



**FIDELIS ANTÔNIO DA SILVA JÚNIOR**

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À  
OCORRÊNCIA DE *Cryptosporidium* sp. E  
*Giardia duodenalis* EM PROPRIEDADES DE  
PRODUÇÃO DE LEITE NA REGIÃO DO  
CAMPOS DAS VERTENTES DE MINAS GERAIS**

**LAVRAS – MG**

**2010**

**FIDELIS ANTÔNIO DA SILVA JÚNIOR**

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE  
*Cryptosporidium* sp. E *Giardia duodenalis* EM PROPRIEDADES DE  
PRODUÇÃO DE LEITE NA REGIÃO DO CAMPOS DAS VERTENTES  
DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias, área de concentração em  
Ciências Veterinárias, para a obtenção  
do título de Mestre.

Orientador

Dr. Antônio Marcos Guimarães

Co-orientadora

Dra. Christiane M.B.M. Rocha

**LAVRAS – MG**

**2010**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Silva Júnior, Fidelis Antônio da.

Fatores de risco associados à ocorrência de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis* em propriedades de produção de leite na região do Campos das Vertentes de Minas Gerais / Fidelis Antônio da Silva Júnior. – Lavras : UFLA, 2010.

121 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Antônio Marcos Guimarães.

Bibliografia.

1. Diarréia. 2. Bezerros assintomáticos. 3. Leite cru refrigerado.  
4. Leite tipo B. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.2089696

**FIDELIS ANTÔNIO DA SILVA JÚNIOR**

**FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE  
*Cryptosporidium* sp. E *Giardia duodenalis* EM PROPRIEDADES DE  
PRODUÇÃO DE LEITE NA REGIÃO DO CAMPOS DAS VERTENTES  
DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias, área de concentração em  
Ciências Veterinárias, para a obtenção  
do título de Mestre.

APROVADA em 10 de Junho de 2010.

Dra. Adriana de Souza Coutinho      UFLA

Dra. Christiane M.B.M. Rocha      UFLA

Dra. Isis Abel Bezerra      UNILAVRAS

Dr. Antônio Marcos Guimarães  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2010**

A meus familiares, amigos e a todos que de alguma forma  
contribuíram para a realização deste trabalho.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS por todas as bênçãos dadas e pela minha vida.

À Carolina, por seu amor, paciência, companheirismo, incentivo nos momentos difíceis, e sua presença constante em minha vida.

Ao meu pai pelo exemplo de homem, caráter e dignidade. Pelos momentos de alegria em sua companhia, por todos os dias de trabalho dedicados à minha família, pelo amor e carinho dispensados.

À minha mãe por todos os ensinamentos, amor, carinho, e pelo exemplo de superação demonstrado diariamente.

À minha família pelo apoio, carinho e contribuição para a formação de um homem melhor.

Aos meus eternos amigos que sempre torcem por mim e estão presentes em minha vida mesmo quando estão distantes.

Ao Professor Antônio Marcos pela orientação neste trabalho, sugestões, conselhos, atenção dispensada e pelo exemplo de profissional a ser seguido, com muito profissionalismo e dignidade.

À Professora Christiane pelo auxílio nas análises estatísticas, pelas sugestões e a alegria contagiante demonstrada diariamente.

Ao Marquinhos pelo auxílio e companhia no Laboratório de Parasitologia no Departamento de Medicina Veterinária/UFLA.

Ao André pelo companheirismo e amizade durante todo o período dos trabalhos.

Ao Daniel pelas sugestões e correções, e principalmente pela amizade.

Ao Hugo pela torcida e pelo incentivo em todos os momentos.

A todas as pessoas que de alguma maneira participaram e contribuíram com este trabalho, meus sinceros agradecimentos

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Medicina Veterinária (DMV), pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivos determinar a dinâmica de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis* em bezerras leiteiras, do nascimento aos 12 meses de idade (Estudo I); bem como, avaliar os fatores de risco que favorecem as infecções destes protozoários em bezerras provenientes de dez propriedades produtoras de leite tipo B (LB) e dez de leite cru refrigerado (LCR), localizadas na região do Campo das Vertentes, sul de Minas Gerais (Estudo II). As amostras fecais foram coletadas no período de setembro de 2008 a agosto de 2009. No estudo II, dados descrevendo práticas de manejo, condições sanitárias e a percepção de produtores sobre a ocorrência de diarreia em bezerras leiteiras foram analisados para determinar potenciais fatores de risco associados à infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis*. No estudo I, foram acompanhados 33 bezerras e os animais com diarreia eliminaram uma maior quantidade de oocistos de *Cryptosporidium* sp. (58,7%). Já amostras positivas para *G. duodenalis* foram observadas em animais assintomáticos (sem diarreia). No estudo II, foram coletadas amostras fecais de 356 bezerras com idade inferior a 12 meses de idade. A frequência média global de bezerras infectadas por *Cryptosporidium* foi de 21,62%, sendo a faixa etária entre sete a 21 dias de idade a que apresentou maior número de animais eliminando oocistos. Já para *G. duodenalis*, a frequência média global foi de 25,56% e a faixa etária entre 60 a 90 dias de idade com a maior taxa de bezerras eliminando cistos. Foram identificados como fatores de risco: 1) tipo de leite produzido (LB - LCR); 2) tipo de ordenha (mecânica - manual); 3) localização das instalações destinadas aos bezerros (próximo - distante do curral); 4) condições sanitárias do local onde as bezerras são mantidas; 5) a manutenção dos animais em locais coletivos; 6) estação do ano (chuvosa - seca), e 7) o tempo transcorrido após o nascimento para o fornecimento de colostro. Os resultados destes estudos indicam que infecções por *Cryptosporidium* e *Giardia* estão amplamente distribuídas entre as bezerras leiteiras na região do Campo das Vertentes de Minas Gerais, e estes animais se infectam mais precocemente por *Cryptosporidium* em relação à *Giardia*.

Palavras-chave: Diarreia. Bezerros assintomáticos. Leite cru refrigerado e tipo B.



## ABSTRACT

The objectives of this research were: to determine the dynamic of infection by *Cryptosporidium* sp. and *Giardia duodenalis* in dairy calves from the birth to 12 months old (Study I); as well as the risk factors that favor these protozoa infections in calves from ten farms producers of milk type B (LB) and ten others producers of refrigerated raw milk (LCR), located in the area Campo das Vertentes – South of Minas Gerais state (Study II). The fecal samples, in studies I and II were analyzed by the Ziehl Neelsen technique and zinc sulfate centrifugal flotation method for detection of *Cryptosporidium* sp. oocysts and *G. duodenalis* cysts, respectively. For study II, data describing the management practices, sanitary conditions, illness history, treatment, age and consistence of stools were collected to evaluate potential risk factors in the livestock producers of milk LB and LCR. In study I was observed that the animals in the clinical profile of diarrhea, excreted a bigger amount of *Cryptosporidium* sp. (58.7%). However, positive samples for *Giardia duodenalis* were found in asymptomatic animals (without diarrhea). In Study II were collected fecal samples from 356 heifers aged less than 12 months, collected between September 2008 and August 2009. The overall average frequency of heifers infected with *Cryptosporidium* was 21.62%, with age group from seven to 21 days old with the highest rate of animals eliminating oocysts. Although, for *G. duodenalis*, the overall average frequency was 25.56% and age group between 60-90 days with the highest rate of female heifers eliminating cysts. Were identified as risk factors: 1) type of milk produced (LB or LCR); 2) type of milking (mechanical or manual); 3) location of the calf pens (near or far from the corral); 4) sanitary conditions of the place where the calves are kept; 5) the maintenance of animals at coletive places; 6) season (rainy or dry); and 7) period (hours) after the birth of calves for providing the colostrum. The results of these studies indicate that infection by *Cryptosporidium* and *Giardia* are largely spread among dairy calves in the region of Campo das Vertentes in South of Minas Gerais state, and that dairy calves are infected much earlier by *Cryptosporidium* in relation to *Giardia*. It was also observed that heifers reared in farms producers of refrigerated raw milk (LCR) have a bigger chance of being infected by both protozoa due to precarious hygiene, among other factors.

