

CRIPTOSPORIDIOSE EXPERIMENTAL EM BEZERROS NEONATOS EM GOIÂNIA-GO

José Roberto Carneiro*, José Divino Lima**, Nicanor Rodrigues***, Flávia Cotrim
Cury****

RESUMO

A caracterização da criptosporidiose experimental foi feita através da avaliação clínica, eliminação de oocistos nas fezes e lesões à necrópsia. Foram inoculados 4 bezerros mestiços zebu x holandês identificados como bezerro 1 (8 dias de idade), 2 (2 dias de idade) 3 (1 dia de idade) e bezerro 4 (1 dia de idade), provenientes da Escola de Veterinária da UFG. Os três primeiros bezerros foram inoculados com uma suspensão de fezes contendo 10^5 oocistos de *C. parvum*. O quarto bezerro foi inoculado com o mesmo volume da suspensão, porém com concentração de oocistos desconhecida. Para caracterizar as alterações histológicas e o desenvolvimento endógeno foram inoculados dois bezerros com 10^5 oocistos de *C. parvum*. Os animais eram mestiços zebu e holandês com um dia de idade. O período patente da infecção foi mais ou menos uniforme para os animais 1, 2 e 3 com eliminação de oocistos nas fezes em torno do oitavo e nono dias e para o bezerro 4 este período foi menor com a eliminação durante quatro dias. As observações microscópicas dos cortes histológicos revelaram que as formas endógenas do *C. parvum*, se encontram distribuídas no Intestino delgado, concentrando-se no íleo na porção distal do terço posterior. A observação microscópica dos fragmentos teciduais da porção posterior do íleo mostrou numerosas formas de *Cryptosporidium parvum*, sobre o pólo superior das células colunares ao longo das vilosidades. Observou-se ainda descamação do revestimento epitelial em vários pontos.

UNITERMOS: *Cryptosporidium parvum*, Criptosporidiose experimental, Bezerros.

* Prof. Titular do Depto. de Parasitologia do IPTSP/UFG

** Bolsista do CNPq.

*** Médico Veterinário IPTSP/UFG

**** Estagiária do Depto. de Parasitologia do IPTSP/UFG

Recebido para publicação em 23/08/95

INTRODUÇÃO

O gênero *Cryptosporidium* foi descrito pela primeira vez por TYZZER (1907), nos Estados Unidos, examinando glândulas pépticas de camundongos e denominando-o de *Cryptosporidium muris*. Uma segunda espécie, o *Cryptosporidium parvum* foi identificada em 1912, pelo mesmo autor, parasitando o intestino delgado de camundongos. São protozoários que medem de 3 a 4µm de diâmetro e se localizam freqüentemente nas bordas das vilosidades intestinais, tendo PEARSON & LOGAN (1983) demonstrado que o parasito se localiza intracelularmente no ápice das células epiteliais. Segundo LEVINE (1984), o gênero *Cryptosporidium* é um membro do *Phylum Apicomplexa* (LEVINE, 1970), Classe Sporozoasida (LEUCKART 1879), subclasse Coccidiasina (LEUCKART, 1879), Ordem Eucoccidiorida (LEGER; DUBOCQ, 1910), subordem Eimeiriorina (LEGER 1911), família *Cryptosporidiidae* (LEGER, 1911).

Segundo CURRENT (1985), o *Cryptosporidium* é um importante agente responsável por gastroenterites em várias espécies de animais, especialmente em bovinos, ovinos e seres humanos. Ainda que, a mortalidade pelo *Cryptosporidium* seja baixa, a doença é responsável por uma substancial perda econômica relacionada principalmente com despesas medicamentosas e perda potencial da produção. (MOORE et al. 1988).

De acordo com BOUFASSA-OUZROUT et al. (1986), citado por ORTOLANI (1988), a infecção em bezerros apresenta dois quadros clínicos distintos: um de enterite, com grave diarreia, depressão do estado geral, anorexia, perda de peso, desidratação e eliminação de oocistos de *Cryptosporidium* nas fezes, caracterizando a criptosporidiose, e outro assintomático, mas com eliminação de oocistos.

