Gerais**. 2010. 121p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

WADE, S.E. et al. Prevalence of *Giardia* spp., *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium muris* (*C. andersoni*) in 109 dairy herds in five counties of southeastern New York. **Veterinary Parasitology**, v.93, n.1, p. 1-11, 2000.