Keywords: Diarrhea. Asymptomatic calves. Refrigerated raw milk and type B.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa com as 12 mesorregiões do estado de Minas Gerais. ....	40
Figura 2	Médias mensais de temperatura e precipitação durante o período de setembro de 2008 a agosto de 2009, no município de Lavras, MG. ....	46
Figura 3	Frequência (%) de bezerras leiteiras eliminando oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp. de acordo com a intensidade e consistência das fezes, fazenda Palmital, microrregião de Lavras, MG. ....	48
Figura 4	Frequência (%) de bezerras leiteiras eliminando cistos de <i>G. duodenalis</i> , de acordo com a intensidade e a consistência das fezes, fazenda Palmital, microrregião de Lavras, MG. ....	49
Figura 5	Frequência (%) média mensal de infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. durante o período experimental de doze meses, em bezerras de propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais. ....	56
Figura 6	Frequência (%) média mensal de infecção por <i>G. duodenalis</i> , durante o período de doze meses, em bezerras provenientes de propriedades leiteiras no estado de Minas Gerais. ....	66
Figura 7	Frequência (%) de diarreia em bezerras provenientes de propriedades leiteiras, de acordo com a percepção de seus proprietários ou responsáveis, no estado de Minas Gerais. ....	75
Figura 8	Percepção dos produtores de leite quanto à principal faixa etária de bezerras acometidas por diarreia, provenientes de propriedades leiteiras, no estado de Minas Gerais. ....	76
Figura 9	Frequência (%) de doenças que acometem bezerras, segundo a percepção de proprietários ou responsáveis, em propriedades produtoras de leite tipo B (LB) e leite tipo cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais. ....	77

Figura 10      Frequência (%) de doenças que causam mortalidade de bezerros, segundo a percepção de proprietários ou responsáveis, em propriedades produtoras de leite tipo B (LB) e leite tipo cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais. .... 77

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Espécies de <i>Cryptosporidium</i> válidas .....	20
Tabela 2	Frequência de <i>Cryptosporidium</i> sp. em bovinos no mundo, segundo o país, autor(es) e ano. ....	23
Tabela 3	Frequência de <i>Cryptosporidium</i> sp. em bovinos, bubalinos e equinos no Brasil, segundo o Estado, hospedeiro, frequência, autor(es) e ano. ....	24
Tabela 4	Espécies do gênero <i>Giardia</i> e respectivos hospedeiros .....	26
Tabela 5	Frequência de <i>Giardia</i> sp. em rebanhos bovinos no mundo, segundo o país, autor(es) e ano. ....	29
Tabela 6	Frequência (%) de <i>Giardia</i> sp. em animais domésticos no Brasil, segundo o Estado, hospedeiro, frequência, autor(es) e ano. ....	29
Tabela 7	Parâmetros descritivos de dez propriedades produtoras de leite B (LB) e dez de leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais. ....	51
Tabela 8	Características zootécnicas de dez propriedades produtoras de leite B (LB) e dez de leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais. ....	52
Tabela 9	Características zootécnicas das propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), em relação à criação de bezerras, no estado de Minas Gerais. ....	53
Tabela 10	Parâmetros zootécnicos e sanitários de propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais. ....	55
Tabela 11	Frequência (%) média de eliminação de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp. de acordo como a faixa etária, em bezerras de propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais. ....	57

Tabela 12	Frequência (%) média de <i>Cryptosporidium</i> sp. em fezes de bezerras de dez propriedades produtoras de leite tipo B, no estado de Minas Gerais. ....	58
Tabela 13	Frequência (%) média de <i>Cryptosporidium</i> sp. em fezes de bezerras de dez propriedades produtoras de leite cru refrigerado, no estado de Minas Gerais.....	59
Tabela 14	Frequência (%) média de bezerras positivas para <i>Cryptosporidium</i> sp. segundo o tipo de instalação, provenientes de propriedades leiteiras do estado de Minas Gerais. ....	59
Tabela 15	Número de bezerras eliminando oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp. de acordo com a intensidade, em propriedades produtoras de leite B, no estado de Minas Gerais. ....	60
Tabela 16	Número de bezerras eliminando oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp. de acordo com a intensidade, em propriedades produtoras de leite cru refrigerado, no estado de Minas Gerais. ....	61
Tabela 17	Medidas (µm) de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp. em fezes de bezerras provenientes de rebanhos leiteiros, no estado de Minas Gerais. ....	62
Tabela 18	Fatores de risco para infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. em bezerras provenientes de propriedades leiteiras, no estado de Minas Gerais. ....	63
Tabela 19	Risco de infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. em relação às estações do ano, em bezerras provenientes de propriedades leiteiras, no estado de Minas Gerais.....	64
Tabela 20	Risco de infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. de acordo com as práticas de manejo adotadas na criação de bezerras, em propriedades leiteiras no estado de Minas Gerais. ....	65
Tabela 21	Frequência (%) média de bezerras eliminando cistos de <i>G. duodenalis</i> , de acordo com a faixa etária, provenientes de propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais. ....	67

Tabela 22	Frequência (%) média de <i>G. duodenalis</i> em fezes de bezerras provenientes de propriedades produtoras de leite B, no estado de Minas Gerais. ....	67
Tabela 23	Frequência (%) média de <i>G. duodenalis</i> em fezes de bezerras provenientes de propriedades produtoras de leite cru refrigerado, no estado de Minas Gerais.....	68
Tabela 24	Frequência (%) média de bezerras positivas para <i>G. duodenalis</i> , segundo o tipo de instalação, provenientes de propriedades leiteiras do estado de Minas Gerais. ....	69
Tabela 25	Número de bezerras eliminando cistos de <i>G. duodenalis</i> , de acordo com a intensidade, provenientes de propriedades produtoras de leite B, no estado de Minas Gerais. ....	69
Tabela 26	Número de bezerras eliminando cistos de <i>G. duodenalis</i> , de acordo com a intensidade, provenientes de propriedades produtoras de leite cru refrigerado, no estado de Minas Gerais. ....	70
Tabela 27	Risco de infecção por <i>G. duodenalis</i> em bezerras em relação ao tipo de ordenha, localização das instalações, tipo de leite produzido e condições higiênicas das instalações, no estado de Minas Gerais. ....	71
Tabela 28	Risco de infecção por <i>G. duodenalis</i> , de acordo com as estações do ano, em bezerras provenientes de propriedades leiteiras, no estado de Minas Gerais.....	72
Tabela 29	Risco de infecção por <i>G. duodenalis</i> , de acordo com as práticas de manejo adotadas na criação de bezerras, em propriedades leiteiras no estado de Minas Gerais. ....	73
Tabela 30	Frequência (%) de amostras fecais positivas para <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>G. duodenalis</i> , normais ou diarréicas, coletadas de bezerras leiteiras, no estado de Minas Gerais.....	74

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	19
2.1	Criptosporidiose em bovinos .....	19
2.1.1	Morfologia .....	20
2.1.2	Ciclo biológico .....	21
2.1.3	Transmissão .....	22
2.1.4	Distribuição geográfica .....	22
2.1.5	Epidemiologia .....	22
2.1.6	Sinais clínicos .....	24
2.1.7	Controle .....	24
2.2	Giardiose .....	25
2.2.1	Morfologia .....	26
2.2.2	Ciclo biológico .....	27
2.2.3	Transmissão .....	28
2.2.4	Distribuição geográfica e epidemiologia .....	28
2.2.5	Sinais clínicos .....	30
2.2.6	Prevenção e controle .....	30
2.3	Fatores de risco associados às infecções por <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>Giardia duodenalis</i> .....	31
3	OBJETIVOS .....	34
3.1	Objetivo geral .....	34
3.2	Objetivos específicos .....	34
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	36
4.1	Dados meteorológicos .....	36
4.2	Estudo I - dinâmica de infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>Giardia duodenalis</i> em bezerras de um rebanho leiteiro na microrregião de Lavras, MG .....	36
4.2.1	Animais e amostras fecais .....	36
4.3	Estudo II – fatores de risco associados à infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>G. duodenalis</i> em bezerras leiteiras provenientes da região do Campo das Vertentes – Sul de Minas Gerais .....	37
4.3.1	Caracterização das áreas amostradas .....	38
4.3.2	Animais e amostras fecais .....	40
4.4.	Exames coprológicos realizados nos estudos I e II .....	41
4.4.1	Coleta e classificação das amostras fecais .....	41

4.4.2	Determinação da frequência e intensidade de eliminação de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp. e cistos <i>Giardia duodenalis</i> .....	42
4.4.3	Morfometria de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp. e cistos de <i>Giardia duodenalis</i> .....	42
4.5	Aplicação de questionários .....	43
4.6	Análise estatística.....	43
5	RESULTADOS.....	45
5.1	Condições climáticas .....	45
5.2	Estudo I - dinâmica de infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>Giardia duodenalis</i> em bezerras de um rebanho leiteiro na microrregião de Lavras, MG.....	46
5.2.1	Frequência e morfometria de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp.....	46
5.2.2	Frequência e morfometria de cistos de <i>Giardia</i> .....	48
5.3	Estudo II - fatores de risco associados à infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>G. duodenalis</i> em bezerras leiteiras provenientes da região do Campo das Vertentes – Sul de Minas Gerais .....	50
5.3.1	Caracterização das propriedades leiteiras .....	50
5.3.2	Frequência de <i>Cryptosporidium</i> sp. ....	56
5.3.3	Fatores de risco para <i>Cryptosporidium</i> sp. ....	62
5.4	Frequência de <i>Giardia duodenalis</i> .....	65
5.4.1	Fatores de risco para <i>G. duodenalis</i> .....	70
5.5	Diarréia em bezerras leiteiras associada à infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. e/ou <i>G. duodenalis</i> .....	73
5.6	Percepção de produtores sobre a diarréia em bezerras leiteiras.....	74
6	DISCUSSÃO.....	78
6.1	Estudo I - dinâmica de infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>Giardia duodenalis</i> em bezerras de um rebanho leiteiro na microrregião de Lavras, MG.....	78
6.1.1	Dinâmica de infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. ....	78
6.1.2	Dinâmica de infecção por <i>G. duodenalis</i> .....	79
6.2	Estudo II - fatores de risco associados à infecção por <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>G. duodenalis</i> em bezerras leiteiras provenientes da região do Campo das Vertentes de Minas Gerais.....	81
6.2.1	Frequência de <i>Cryptosporidium</i> sp .....	81



6.2.2	Frequência de <i>G. duodenalis</i> .....	84
6.2.3	Fatores de risco associados às infecções por <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>G. duodenalis</i> .....	86
7	CÓNCCLUSÕES .....	94
	REFERÊNCIAS .....	96
	ANEXO A .....	108

## 1 INTRODUÇÃO

A agropecuária é responsável pela produção de bens de consumo primários e foi responsável por quase 27% do PIB do Brasil no ano de 2008. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2006) o rebanho bovino brasileiro chegou à marca de 207 milhões de animais no ano de 2005. Com relação à produção de leite no Brasil, foram produzidos cerca de vinte e cinco bilhões de litros de leite no ano de 2005.