A faixa etária mais acometida, conforme as revisões de TZIPORI (1983) e KIRKPATRICK (1986) é a de 4 a 30 dias, mas, segundo HENRIKSEN & KROUGH (1985), dentro desse intervalo a criptosporidiose é mais prevalente nos bezerros de 8 a 14 dias.

A criptosporidiose bovina experimental foi estudada por vários pesquisadores, entre eles podemos citar, TZIPORI et al. (1980a); ANDERSON (1981), TZIPORI et al. (1983), BLEWETT (1988) e CASEY (1991). No Brasil, FREIRE et al (1993) inocularam dois bezerros com um dia de idade com uma suspensão de fezes contendo 2×10^6 oocistos de *Cryptosporidium*. Os animais apresentaram diarreia profusa e amarelada a partir do terceiro dia após a inoculação. À necrópsia, observaram-se lesões predominantes na região intestinal com leve hiperemia das mucosas; nos exames histológicos uma atrofia e fusão das vilosidades.

A carência de dados regionais, e a importância das diarreias para os bezerros, induziram-nos a realizar este trabalho, com o objetivo de observar experimentalmente o comportamento do *Cryptosporidium* em bezerros neonatos.

MATERIAL E MÉTODOS

Identificação da espécie de *Cryptosporidium*

A identificação da espécie de *Cryptosporidium* foi feita utilizando-se as medidas equatoriais e polares de 134 oocistos corados. Para verificar a dispersão dos oocistos os diâmetros equatoriais foram agrupados em três classes: valores equatoriais abaixo de 4 µm ; valores entre 4-5 µm e valores superiores a 5 µm.

Para as mensurações, foi utilizado um microscópio com ocular micrométrica.

Criptosporidiose experimental de bezerros

A caracterização da criptosporidiose experimental foi feita através de avaliação clínica, eliminação de oocistos nas fezes e presença de lesões na necrópsia. O inóculo utilizado para a infecção experimental foi obtido de animais naturalmente infectados.

Inoculação dos animais

As características clínicas e a dinâmica da infecção por *C. parvum* foram estudadas em quatro bezerros mestiços de zebu e holandês, identificados como bezerro 1 (8 dias de idade), bezerro 2 (2 dias de idade), bezerro 3 (1 dia de idade) e bezerro 4 (1 dia de idade), provenientes da Escola Veterinária da UFG. Os três primeiros bezerros foram inoculados cada um com 6ml de suspensão de fezes, contendo 10^5 oocistos. O quarto bezerro foi inoculado com o mesmo volume da suspensão, porém com concentração de oocistos desconhecida. Os bezerros permaneceram nas dependências da Escola de Veterinária da UFG nas mesmas condições de manejo utilizadas para os demais animais.

Para caracterizar as alterações histopatológicas e o desenvolvimento endógeno, foram inoculados dois bezerros com 10^5 oocistos de *C. parvum*. Os animais eram mestiços de zebu e holandês, com 1 dia de vida, mantidos em baias individuais e com aleitamento artificial.

Exames clínicos

Os bezerros inoculados foram diariamente submetidos à avaliação clínica. Os parâmetros avaliados incluíram aspecto geral, apetite, estado de hidratação, consistência e coloração das fezes.

Colheita de material e exames laboratoriais.

Fezes

A partir do segundo dia de inoculação, foram colhidas amostras de fezes diariamente para pesquisa do *Cryptosporidium*, até o trigésimo dia após a inoculação. As amostras foram colhidas diretamente no reto dos bezerros e transportadas em sacos plásticos para o laboratório do IPTSP - UFG, onde permaneceram estocadas em geladeiras a 4°C, até o momento de serem examinadas.

Para o exame, as amostras foram submetidas à flutuação em solução saturada de sacarose (solução de Sheather), tendo sido diluídas em água e colocadas em tubo de centrifuga de 10ml com igual volume da solução saturada e centrifugadas a 200 G 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 à lâmina e reter melhor o corante. Deste conteúdo, foi feito um esfregaço que foi corado pela técnica de Ziehl - Neelsen, modificada por HENRIKSEN & POHLENZ (1981), com alterações sugeridas por ORTOLANI (1988), obedecendo a seguinte seqüência:

- a) fixação com metanol a 96% ;
- b) coloração com fucsina por 20-30 minutos ;
- c) diferenciação feita pelo H₂SO₄ a 2% por 30 segundos e repetida quando necessário ;
- d) coloração com verde malaquita a 5% por 30 segundos.

Para determinar a intensidade da infecção, foram feitas contagens de oocistos por grama de fezes através de esfregaços fecais corados.

Foi também avaliado o volume médio de 1g de fezes, que equivale aproximadamente a 1 ml de água. A seguir, acrescentou-se 5 ml de água, formando uma mistura homogênea de 6ml. Uma alíquota de 10µl foi então utilizada para contagem. A partir dos dados obtidos, chegou-se à fórmula: oocistos/g = 600 x n° de oocistos encontrado. O total de oocistos da amostra foi obtido pela contagem de toda a lâmina corada. As contagens individuais de oocistos foram relacionadas com a presença e duração de diarreia.

Tecidos

No quinto dia após inoculação, com o aparecimento de diarreia e perda de apetite, os animais foram sacrificados e necropsiados. O tubo digestivo era, então separado em suas diversas porções e o intestino delgado, em duodeno, jejuno e íleo. O íleo foi dividido em três segmentos de 100 cm cada um, medidos a partir da junção íleo cecal e denominados, respectivamente, terço posterior, médio e anterior. Cada terço foi dividido também por sua vez em três partes, aproximadamente do mesmo comprimento cada uma e denominadas de porção proximal, média e distal. Este procedimento foi utilizado procurando-se detectar o histotropismo do parasito. De cada porção, foi usado um fragmento de 1 cm, que era acondicionado em recipiente com formol a 10% e posteriormente processado para exame microscópico. O processamento consistia de inclusão em parafina, microtomia e coloração com hematoxilina e eosina, segundo MAIA (1979). As lâminas coradas foram examinadas em objetiva de imersão (1000 X). O material estudado foi fotografado utilizando-se o equipamento para fotomicrografia modelo Automatic (model mf AKS 24/36 ZEISS).

RESULTADOS

Identificação específica do *Cryptosporidium*

Os oocistos corados pela técnica de Ziehl-Neelsen eram ovóides ou subsféricos e apresentavam estruturas arredondadas com material denso em seu interior e fortemente corada por rosa, por vezes contendo grânulos escuros.(FIG. 1).

Dos 134 oocistos medidos, 10 (7,46%) apresentavam valores equatoriais menores do que 4µm (A); 95 (70,90%) entre 4 e 5µm (B); e 29 (21,64%) superiores a 5µm (C) (FIG. 1). As três classes de dados (A, B, C) foram sintetizadas em dois pares de medidas: a média e o desvio padrão. Assim, temos para a classe A um diâmetro equatorial - 3,70 ± 0,2 ; diâmetro polar - 4,29 ± 0,70; para a classe B diâmetro equatorial - 4,61 ± 0,52; diâmetro polar - 4,81 ± 0,38 e para a classe C diâmetro equatorial - 5,20 ± 0,67; diâmetro polar - 5,11 ± 0,59.

As características morfológicas e as dimensões dos oocistos permitiram identifica-los como de *C. parvum*.