No ano de 2007, o estado de Minas Gerais foi responsável por grande parte desta produção, alcançando a marca de 30% da produção nacional (IBGE, 2009). Como o leite é um alimento rico em nutrientes e relativamente barato, existe um crescente aumento da demanda por este produto. Para conseguir acompanhar este crescimento e consequentemente cumprir com as metas por este alimento, é necessário melhorar as condições sanitárias e de manejo dos rebanhos.

Dentre as doenças que mais acometem os rebanhos leiteiros, destacam-se as de etiologia parasitária. O impacto resultante da diarreia em rebanhos leiteiros se reflete diretamente na economia do país, em consequência de perdas indiretas como aplicação de medidas de controle, e perdas diretas, tal como a redução de produtividade e até mesmo a morte de animais.

A diarreia é uma síndrome de grande complexidade etiológica e representa uma das principais causas de morbidade em bezerros, além de potencializar o risco de coinfeções por outros microrganismos patogênicos (ALVES et al., 2005).

*Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis* são protozoários parasitos intestinais que infectam várias espécies animais. Esses parasitos causam diarreia, prejudicam o ganho de peso dos animais e apresentam um alto potencial zoonótico (THOMPSON, 2000).

Os prejuízos causados por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* são variáveis, sendo desde custos com medicamentos e mão de obra até a perda de animais. Os quadros clínicos podem ser perceptíveis (diarréia, perda de peso) ou assintomáticos (casos subclínicos), onde animais sem doença aparente eliminam oocistos e/ou cistos mantendo-os viáveis ao ambiente.

Atualmente esses protozoários são considerados um problema de saúde pública, uma vez que pode resultar em infecções nos seres humanos e consequentes agravos na saúde de indivíduos imune-comprometidos.

Considerando a importância negativa desses protozoários para a economia e saúde pública em geral, é de suma importância entender os mecanismos e fatores que favorecem a disseminação e proliferação destes parasitos no meio ambiente.

Infecções por *Cryptosporidium* sp. e/ou *G. duodenalis* têm sido registradas em rebanhos bovinos de várias regiões do planeta. Em bezerros neonatos e jovens a alta prevalência destes protozoários é bem conhecida e está relacionada com a idade (HERD; XIAO, 1993).

Apesar do grande número de trabalhos publicados no exterior relacionados com a epidemiologia de *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis*, em gado de corte e leite, pouco tem sido documentado sobre a ocorrência destes protozoários em bovinos no país e são escassas as pesquisas com bovinos leiteiros no estado de Minas Gerais.

Este trabalho teve como objetivos acompanhar a dinâmica de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* em bezerras de uma propriedade leiteira, do nascimento aos 12 meses de idade; e determinar a frequência e os fatores de risco que favorecem a manutenção de (oo)cistos destes protozoários em rebanhos produtores de leite B e leite cru refrigerado na região do Campo das Vertentes de Minas Gerais.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Criptosporidiose em bovinos

A criptosporidiose é uma doença causada por protozoários do gênero *Cryptosporidium* sp. De acordo com a taxonomia, o gênero *Cryptosporidium* sp. tem a seguinte classificação (FAYER et al., 2006):

Filo: Apicomplexa

Classe: Sporozoasida

Ordem: Eucoccidiorida

Família: Cryptosporidiidae

Gênero: *Cryptosporidium*

*Cryptosporidium* sp. é comumente encontrado em bovinos jovens, sendo um dos principais causadores de diarreia em bezerros com duas a três semanas de idade (HUETINK et al., 2001). Os protozoários deste gênero medem cerca de 4 a 6 µm de diâmetro e são altamente resistentes à desinfecção convencional principalmente por desinfetantes baseados em cloro (ALMEIDA et al., 2008). Existem vários tipos de vertebrados que são infectados com espécies de *Cryptosporidium* sp. (tabela 1).

Tabela 1 Espécies de *Cryptosporidium* válidas

<b>Espécie</b>	<b>Hospedeiro</b>	<b>Isolados de infecções em seres humanos</b>
<i>C. andersoni</i>	bovinos, camelos	Não
<i>C. baileyi</i>	Aves	Não
<i>C. bovis</i>	Bovinos	Não
<i>C. canis</i>	cães, homem	Ocasionalmente
<i>C. fayeri</i>	Canguru vermelho	Não
<i>C. felis</i>	Gatos, homem	Ocasionalmente
<i>C. fragile</i>	Anfíbios	Não
<i>C. galli</i>	Galinhas	Não
<i>C. hominis</i>	Homem	Frequentemente
<i>C. macropodum</i>	canguru cinza	Não
<i>C. meleagridis</i>	perus, humanos	Ocasionalmente
<i>C. molnari</i>	Peixes	Não
<i>C. muris</i>	roedores, homem	Ocasionalmente
<i>C. parvum</i>	ruminantes, homem	Frequentemente
<i>C. saurophilum</i>	Répteis	Não
<i>C. scophithalmi</i>	Peixes	Não
<i>C. serpentis</i>	Répteis	Não
<i>C. suis</i>	Suínos, homem	Ocasionalmente
<i>C. varanii</i>	lagarto varano	Não
<i>C. wrairi</i>	porquinho da índia	Não

Fonte: Adaptado de FAYER e XIAO (2008); SUNNOTEL (2007); WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO (2006)

### 2.1.1 Morfologia

O gênero *Cryptosporidium* possui várias formas durante o ciclo biológico. Seus oocistos possuem a forma elíptica ou esférica, medindo de 4 a 6 µm. Dentro do oocisto estão quatro esporozoítos (ausência de esporocistos). A parede do oocisto é lisa e dupla. Os oocistos podem ser de dois tipos: I – parede espessa; II – parede delgada (JACOBSEN et al., 2006).

### 2.1.2 Ciclo biológico

O ciclo biológico do gênero *Cryptosporidium* divide-se em dois estádios: uma fase sexuada e outra assexuada. A forma de infecção por este parasito é fecal-oral e é excretado junto com as fezes do hospedeiro (SIMÕES et al., 2008).

Após a ingestão dos oocistos há o desencistamento e a liberação dos esporozoítos que se alojam nas células epiteliais do trato gastrointestinal. Os esporozoítos se diferenciam em trofozoítos e nestas células os parasitos realizam a reprodução assexuada. A parte assexuada deste ciclo compreende a diferenciação para formas posteriores (merogonia ou esquizogonia): trofozoíto → meronte tipo I → merozoíto → meronte tipo II → merozoíto → gamonte indiferenciado (MONIS; THOMPSON, 2003).

Desta etapa para frente o ciclo volta a ser sexuada ocorrendo à diferenciação do gamonte em gametas masculino e feminino. O macrogamete (feminino) é fertilizado pelo microgamete (masculino) dando origem a um zigoto e posteriormente formando um oocisto. O oocisto formado se desenvolve por esporulação endógena e a forma infectante (com quatro esporozoítos) é liberada junto com as fezes do hospedeiro (ROSE; SMITH, 1998).

O contato deste parasito com a parede gastrointestinal pode provocar má absorção de nutrientes e diarreia aquosa. Em bovinos, *C. parvum* é mundialmente reconhecido como um dos mais comuns patógenos entéricos

causador de diarreia neonatal (ANGUS, 1990). Estas infecções têm efeito negativo no desenvolvimento dos bezerros no primeiro mês de vida e conseqüentemente relevância econômica (BRENDA et al., 2004).

Em bovinos, *C. parvum* e *C. andersoni* invadem as células superficiais da mucosa do intestino e abomaso, respectivamente, mas ficam localizados fora do citoplasma sendo circundados por uma invaginação da membrana celular (BRENDA et al., 2004). Atualmente, a criptosporidiose é considerada uma doença emergente em diversos países (GRIFFITHS; TZIPORI, 1998).

### **2.1.3 Transmissão**

A criptosporidiose é uma doença resultante da ingestão de oocistos viáveis presentes no ambiente ou em alimentos contaminados. Logo após a ingestão ocorre o desencistamento, que é induzido pela temperatura corporal, ação de enzimas digestivas e sais biliares (DONOVAN; GREINER; MCCLUSKEY, 1995).

### **2.1.4 Distribuição geográfica**

Os parasitos do gênero *Cryptosporidium* têm uma distribuição mundial, podendo ser encontrados tanto em países subdesenvolvidos, como em países desenvolvidos (SLIFKO et al., 2000).

### **2.1.5 Epidemiologia**

A transmissão de *Cryptosporidium* sp. pode ser feita por diversas rotas de contaminação como, por exemplo, a veiculação hídrica e condições inadequadas de sanidade (SANTÍN et al., 2004).

A dose infectante para se desencadear um evento infeccioso é baixa, uma vez que a ingestão de apenas dez oocistos pode resultar na doença. A

susceptibilidade do hospedeiro, bem como a virulência dos oocistos também são fatores associados ao desenvolvimento da doença (FAYER et al., 2006).