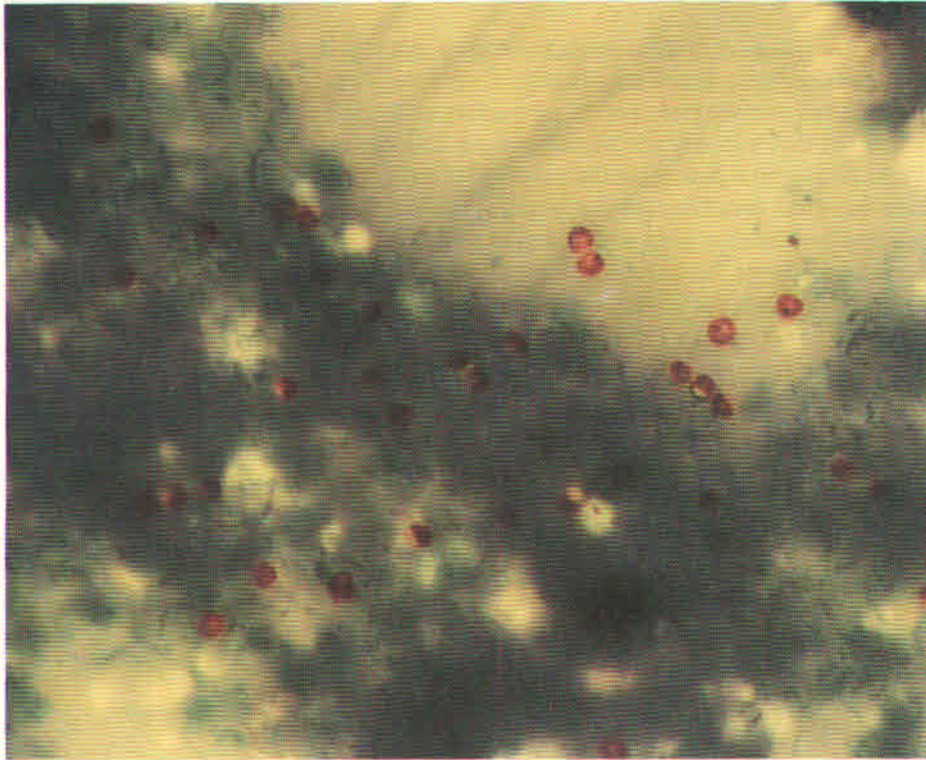


FIG. 1. Oocistos de *C. parvum* em esfregaços fecais corados pela técnica de Ziehl-Neelsen e modificada por HENRIKSEN & POHLENS (1981). (X 400).

Excreção de oocistos

O período prepatente foi de 96 horas para o bezerro número 1 e de 48 horas para os bezerros 2, 3 e 4.

Observou-se uma variação nas contagens de oocistos de *Cryptosporidium* nas fezes dos quatro bezerros (TAB. 1). No bezerro número 2, as maiores contagens de oocistos nas fezes ocorreram no sétimo e no oitavo dia após a inoculação e nos bezerros 3, 1, e 4 ocorreram, respectivamente no segundo e no terceiro, quarto e décimo primeiro e quinto e sexto dia. (GRAF. 1).

Tabela 1 - Eliminação de oocistos/g com presença ou não de diarreia em bezerros, experimentalmente inoculados com oocistos de *C. parvum*. Goiânia - Go./1993.

Dias após inoculação	Animal nº1		Animal nº2		Animal nº3		Animal nº4	
	Oocistos/g	Diarréia	Oocistos/g	Diarréia	Oocistos/g	Diarréia	Oocistos/g	Diarréia
1	0	ausente	0	ausente	0	ausente	0	ausente
2	0	ausente	1.200	ausente	610.800	presente	600	ausente
3	0	presente	7.800	presente	641.400	presente	8.400	presente
4	202.200	presente	10.800	presente	144.000	ausente	0	presente
5	189.000	presente	64.800	presente	2.400	ausente	12.600	presente
6	121.200	ausente	201.600	presente	19.200	ausente	15.000	presente
7	85.200	ausente	413.400	presente	4.800	ausente	0	ausente
8	600	ausente	354.600	presente	168.000	ausente	0	ausente
9	144.600	ausente	285.000	presente	1.200	ausente	0	ausente
10	4.200	ausente	191.400	presente	1.800	ausente	0	ausente
11	328.800	ausente	0	ausente	0	ausente	0	ausente
12	0	ausente	0	ausente	0	ausente	0	ausente
13	0	ausente	0	ausente	0	ausente	0	ausente
14	0	ausente	0	ausente	0	ausente	0	ausente
15	0	ausente	0	ausente	0	ausente	0	ausente

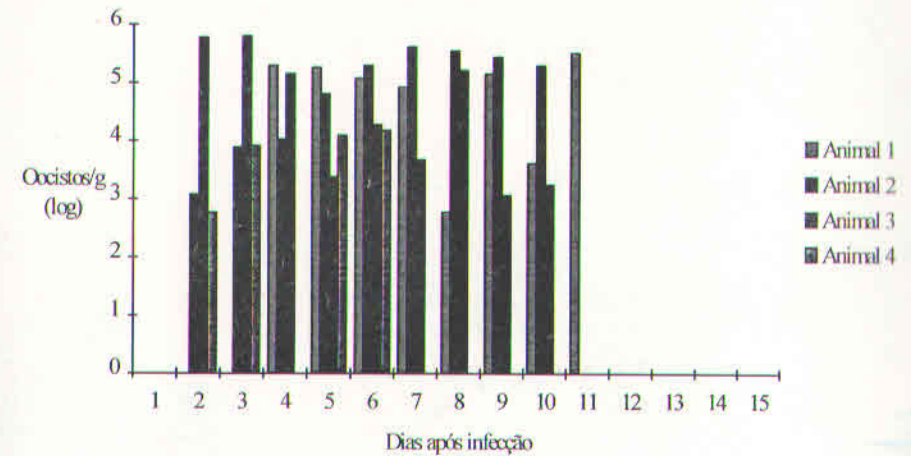


Gráfico 1. Quantidade de oocistos/g em fezes de bezerros, experimentalmente inoculados com *C. parvum*. Goiânia- Go./ 1993

O período patente foi mais ou menos uniforme para os animais 1, 2, e 3, com eliminação de oocistos nas fezes em torno de 8 a 9 dias e para o bezerro número 4 este período foi menor, com eliminação durante 4 dias.

Observações clínicas

Todos os quatro bezerros apresentaram diarreia. A excreção de oocistos foi concomitante com a presença de diarreia em todos os animais. Observou-se que algumas fezes diarréicas estavam negativas para oocistos, como também em algumas fezes pastosas observou-se oocistos de *Cryptosporidium*. As fezes diarréicas eram de cor amarelo e amarelo-esverdeada.(FIG. 2). Dois bezerros, os de números 1 e 2, apresentaram anorexia no quinto e quarto dia respectivamente. O bezerro 2 teve comprometimento do estado geral, apresentando também desidratação e, por isso, havendo necessidade de uma reposição hidroeletrólítica.



FIG. 2. Fezes diarréicas de bezerros neonatos experimentalmente infectados com *C. parvum*.

Cortes histológicos

As observações microscópicas dos cortes histológicos revelaram que as formas endógenas do *C. parvum* se encontram distribuídas no intestino delgado, concentrando-se no íleo. Neste segmento, verificou-se que a maior concentração dos parasitos ocorria na porção distal do terço posterior.

A observação microscópica dos fragmentos teciduais da porção posterior do íleo mostrou numerosas formas de *Cryptosporidium*, sobre o pólo superior das células colunares ao longo das vilosidades e até mais profundamente em algumas glândulas.(FIG. 3) . Observou-se ainda atrofia do revestimento epitelial em vários pontos.