*Cryptosporidium* sp. é considerado um patógeno com alto potencial zoonótico, pois um genótipo que acomete os bovinos pode resultar em infecções em seres humanos. Além da espécie *C. hominis* que possui apenas um caráter antroponótico (NEVES, 2004). Nas tabelas 2 e 3 são mostradas as frequências de *Cryptosporidium* sp. em rebanhos bovinos localizados em alguns países e estados brasileiros, respectivamente.

Tabela 2 Frequência de *Cryptosporidium* sp. em bovinos no mundo, segundo o país, autor(es) e ano

<b>País</b>	<b>Frequência (%)</b>	<b>Autor(es) e ano</b>
Alemanha	30,0	JOACHIM et al. (2003)
Canadá	5,0	RALSTON et al. (2003)
Canadá	15,0	OLSON et al. (1997)
Espanha	53,8	QUÍLEZ et al. (1996)
EUA	48,1	GARBER et al. (1994)
França	17,9	LEFAY et al. (2000)
Holanda	42,1	HUETINK et al. (2001)
Inglaterra	52,0	STURDEE et al. (2003)
Japão	93,0	UGA et al. (2000)



Tabela 3 Frequência de *Cryptosporidium* sp. em bovinos, bubalinos e equinos no Brasil, segundo o Estado, hospedeiro, frequência, autor(es) e ano

<b>Estado</b>	<b>Hospedeiro</b>	<b>Frequência (%)</b>	<b>Autor(es) e ano</b>
Minas Gerais	Bovinos	42,20	GARCIA e LIMA, (1994)
Minas Gerais	Bovinos	21,70	MAIA et al. (1995)
Rio de Janeiro	Bovinos	61,00	ALMEIDA et al. (2008)
Rio de Janeiro	Bovinos	46,40	EDERLI et al. (2004)
Rio de Janeiro	Bovinos	72,13	LOPES e SOUZA (1995)
Rio Grande do Sul	Eqüinos	75,00	GOMES et al. (2008)
São Paulo	Bovinos	42,80	FEITOSA et al. (2008)
São Paulo	Bovinos	17,30	PENA et al. (1997)
São Paulo	Bovinos	12,30	THOMAZ (2007)
São Paulo	Bubalinos	10,3	RIBEIRO et al. (2000)

### 2.1.6 Sinais clínicos

Os sinais mais comuns de infecções por *Cryptosporidium* sp. em bovinos são: depressão, letargia, desidratação dores abdominais, anorexia e diarreia profusa; este último sinal ocorre principalmente em animais jovens (ANGUS, 1990).

### 2.1.7 Controle

O controle das infecções por *Cryptosporidium* sp. é feito com práticas adequadas de higiene bem como a limpeza e desinfecção dos locais onde os bezerros são mantidos. A separação dos animais por faixas etárias também pode

ser considerado uma medida de controle às infecções por *Cryptosporidium* sp. por restringir os indivíduos a grupos que podem ser monitorados de acordo com o ciclo biológico destes protozoários (BEACH; YODER, 2010).

## 2.2 Giardiose

A primeira descrição mais detalhada sobre o gênero *Giardia* foi feita por Lambl que na ocasião classificou este organismo como sendo a espécie *Cercomonas intestinalis*. O gênero *Giardia* foi nomeado por Kunstler, em 1882, quando verificou a presença de protozoários flagelados no intestino de girinos (MONIS et al., 2009).

De acordo com a nomenclatura taxonômica o gênero *Giardia* tem a seguinte classificação (MOHAMMED; SCHAAF; WADE, 2000):

Filo: Sarcomastigophora

Classe: Zoomastigophorea

Ordem: Diplomonadida

Família: Hexamitidae

Gênero: *Giardia*

*Giardia* sp. é um protozoário binucleado e flagelado que pode infectar o trato gastrointestinal de seres humanos e várias outras espécies de vertebrados. O protozoário tem alta motilidade e multiplica-se por fissão binária no intestino de seus hospedeiros (HUETINK et al., 2001).

A taxonomia de *Giardia* possui numerosas variantes genéticas em uma única espécie de *Giardia duodenalis* (THOMPSON, 2000).

Este protozoário produz cistos, os quais são lançados para o exterior junto às fezes e transmitidos diretamente por meio do contato oral/fecal ou por ingestão de água ou alimentos contaminados (HUETINK, 2001).

O gênero *Giardia* constitui um dos principais parasitos gastrintestinais em mamíferos associados à diarreia, sendo encontrado infectando vacas lactantes, bem como, bezerros recém nascidos, mas a infecção é mais frequente em animais com cinco a dez semanas de idade (XIAO, 1994).

Bezerros infectados podem exibir diarreia crônica e perda de peso. Diante destes problemas que são resultantes das infecções por protozoários deste gênero procura-se entender todos os mecanismos de transmissão e proliferação destes patógenos e possíveis métodos profiláticos ou mitigatórios na busca de se obter rebanhos viáveis, ou seja, que tenham uma boa relação custo/benefício (MOHAMMED; SCHAAF; WADE, 2000). Na tabela 4 são representadas as espécies de *Giardia* e seus respectivos hospedeiros.

Tabela 4 Espécies do gênero *Giardia* e respectivos hospedeiros

<b>Espécie</b>	<b>Hospedeiro</b>
<i>G. duodenalis</i>	Bovinos, cães, cavalos, gatos, homem, mamíferos selvagens, primatas, roedores, e outros animais da ordem dos Artiodátilos
<i>G. agilis</i>	Anfíbios
<i>G. muris</i> ; <i>G. Microti</i>	Roedores
<i>G. psittaci</i> ; <i>G. Ardeae</i>	Pássaros

Fonte: Adaptado de AHMAD, LIM e SMITH (2008); CACCIO et al. (2005); FAYER e XIAO (2008)

### 2.2.1 Morfologia

Em seu ciclo biológico os protozoários do gênero *Giardia* apresentam dois estádios: uma forma de trofozoíto e outra de cisto.

O estágio trofozoíto possui a forma de uma pera com dimensões médias de 10 a 20 µm de comprimento por 5 a 10 µm de largura. Possui simetria

bilateral, oito flagelos e um achatamento dorso-ventral. Na superfície ventral possui um disco suctorial que ocupa dois terços da face, que pode ser observado em microscopia eletrônica (BRENDA et al., 2004).

A forma de trofozoíto é encontrada no intestino delgado e porções anteriores do jejuno. Os parasitos ficam aderidos à superfície da parede da mucosa devido ao disco ventral. Os flagelos dão ao parasito uma grande motilidade o que pode favorecer a sua permanência do parasito naquele microambiente (TROUT et al., 2005).

Já a forma de cisto deste protozoário possui o contorno elipsóide ou ovóide, com medidas que variam de 8 a 18  $\mu\text{m}$  de comprimento por 7 a 14  $\mu\text{m}$  de largura. Possui quatro núcleos circulares e são encontrados em fezes de animais infectados ou no ambiente. Esta conformação pode manter-se viável no ambiente por dois meses ou mais, dependendo das condições de umidade (ZAJAC, 1992).

### **2.2.2 Ciclo biológico**

O gênero *Giardia* desenvolve-se sobre a mucosa do intestino delgado onde se multiplica assexuadamente por divisão binária no estágio de trofozoíto, que passam pelo intestino, encistam-se e são eliminados pelas fezes (LEIB; ZAJAC, 1999).

Os cistos desse protozoário são resistentes e uma vez infectados os hospedeiros eliminam os cistos após um período pré-atente de uma a duas semanas (CERI; MORCK; OLSON, 2000).

### **2.2.3 Transmissão**

A transmissão ocorre, principalmente, por meio da ingestão de água ou alimentos contaminados com cistos de *Giardia*, mas a transmissão direta também é possível, principalmente em áreas com aglomeração de indivíduos ou animais e que possuem condições inadequadas de higiene e sanidade (CERI; MORCK; OLSON, 2000; LEIB; ZAJAC, 1999).

### **2.2.4 Distribuição geográfica e epidemiologia**

O gênero *Giardia* possui uma ampla distribuição mundial, ocorrendo em países desenvolvidos e em desenvolvimento (tabela 5). Nos países desenvolvidos, incluindo Estados Unidos da América, Canadá e Austrália, *Giardia* sp é o parasito intestinal mais encontrado em seres humanos (LYMBERY; MELONI; THOMPSON, 1990).

Em regiões com níveis baixos de desenvolvimento e que possuem condições sanitárias precárias a giardíase é considerada uma zoonose das mais importantes, mostrando uma frequência de 20% a 60% em determinadas áreas (GOLDIN et al., 1990). No Brasil (tabela 6), estudos realizados mostram que a giardíase tem maior frequência em propriedades com precárias condições sanitárias.