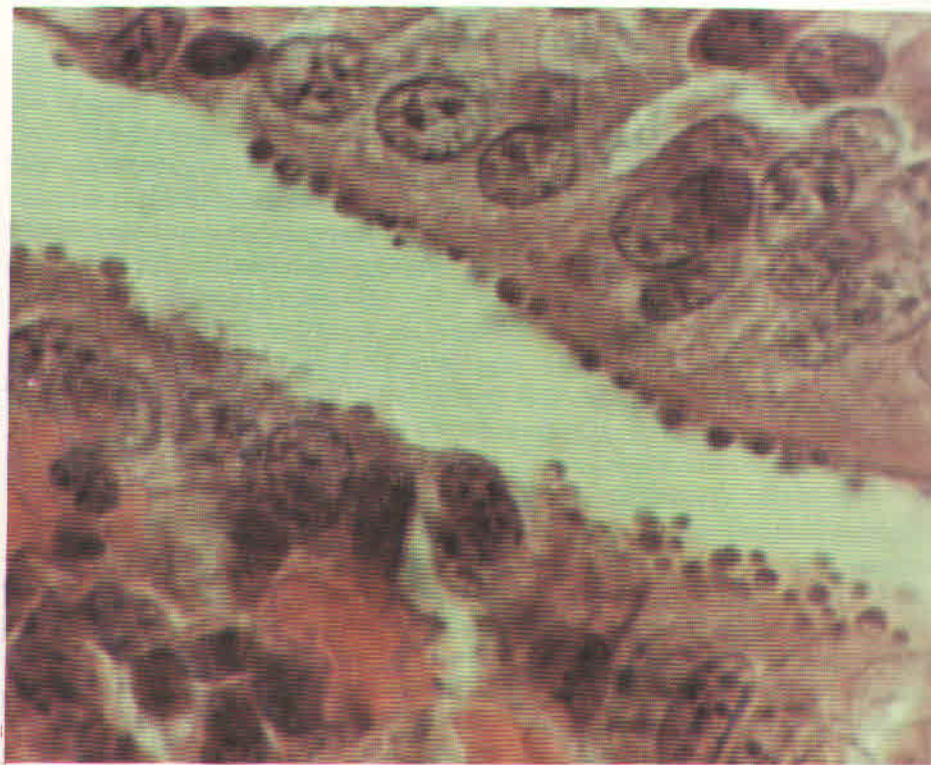


FIG. 3. Formas endógenas do *C. parvum* (coradas pela H. E.) em células epiteliais da porção distal, terço posterior da mucosa ileal de bezerro experimentalmente infectado. (X 1000).

DISCUSSÃO

Identificação da espécie de *Cryptosporidium*

As medidas dos oocistos obtidos em esfregaços fecais corados pelo Ziehl-Neelsen variaram em diâmetro de 3,20 µm a 5,22µm. Setenta por cento das medidas obtidas no presente trabalho (4,61 ± 0,52 a 4,81 ± 0,38) foram semelhantes às medidas verificadas por UPTON & CURRENT (1985), que encontraram 4,5 a 5,4 para o diâmetro equatorial e 4,2 x 5,0 para o diâmetro polar para *C. parvum*. Estas medidas estão dentro de intervalos estabelecidos por TYZZER (1912) de 4,5 a 4,0 µm a 3,0 e 3,3 µm para o diâmetro equatorial e polar, respectivamente, dos oocistos de *C. parvum*.

Criptosporidiose bovina experimental

Observou-se neste experimento uma grande flutuação na excreção de oocistos verificada através de contagens em esfregaços fecais (TAB. 1). Tal fato foi verificado também, por UNGAR (1990), que observou a mesma ocorrência de maneira intermitente, com quantidade variável de oocistos dependendo da fase do ciclo em que se encontra o parasito, assim como da susceptibilidade do hospedeiro à infecção. Esta variabilidade na eliminação de oocistos em bezerros diarréicos foi registrada por ANDERSON (1981).

Os oocistos foram encontrados tanto em fezes diarréicas quanto em não diarréicas. Estes resultados já foram registrados em outros trabalhos, como os de MODOLO et al (1988) e KAMINJOLO et al. (1993). KORINECK & CHROUST (1988) também verificaram que os bezerros não diarréicos podem excretar uma grande quantidade de oocistos, à semelhança dos bezerros diarréicos.

TZIPORI (1980a) observou em bezerros experimentalmente infectados, nove dias após inoculação com *Cryptosporidium* uma coincidente eliminação de oocistos com diarréia. Este resultado foi confirmado por MOON & BEMRICK (1981) e por BLEWETT (1988).

Através da inoculação experimental em quatro bezerros, verificou-se o aparecimento de diarréia em todos os bezerros inoculados (GRAF. 1), mas em três animais não houve necessariamente a correspondência de diarréia com a eliminação de oocistos. Esta observação foi feita também por GARCIA (1993), em Minas Gerais. A duração da excreção de oocistos, em torno de 8 a 9 dias, foi coincidente com os achados de MOON & BEMRICK (1981).

Sintomas clínicos como diarréia e anorexia, já foram relatados por vários autores, entre eles HEINE et al. (1984), e KOZAKIEWICZ & MASZEWSKA

(1988), CASEY (1991). ANGUS (1988) e FREIRE et al. (1993), também verificaram a ocorrência de diarréia, mas não observaram anorexia nos bezerros inoculados experimentalmente.

A divisão do íleo em três segmentos foi baseada nos resultados observados por PEARSON et al. (1982), que examinaram de 7 a 10 fragmentos do intestino delgado de cada bezerro e encontraram o *Cryptosporidium* com maior prevalência na metade posterior. Mas, a presença de *Cryptosporidium* na mucosa ileal de bezerros, já havia sido assinalada por POHLENZ et al. (1978) em bezerros experimentalmente infectados com *Cryptosporidium*. Através de raspado de mucosa e cortes histológicos verificaram que todos os bezerros necropsiados estavam infectados pelo *Cryptosporidium*.