Tabela 5 Frequência de *Giardia* sp. em rebanhos bovinos no mundo, segundo o país, autor(es) e ano

<b>País</b>	<b>Frequência (%)</b>	<b>Autor(es) e Ano</b>
Austrália	58,0	O'HANDLEY et al. (2000)
Canadá	73,0	OLSON et al. (1997)
Canadá	100,0	RALSTON et al.(2003)
Espanha	38,0	QUILEZ et al.(1996)
EUA	20,1	MOHAMMED, SCHAAF e WADE (2000)
Holanda	54,5	HUETINK et al.(2001)
Taiwan	7,5	HSU, HSU e WUN (2007)

Tabela 6 Frequência (%) de *Giardia* sp. em animais domésticos no Brasil, segundo o Estado, hospedeiro, frequência, autor(es) e ano

<b>Estado</b>	<b>Hospedeiro</b>	<b>(%)</b>	<b>Autor(es) e ano</b>
Bahia	Cães	0,8	CAMPOS FILHO et al. (2008)
Minas Gerais	Bovinos	9,0	CARVALHO, GUEDES e GUIMARÃES(2001)
Rio de Janeiro	Bovinos	67,7	HUBER (2003)
Rio de Janeiro	Equinos	0,5	SOUZA et al. (2009)
Rio Grande do Sul	Cães	38,0	ARAÚJO (2004)
São Paulo	Cães	6,6	LOPES, SANTOS e TAKAHIRA (2001)
São Paulo	Gatos	5,9	COELHO et al. (2009)
São Paulo	Cães	12,2	SEQUEIRA et al.(2002)

### 2.2.5 Sinais clínicos

A manifestação clínica em animais domésticos infectados com *Giardia* sp. varia desde perda de peso e má absorção até diarreia crônica debilitante. O quadro de diarreia observado em infecções por *Giardia* possui as mesmas características de uma diarreia resultante por má absorção, isto se deve ao fato dos trofozoítos se fixarem nas vilosidades intestinais. As fezes possuem consistência líquida ou semilíquida (amolecidas), podendo estar esteatorréicas e com odor forte. O animal pode ainda apresentar dores abdominais, letargia, anorexia, presença de muco nas fezes, perda de peso, flatulência (ZAJAC, 1992).

Variações no quadro clínico se devem a fatores como: nível nutricional do hospedeiro, imunidade frente aos desafios e fatores referentes aos parasitos, como a virulência e a patogenicidade da cepa da *Giardia* (BRENDA et al., 2004).

### 2.2.6 Prevenção e controle

De maneira geral, a prevenção de *Giardia* inclui medidas sanitárias, educativas e de controle da infecção em animais domésticos (BRENDA et al., 2004).

Um processo importante no controle da giardiase em bovinos é a implantação de um programa zootécnico e sanitário eficaz. Outro fator que se deve evitar é o contato de animais infectados com animais saudáveis, bem como o fornecimento e/ou ingestão de água e alimentos contaminados (CAPUANO et al., 2006).

Efetuar a descontaminação do ambiente com a utilização de desinfetantes a base de amônia quaternária é também um processo que diminui a

carga de cistos viáveis no ambiente, reduzindo assim o número de animais infectados (CERI; MORCK; OLSON, 2000).

Tratamento dos dejetos e resíduos de origem animal que possam aumentar a carga parasitária no ambiente, bem como uma efetiva vigilância sanitária e treinamento dos tratadores do rebanho (XIAO, 1994).

### **2.3 Fatores de risco associados às infecções por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis***

Alguns fatores de risco têm sido relacionados às infecções por protozoários dos gêneros *Cryptosporidium* e *Giardia* em rebanhos bovinos.

Os estudos para avaliação dos fatores de risco geralmente visam só uma área específica dentro de uma região ou até mesmo uma única localidade; embora alguns estudos comparem as frequências encontradas em diferentes localidades ou países (ATWILL et al., 1999; GJERDE; HAMNES; ROBERTSON, 2006; LEFAY et al., 2000).

Para se efetuar uma avaliação mais fiel referente à realidade das propriedades e possíveis fatores de riscos, são avaliadas as medidas de manejo realizadas em cada uma e são aplicados questionários para caracterizar as fazendas estudadas; e com isto procura-se associar a presença dos protozoários com os casos de diarreia (CASTRO-HERMIDA et al., 2006; GJERDE; HAMNES; ROBERTSON, 2006; MADDOX-HYTTEL et al., 2006).

Para aumentar a evidência de um estudo como um verdadeiro fator de risco deve-se realizar a repetição dos estudos para a confirmação. Causapé et al. (2002) verificaram o tamanho das propriedades sendo um fator de risco, uma vez que existe um maior índice de positividade para *Cryptosporidium* e *Giardia* em propriedades com dimensões superiores a 100 hectares.



As condições de higiene inadequadas são também responsáveis pelo aumento da frequência de bovinos infectados por *Cryptosporidium* e *Giardia* em rebanhos leiteiros (FAYER, 1997).

Altas densidades de bezerros resultam no aumento da sobrevivência dos patógenos transmitidos pelo ar e ambiente. Em locais com grande densidade de animais por metro quadrado (m<sup>2</sup>), o estresse resultante desta concentração também favorece a diminuição das respostas imunológicas, colaborando para o surgimento de infecções (MADDOX-HYTTEL et al., 2006).

Um estudo identificou que as práticas de manejo também colaboram para aumentar as infecções por protozoários, como a alta densidade de animais em piquetes ou casinhas, e a concentração de nascimentos em determinados períodos do ano (MADDOX-HYTTEL et al., 2006).

O trânsito de funcionários é um mecanismo que pode de maneira indireta colaborar com a permanência de protozoários no ambiente, uma vez que cistos ou oocistos podem ser carregados em vestimentas e utensílios usados na limpeza e preparação das instalações onde os animais ficam alojados (CAUSAPÉ et al., 2002).

A localização das instalações onde os bezerros ficam alojados pode favorecer a instalação e manutenção dos protozoários no ambiente uma vez que, em muitos casos, estas estão situadas em níveis abaixo das utilizadas por animais mais velhos (TROTZ-WILLIAMS, 2007).

O fator “idade” influencia diretamente os índices de frequência por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis*, pois os ciclos biológicos estão atrelados ao estágio de vida dos bezerros. Geralmente, as infecções por protozoários do gênero *Giardia* ocorrem após o fim da imunidade colostrar, enquanto as infecções por *Cryptosporidium* são mais comuns em animais com idade inferior a trinta dias de vida (FAYER et al, 2006; HUETINK et al., 2001).

A compra de animais para a melhoria genética do rebanho pode ser também associada ao aumento de casos de animais positivos para *Cryptosporidium* e *Giardia*, uma vez que, a introdução de animais provenientes de diferentes rebanhos pode favorecer a entrada de agentes infecciosos (O'HANDLEY et al., 1999; RALSTON et al., 2003).

Não há relatos de relação entre raças mais susceptíveis às infecções por protozoários dos gêneros *Cryptosporidium* e *Giardia* (ALVES, 2005), entretanto deve interpretar com cautela, pois em muitos casos é necessário eliminar os fatores anteriormente citados para que haja uma avaliação correta (MOHAMMED; SCHAAF; WADE, 1999).

Fontes de águas contaminadas é outra possível forma de infecção dos rebanhos (SLIFKO et al., 2000).

O estresse térmico é um fator que favorece o surgimento de doenças parasitárias, uma vez que é capaz de desorganizar a fisiologia do animal e o desempenho produtivo. Ocorre uma diminuição no consumo de matéria seca e conseqüente queda na produção de leite e carne. Adicionalmente o estresse térmico pode contribuir para o surgimento de doenças em conseqüência da diminuição da resposta do sistema imunológico (CASTRO-HERMIDA et al., 2002).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi determinar a dinâmica da infecção, frequência e fatores de risco associados à ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* sp. e cistos de *Giardia duodenalis* em fezes de bezerras leiteiras provenientes da região do Campo das Vertentes de Minas Gerais.

#### 3.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar a dinâmica de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* em bezerras leiteiras acompanhadas desde o nascimento até doze meses de idade;
- b) Determinar a frequência de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* em bezerras de propriedades produtoras de leite B e leite cru refrigerado;
- c) Determinar a frequência de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* em fezes de bezerras coletadas nos períodos chuvoso e seco;
- d) Verificar a frequência de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* em bezerras de acordo com a faixa etária;
- e) Avaliar quais os aspectos zootécnicos e sanitários que estão associados à frequência de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis*;
- f) Verificar se há associação entre a ocorrência de diarreia em bezerras e a infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis*;
- g) Determinar quais os aspectos zootécnicos e sanitários que estão associados à ocorrência de diarreia em bezerras;

- h) Verificar a percepção dos produtores de leite sobre ocorrência de diarréia em bezerras.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi desenvolvida em duas etapas, sendo um primeiro estudo realizado em uma fazenda produtora de leite B localizada na microrregião de Lavras. O segundo estudo contou com a participação de 20 propriedades leiteiras, sendo dez produtoras de leite tipo B e dez de leite cru refrigerado, associadas à Cooperativa Agrícola Alto Rio Grande – CAARG (2009). Os estudos I e II foram realizados no período de setembro de 2008 a agosto de 2009.

### 4.1 Dados meteorológicos

Os dados mensais relativos à precipitação pluviométrica e às temperaturas médias registradas em Lavras, no período de setembro de 2008 a agosto de 2009, foram fornecidos pelo Setor de Bioclimatologia da UFLA.

### 4.2 Estudo I - dinâmica de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis* em bezerras de um rebanho leiteiro na microrregião de Lavras, MG

Neste estudo, realizado na fazenda Palmital que pertence à Universidade Federal de Lavras, localizada na cidade de Ijaci, as bezerras foram monitoradas do nascimento aos doze meses de vida, com o objetivo de avaliar a dinâmica de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis*.

#### 4.2.1 Animais e amostras fecais

A Fazenda Palmital, propriedade esta, produtora de leite tipo B, foi selecionada para avaliação da dinâmica de infecção por *Cryptosporidium* e *G.*

*duodenalis* por apresentar características semelhantes às fazendas pertencentes às três mesorregiões amostradas no estudo II. Foram coletadas 407 amostras fecais de 33, com um intervalo de quinze dias entre uma visita e outra.

A propriedade adota o sistema intensivo (“*free stall*”) e as vacas são tratadas com silagem de milho e concentrado. A propriedade possui 80 vacas da raça holandesa em lactação e uma produção média diária de 2.000 litros de leite, e conta com assistência veterinária constantemente.

Os animais são vacinados todos os anos contra clostridiose, raiva, leptospirose, IBR e as vacinas obrigatórias (febre aftosa e brucelose). Adicionalmente, os animais recebem anti-helmínticos.

Os bezerros são criados presos, individualmente, com corrente em estacas, as quais periodicamente são mudadas de local. Estas estacas são colocadas entre fileiras de capim napier que serve como sombra e quebra-vento. O fornecimento de colostro é feito através de mamadeiras e o aleitamento é realizado em baldes, devidamente higienizado. No período de aleitamento, são fornecidos quatro litros de leite diariamente, sendo dois litros na parte da manhã e o restante na parte da tarde. A partir dos 61 dias de vida, o fornecimento de leite reduz para dois litros diários até a desmama, que ocorre por volta de 90 dias após o nascimento. Posteriormente, os animais são transferidos para piquetes coletivos onde a lotação média é de 10 animais por hectare.

#### **4.3 Estudo II – fatores de risco associados à infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* em bezerras leiteiras provenientes da região do Campo das Vertentes – Sul de Minas Gerais**

Vinte propriedades foram selecionadas aleatoriamente de uma lista de produtores rurais associados à Cooperativa Agrícola Alto Rio Grande – CAARG, (2009), com sede no município de Lavras - MG, contemplando dez fazendas que produzem leite tipo “B” e dez o leite cru refrigerado (LCR). As

propriedades foram visitadas uma única vez, no momento em que foram aplicados questionários para levantar as características zootécnicas e sanitárias dos rebanhos. A nomenclatura para a classificação do tipo de leite produzido foi fornecida pela CAARG (2009).

Segundo a instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002):

- a) entende-se por leite B o produto integral quanto ao teor de gordura, refrigerado em propriedade rural produtora de leite e nela mantido pelo período máximo de 48h (quarenta e oito horas), em temperatura igual ou inferior a 4°C (quatro graus Celsius), que deve ser atingida no máximo 3 h (três horas) após o término da ordenha, transportado para estabelecimento industrial, para ser processado, onde deve apresentar, no momento do seu recebimento, temperatura igual ou inferior a 7°C.
- b) entende-se por leite cru refrigerado o produto não submetido a qualquer tipo de tratamento térmico na fazenda leiteira onde foi produzido. E entende-se por leite integral o produto quanto ao teor de gordura, transportado em vasilhame adequado e individual de capacidade até 50 L (cinquenta litros) e entregue em estabelecimento industrial adequado ou posto de refrigeração até as 10 h (dez horas) do dia de sua obtenção e mantido em temperatura igual ou inferior a 4°C.

#### **4.3.1 Caracterização das áreas amostradas**

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o estado de Minas Gerais é dividido em 12 mesorregiões (figura 1). A cidade de Lavras fica localizada na mesorregião denominada Campo das Vertentes e é

composta por 36 municípios divididos em três microrregiões: Lavras, São João Del Rei e Barbacena. Foram coletadas amostras em 18 propriedades localizadas na mesorregião do Campo das Vertentes (IBGE, 2009).

A microrregião de Lavras é composta por nove municípios e possuía no ano de 2006 uma população estimada de aproximadamente 145.000 habitantes (IBGE, 2009).

Segundo a classificação de KOPPEN, a mesorregião Campo das Vertentes possui o clima do tipo CWA (subtropical / tropical de altitude), com as estações do ano bem definidas. A estação denominada “seca” compreende os meses de abril a setembro sendo os meses de junho e julho os meses de menores temperaturas e menores índices de umidade relativa do ar. Por sua vez a estação denominada “chuvosa” compreende os meses de outubro a março, com os maiores índices pluviométricos nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro.

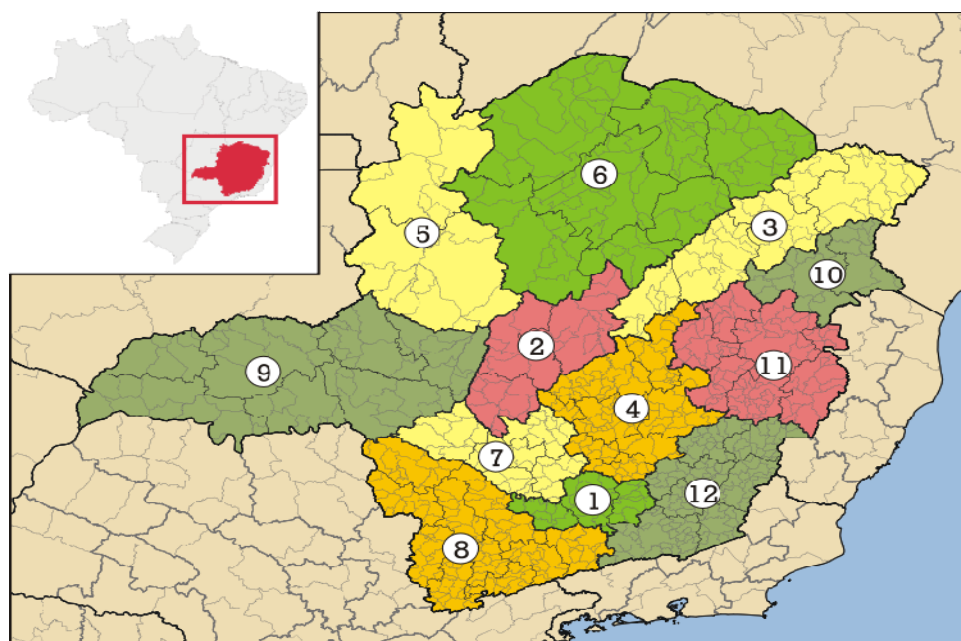
Com um total de 45.000 vacas ordenhadas e com uma produção anual média de mais de 110 milhões de litros de leite, a microrregião de Lavras destaca-se como um importante polo de produção leiteira.

A mesorregião Sul e Sudoeste de Minas são compostas por 146 municípios divididos em 10 microrregiões. A cidade de Boa Esperança situa-se dentro da Microrregião de Varginha e fez parte dos municípios amostrados por este estudo. O município de Boa Esperança possui um regime de chuvas com precipitação média anual de 1.500 mm. A temperatura média anual fica em torno dos 19°C. Segundo o censo agropecuário de 2008, o município conta com 28.650 bovinos (IBGE, 2009).

O estudo contou ainda com uma cidade localizada na mesorregião do Oeste de Minas, que é formada por 44 municípios divididos em cinco microrregiões, entre estes municípios está Bom Sucesso. O município possui uma temperatura média anual de 19,9 °C, com uma precipitação média anual de



1.600mm. Possui um efetivo bovino com aproximadamente 37.000 bovinos e cerca de 13.000 vacas ordenhadas por ano (IBGE, 2009).



Fonte: Minas Gerais (2010)

Figura 1 Mapa com as 12 mesorregiões do estado de Minas Gerais

- |                                    |                                  |
|------------------------------------|----------------------------------|
| 1. Campo das Vertentes             | 7. Oeste de Minas                |
| 2. Central Mineira                 | 8. Sul e Sudoeste de Minas       |
| 3. Jequitinhonha                   | 9. Triângulo Mineiro e Paranaíba |
| 4. Metropolitana de Belo Horizonte | 10. Vale do Mucuri               |
| 5. Noroeste de Minas               | 11. Vale do Rio Doce             |
| 6. Norte de Minas                  | 12. Zona da Mata                 |

#### 4.3.2 Animais e amostras fecais

Neste experimento, foram utilizadas, no mínimo, 15 bezerras puras (holandês) ou mestiças (holandês x zebu) por propriedade, desde recém nascidos

(um dia de vida) até animais com doze meses de idade, nascidos nos períodos seco (abril a setembro) e chuvoso (outubro a março).

Foram coletadas 356 amostras de fezes de bezerras de um dia de vida a 12 meses de idade, procedentes de vinte fazendas produtoras de leite, no período de setembro de 2008 a agosto de 2009. As propriedades foram divididas em dois grupos: I – dez fazendas de leite tipo B e II – dez fazendas de leite cru refrigerado.

Essas propriedades foram visitadas uma única vez cada e no momento da coleta das amostras foram aplicadas entrevistas aos produtores levantando as principais características das fazendas, que serviram de variáveis independentes para este estudo.

#### **4.4 Exames coprológicos realizados nos estudos I e II**

As amostras fecais foram coletadas diretamente do reto das bezerras, acondicionadas em sacos plásticos individuais, onde foi identificado cada animal, e registrada a data de nascimento, nome da propriedade e o dia da coleta.