ANDERSON (1984) verificou também, através de exames histológicos em bezerros experimentalmente infectados uma maior concentração de *Cryptosporidium* nas porções médias e inferiores do jejuno e íleo, 5 a 7 dias após a inoculação. Estes resultados coincidem com as observações de TZIPORI (1983) que observou a presença do *Cryptosporidium* no íleo, ceco e colo de bezerros sacrificados 5 a 9 dias após a inoculação.

No presente trabalho, as observações microscópicas dos fragmentos teciduais do íleo de bezerros inoculados experimentalmente, foram semelhantes aos descritos por POHLENZ et al. (1978), HENRIKSEN & KROUGH (1985) e DUBEY (1990) que descreveram ainda uma diarréia aquosa, com fezes amareladas e hiperemia da mucosa intestinal. Essas observações são também semelhantes às verificadas no presente experimento.

CONCLUSÃO

As formas endógenas do *C. parvum* se concentram no íleo com maior intensidade na porção distal do terço posterior.

SUMMARY

Experimental Bovine Cryptosporidiosis in neonate calves in Goiânia-GO

The characterization of the experimental cryptosporidiosis was carried out through a clinical evaluation, oocysts shedding and lesions observable in necropsy.

Four calves (zebu X holand) were inoculated and identified as follows: calf 1 (8 days old), 2 (2 days old), 3 (1 day old) and calf 4, also one day old, all proceeding from the UFG Veterinary School. The three first calves were inoculated with a faeces suspension containing 10^5 *C. parvum* oocysts. The fourth calf was inoculated with the same suspension volume, although with an unknown oocysts concentration. For the characterization of the histological modifications and the endogenous development, two calves (zebu x holand - 1 day old) were inoculated with a 10^5 *C. parvum* oocysts suspension. The patent period was almost uniform for the 3 first calves, with an oocyst shedding around the 8th and 9th days, and, to calf 4 this period was somewhat shorter with a four day elimination. The histological examination showed that the endogenous forms of *C. parvum* are concentrated on the distal portion of the posterior third of the ileum. The intestinal tissue fragment examination showed numerous *C. parvum* forms, over the column cells' superior pole along the vilosities, along with a shedding of the epithelium, in various spots.

KEYWORDS: Cryptosporidiosis, Experimental, Calves.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, B. C. Patterns of shedding of Cryptosporidial oocysts in Idaho calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **178**: 982 - 984, 1981.
- ANDERSON, B. C. Location of Cryptosporidia: Review of the literature and experimental infection in calves. *Am. J. Vet. Res.* **45**: 1474 - 1477, 1984.
- ANGUS, K. W. Mamallian Cryptosporidiosis: A Veterinary perspective. In: ANGUS, K.W.; BLEWETT, D. A. (ed.) *Cryptosporidiosis*. Proc. first Int. Workshop, Edinburgh, 43 - 53, 1988.
- BLEWETT, D. A. Quantitative techniques in *Cryptosporidium* research. In: ANGUS, K. W.; BLEWETT, D. A. (ed.) *Cryptosporidiosis*. Proc. first Int. Workshop, Edinburgh, 85 - 96, 1988.
- BOUFASSA - OUZROUT, S.; CHERMETTE, R.; MEISSONIER, E. La cryptosporidiose: une maladie animale et humaine cosmopolite. *Ser. Tech. Off. Int. Epizooties Par.* v. 5, p. 1-96, 1986. Apud 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 da Universidade de São Paulo. 1988, 85 p. (Tese de Doutorado)

- CASEY, M. J. *Cryptosporidium* and bovine Cryptosporidiosis: a review. *Irish Vet J.* **44**: 2 - 7, 1991.
- CURRENT, W.L. Cryptosporidiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **187**: 1334-1338, 1985.
- DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; FAYER, R. *Cryptosporidiosis of man and animals.* Boston, 1990, 199 p.
- FREIRE, R.L.; FARIA dos REIS, A.C.; VIDOTTO, O.; BARROS, A.R.; BARREIROS, M.A.B.; BILITARDO, D.R. ; SANTOS, A.C.A. Infecção experimental de bovinos lactentes com *Cryptosporidium parvum*. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 7. *Anais.* Londrina, 1993. p. 20.
- GARCIA, A.M. Prevalência do *Cryptosporidium* sp (TYZZER, 1907) em bezerros lactentes na Bacia Leiteira de Pará de Minas-MG. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da U.F.M.G. 1993. 80 p. (Tese de Mestrado)
- HEINE, J., POHLENZ, J.F.L., MOON, H.W; WOODE, G. Enteric lesions and diarrhoea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. *J. Infec. Dis.* **150**: 768-775, 1984.
- HENRIKSEN, S.A. ; KROUGH, H.V. Bovine Cryptosporidiosis in Denmark I - Prevalence, age distribution and seasonal variation. *Nord. Vet. Med.*, **37**: 34-41, 1985.
- HENRIKSEN, S.A.; POHLENS, J. Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet. Scan.*, **22**: 594-596, 1981.
- KAMINJOLO, J.S.; ADESIYUN, A. A.; LOREGNARD, R. AND KITSON - PIGOTT, W. Prevalence of *Cryptosporidium* oocysts in livestock in Trinidad and Tobago: *Vet Parasitol.* **45**: 209-213, 1993.
- KIRKPATRICK, C.E. *Cryptosporidium* infection as a cause of calf diarrhoea. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* **1**: 528-545, 1986.

CARNEIRO, J.R.; LIMA, J.D.; RODRIGUES, N.; CURY, F.C. Criptosporidiose experimental em bezerros neonatos em Goiânia-Go. *Rev. Pat. Trop.* 24 (2): 219 - 233 jul/dez. 1995

KORINEK, J. ; CHROUST, K. Dynamics of the incidence of Cryptosporidia in calves. *Acta. Vet.* 57: 39-52, 1988.

LEVINE, N.D. Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa). *J. Protozool.* 31: 94-98, 1984.

MAIA, V. *Técnicas histológicas*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1979. 246 p.

MODOLO, J. R.; GONÇALVES, R. C.; KUCHEMUCK, M. R. C.; GOTTSCHALK, A.F. Ocorrência de criptosporidiose em bezerros na região de Botucatu - S.P. *Rev. Bras. Med. Vet.* 10: 9-10, 1988.

MOON, H.W.; BEMRICK, W.J. Fecal transmission cryptosporidiosis in a calf. *Vet. Pathol.* 18: 248-255, 1981.

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 da Universidade de São Paulo. 1988, 85 p.(Tese de Doutorado)

PEARSON, G.R. ; LOGAN, E.F. Demonstration of criptosporidia in the small intestine of a calf by light transmission electron and scanning electron microscopic. *Vet. Res.* 103: 212-213, 1983.

PEARSON, G.R. ; LOGAN, E.F. ; MCNULTY, M.S. Distribution of cryptosporidia within the gastrointestinal tract of young calves. *Res. Vet. Sci.* 33: 228-231, 1982.

POHLENZ, J.; MOON, H.W.; CHEVILLE, N.F.; BEMRICK, W.J. Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 172: 452-457, 1978.

TYZZER, E.E. A Sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proc. Soc. Expl. Biol. Med.* 5: 12-13, 1907.

TYZZER, E.E. *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.) a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch. Protistenkd.* 26: 394-412, 1912.

CARNEIRO, J.R.; LIMA, J.D.; RODRIGUES, N.; CURY, F.C. Criptosporidiose experimental em bezerros neonatos em Goiânia-Go. *Rev. Pat. Trop.* 24 (2): 219 - 233 jul/dez. 1995

TZIPORI, S.; SMITH, M.; HALPIN, C. Experimental cryptosporidiosis in calves : clinical manifestation and pathological findings. *Vet. Rec.* 112: 116-120, 1983.

TZIPORI, S.; CAMPBELL, D.; SHERWOOD, D. R.; SNODGRASS, A. S. An outbreak of calf diarrhoea attributed to cryptosporidial infection. *Vet. Rec.* 107: 579-580, 1980.

UNGAR, B.L.P. Enzyme-linked immunoassay for detection of *Cryptosporidium* antigens in fecal specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 28: 2491-2495, 1990.

UPTON, S. J.; CURRENT, W.L. The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. *J. Parasitol.* 71: 625-629, 1985.