##### **4.4.1 Coleta e classificação das amostras fecais**

O processamento das amostras fecais para a pesquisa de (oo)cistos de *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* foi realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (DMV/UFLA).

As amostras fecais foram classificadas de acordo com a sua consistência no momento da coleta. Aquelas que apresentaram consistência firme ou pastosa foram classificadas como normais, e as com consistência líquida ou semilíquida foram como diarreicas (SILVERLAS et al., 2009).

#### **4.4.2 Determinação da frequência e intensidade de eliminação de oocistos de *Cryptosporidium* sp. e cistos *Giardia duodenalis***

Foram preparadas lâminas utilizando-se o método de Ziehl Neelsen para a identificação de oocistos de *Cryptosporidium* sp. (BAXBY; BLUNDELL; HART, 1984), e o método de flutuação em sulfato de zinco a 33% para a pesquisa de cistos de *G. duodenalis* (HUBER, 2003).

A quantidade de *G. duodenalis* foi estimada pela contagem de cistos em microscópio óptico, com aumento de 400 x, percorrendo toda a extensão da lamínula de dimensão 20 x 20 mm. Já para a contagem de oocistos de *Cryptosporidium* sp. foi percorrido todo o esfregaço fecal com aproximadamente 1 cm de diâmetro, com aumento de 1000x.

Para determinar a intensidade de excreção de oocistos de *Cryptosporidium* sp. e cistos de *G. duodenalis* foi utilizado o modelo proposto por GUIMARÃES et al. (2009), onde se percorre toda a lâmina confeccionada. Foram definidos os seguintes escores: (-) negativo para oocistos e cistos, (+)  $\leq 5$  (oo)cistos/lâmina examinada; (++) 6 a 10 (oo)cistos/lâmina examinada; (+++)  $\geq 10$  (oo)cistos/lâmina examinada.

#### **4.4.3 Morfometria de oocistos de *Cryptosporidium* sp. e cistos de *Giardia duodenalis***

Nas amostras positivas para *Cryptosporidium* sp. foi calculado o índice morfométrico dividindo-se o diâmetro maior pelo diâmetro menor dos oocistos. O índice morfométrico é um parâmetro utilizado para indicar uma possível espécie de protozoário por meio da análise morfológica e de suas dimensões (ALMEIDA et al. 2008).

Foram mensurados o comprimento e a largura dos cistos de *Giardia* sp. buscando uma melhor categorização das cepas presentes em bezerras leiteiras dos estudos I e II.

#### **4.5 Aplicação de questionários**

Foi aplicado um questionário com o intuito de se obter uma caracterização completa das propriedades, podendo assim avaliar os possíveis fatores associados à disseminação de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp.; o conhecimento dos proprietários e/ou responsáveis sobre a diarreia, e qual procedimento é adotado para a resolução deste problema. O questionário abordou principalmente as atividades desenvolvidas na propriedade, tamanho da fazenda, qual o espaço utilizado para a atividade pecuária, e o número total de animais.

O questionário avaliou como é feito o manejo das vacas gestantes e das bezerras. Quantas ordenhas e qual é o destino do leite no período pós-parto. Verificou como é feita a imunização do rebanho e quais as vacinas são aplicadas e se é fornecido colostro para as bezerras recém nascidas. Analisou se existem outros tipos de criações e qual a possível influência das mesmas nos rebanhos de bovinos do estudo II (Anexo A).

#### **4.6 Análise estatística**

Para a análise estatística foi montado um banco de dados que foi analisado pelos programas SPSS 17.0 e EPIDATA 3.1. As análises foram processadas para cada fazenda separadamente.

A análise estatística descritiva foi realizada para cada variável. Para a comparação das médias foi utilizada a ANOVA ou Teste T. Foram testadas as

variáveis que caracterizam as propriedades de leite B e leite cru refrigerado, para observar aquelas que os diferenciam.

Em seguida, foram feitas análises entre níveis de frequência de *Cryptosporidium* sp. *G. duodenalis* nos rebanhos (variável dependente) com as variáveis coletadas pelo questionário (variáveis independentes).

Para avaliar a associação entre as variáveis qualitativas foi realizado o teste qui-quadrado ou Exato de Fisher. Foi calculada a *Odds ratio* para àquelas que demonstraram associação ( $p < 0,05$ ).

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Condições climáticas**

O sul de Minas Gerais apresenta duas estações bem definidas, uma chuvosa (setembro a março), que concentra a precipitação pluviométrica e uma seca (abril a agosto), com índices pluviométricos inferiores a 50 mm e temperaturas médias inferiores a 20°C (MINUZZI et al., 2007).

Foram observadas variações no volume das chuvas durante o período experimental dos estudos I e II. O mais alto nível de precipitação pluvial foi de 419,4 mm no mês de dezembro de 2008, já o menor foi registrado no mês de julho de 2009 com 13,9 mm. A temperatura média mais alta (23,3°C) foi registrada no mês de fevereiro/09, enquanto que a mais baixa (16,2°C) ocorreu no mês de junho/09.

Na figura 2 podem ser observadas as médias mensais de temperatura e precipitação pluvial durante todo o período experimental.

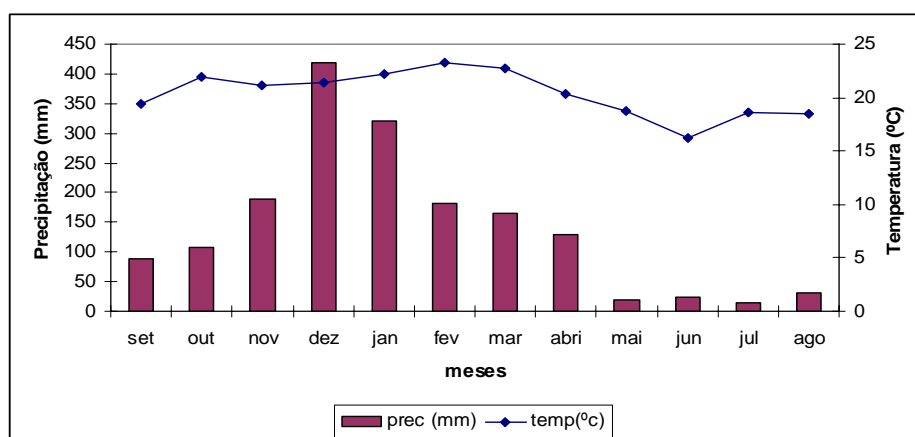


Figura 2 Médias mensais de temperatura e precipitação durante o período de setembro de 2008 a agosto de 2009, no município de Lavras, MG

## 5.2 Estudo I - dinâmica de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis* em bezerras de um rebanho leiteiro na microrregião de Lavras, MG

Na Fazenda Palmital os bovinos são mantidos em locais onde existe um rodízio das instalações de acordo com a faixa etária. As bezerras entre 1 a 90 dias de idade são mantidas em uma área acima e distante do curral. Essas bezerras são presas por meio de uma corrente afixada a uma estaca. Após 90 dias de vida, quando ocorre a desmama, as bezerras são transferidas para piquetes localizados em uma área abaixo àquela onde ficavam na fase de aleitamento.

Estes piquetes eram compostos por pasto com dimensões aproximadas de um hectare e possuíam em média 10 animais.

### 5.2.1 Frequência e morfometria de oocistos de *Cryptosporidium* sp.

A frequência média global de bezerras eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. na fazenda Palmital foi de 87,87% (29/33), para os animais

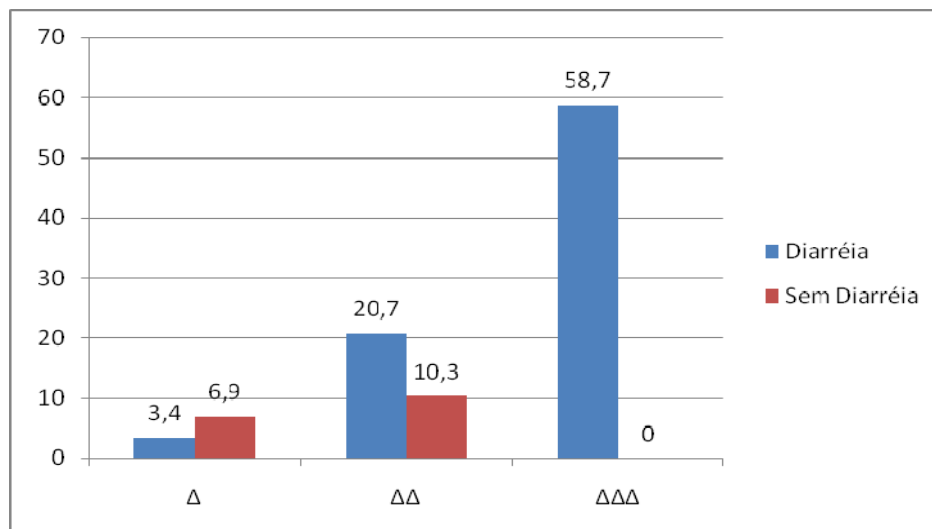
acompanhados do nascimento aos 12 meses de idade. A frequência acumulada de bezerras eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. de acordo com a faixa etária, foi de 72,42% entre zero e 21 dias e 100%, entre 22 e 35 dias de idade.

No presente estudo foi observado que todas as bezerras positivas para *Cryptosporidium* sp. em algum momento durante o período experimental apresentaram fezes diarréicas. As primeiras amostras fecais positivas para *Cryptosporidium* sp. foram observadas em média com oito e onze dias de idade, para as estações chuvosa (setembro a março) e seca (abril a agosto), respectivamente.

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para a média de idade das primeiras amostras fecais positivas por *Cryptosporidium* sp. entre as estações seca e chuvosa. A idade média global das primeiras amostras positivas foi de 9,5 dias. Entretanto, amostra de fezes positiva para *Cryptosporidium* sp. foi observada em uma bezerra com cinco dias de idade, que apresentava quadro de diarréia e desidratação. O animal que eliminou oocistos de *Cryptosporidium* sp. mais tardiamente foi aos 16 dias de idade.

As bezerras com uma intensidade maior de eliminação de oocistos, apresentaram um quadro de diarréia profusa, enquanto que aquelas que com intensidade leve ou moderada eram assintomáticas ou com diarréia branda (Figura 3).





(Δ)= <5 oocistos/esfregaço fecal; (ΔΔ)= 5 a 10 oocistos/esfregaço fecal; (ΔΔΔ)= >10 oocistos/esfregaço fecal

Figura 3 Frequência (%) de bezerras leiteiras eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. de acordo com a intensidade e consistência das fezes, fazenda Palmital, microrregião de Lavras, MG

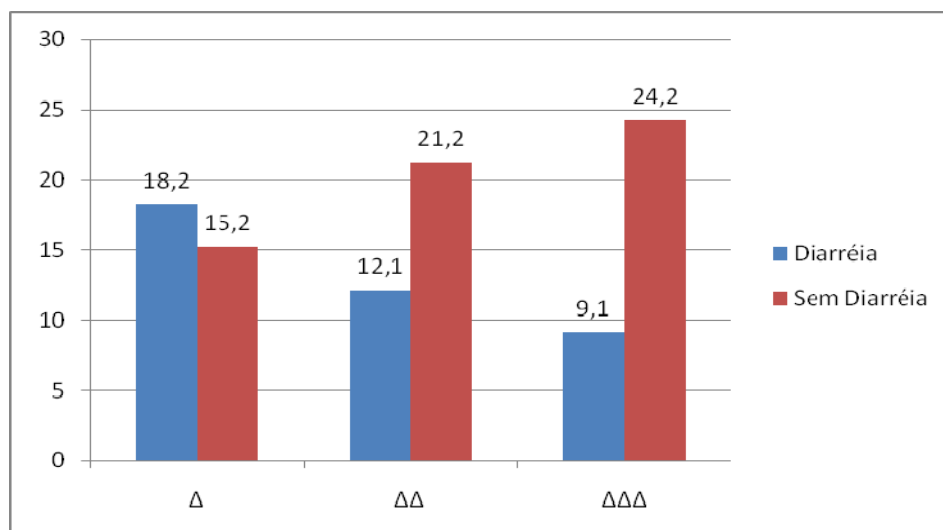
Foram medidos os diâmetros de 100 oocistos de *Cryptosporidium* sp. com o intuito de identificar qual a provável espécie que acomete as bezerras mantidas na fazenda Palmital. Os valores médios encontrados foram de 4μm e 5μm para os diâmetros menor e maior, respectivamente, e o índice morfométrico calculado foi de 1,2μm

### 5.2.2 Frequência e morfometria de cistos de *Giardia*

A frequência de bezerras eliminando cistos de *Giardia* foi de 100% (33/33) englobando todo o período experimental (12 meses). A frequência acumulada de animais eliminando cistos de *Giardia*, de acordo com a faixa etária, foi de 15,15% entre 30 a 60 dias, 79% entre 61 a 120 dias e 100% entre 121 a 180 dias de idade.

Para as bezerras nascidas no período chuvoso (setembro a março), as primeiras amostras fecais infectadas com *Giardia* sp. foram observadas, em média, aos 35 dias de idade. Já para as bezerras nascidas no período seco (abril a agosto), as primeiras amostras fecais infectadas com *Giardia* foram observadas, em média, aos 27 dias de idade. Apesar das bezerras apresentarem amostras fecais positivas, em média, entre 27 e 35 dias de vida, a presença de amostras fecais positivas para *Giardia* variou a partir de 15 dias até 65 dias de idade.

Na figura 4, pode-se observar a intensidade de eliminação de cistos de *Giardia* em bezerras na fazenda Palmital. Cerca de 60,6% das amostras fecais possuíam consistência normal (firme ou pastosa), e 39,4% eram diarréicas (líquidas ou semilíquidas).



(Δ) <5 cistos/lâmina examinada; (ΔΔ) 6 a 10 cistos/lâmina examinada; (ΔΔΔ) >10 cistos/lâmina examinada

Figura 4 Frequência (%) de bezerras leiteiras eliminando cistos de *G. duodenalis*, de acordo com a intensidade e a consistência das fezes, fazenda Palmital, microrregião de Lavras, MG

Foram medidos os valores do comprimento e da largura de 100 cistos de *G. duodenalis* presentes nas fezes das bezerras. O valor médio do diâmetro foi de 13 µm de comprimento e de 9µm para a largura média.

### **5.3 Estudo II - fatores de risco associados à infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* em bezerras leiteiras provenientes da região do Campo da Vertentes – Sul de Minas Gerais**

As fazendas com produção de leite situadas no Campo das Vertentes, no sul do estado de Minas Gerais eram compostas na sua grande maioria por rebanhos da raça holandesa. As bezerras entre 1 a 90 dias de idade eram mantidas em piquetes individuais ou coletivos, e as propriedades possuíam diferentes condições sanitárias, que foram devidamente classificadas no momento da aplicação do questionário. Nestas propriedades foram analisados fatores que poderiam favorecer a manutenção e/ou proliferação destes patógenos.

#### **5.3.1 Caracterização das propriedades leiteiras**

Na tabela 7 são representadas às características das vinte propriedades leiteiras envolvidas neste estudo, que foram divididas em dois grupos, de acordo com o tipo de leite produzido, sendo dez de leite tipo B (LB) e dez de leite cru refrigerado (LCR). Parâmetros como área total da propriedade, número médio de vacas em lactação, e produção média de leite fazenda/dia tiveram uma diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

Tabela 7 Parâmetros descritivos de dez propriedades produtoras de leite B (LB) e dez de leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais

Característica	Média ± dp (Mínimo – Máximo)	
	LB	LCR
Área total da propriedade (ha)	127,8 ± 88,51 <sup>a</sup> (84 a 352)	50,4 ± 23,63 <sup>b</sup> (22 a 90)
Área da propriedade destinada à criação de bezerro (ha)	5,57 ± 7,75 <sup>a</sup> (1 – 24,2)	3,25 ± 2,53 <sup>a</sup> (1 – 7,26)
Número médio de vacas em lactação	90,3 ± 91,62 <sup>a</sup> (30 – 340)	33,5 ± 7,48 <sup>b</sup> (23 – 45)
Produção total média leite fazenda /dia	1568,5 ± 2284,9 <sup>a</sup> (400– 8.000)	304 ± 1 58,82 <sup>b</sup> (150 – 700)
Produção média de leite por vaca/dia (litros)	15,01 ± 3,54 <sup>a</sup> (11,25 – 17,28)	8,82 ± 2,50 <sup>a</sup> (6,92 – 15,55)
Número médio de bezerras	53 ± 56 <sup>a</sup> (18 – 205)	25 ± 4,6 <sup>b</sup> (18 – 31)

Valores seguidos por letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ )

Na tabela 8 observa-se algumas características zootécnicas e de manejo das propriedades de LB e LCR. Pode-se observar que nas propriedades de LB, 90% dos bovinos são criados no sistema semi-intensivo, enquanto nas fazendas de LCR, 40% dos animais são mantidos no sistema extensivo.

Tabela 8 Características zootécnicas de dez propriedades produtoras de leite B (LB) e dez de leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais

Característica	Frequência (%)	
	LB	LCR
Tipo de ordenha		
Mecânica	100	10
Manual	0	90
Composição racial do rebanho		
Puro	60	10
Mestiço	0	80
Ambos	40	10
Sistema de criação dos animais		
Intensivo	10	0
Semi-intensivo	90	60
Extensivo	0	40
Tipo de alimentação do rebanho		
Pasto	0	60
Pasto + concentrado no cocho	20	40
Confinado (concentrado+ volumoso no cocho)	80	0
Modo de reposição dos animais de descarte		
Com animais do próprio rebanho	80	100
Compra de novos animais	10	0
Ambos	10	0

Ainda com relação às características zootécnicas das propriedades, foi observado que todas as fazendas fornecem colostro para as bezerras após o nascimento. Das propriedades analisadas, apenas duas que produzem LB criam as bezerras em instalações com piso cimentado, sendo que a maior parte das fazendas de LCR mantém as bezerras em piquetes coletivos com o piso coberto por pasto (Tabela 9).

Tabela 9 Características zootécnicas das propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), em relação à criação de bezerras, no estado de Minas Gerais

Características	Frequência (%)	
	LB	LCR
Época de maior nascimento de bezerro		
Chuvoso	10	20
Seco	70	50
Ano todo	20	30
É fornecido o colostro?		
Sim	100	100
Não	0	0
Faz uso da sonda?		
Sim	0	0
Não	100	100
Possui banco de colostro?		
Sim	0	0
Não	100	100

...”continua”...

“Tabela 9 conclusão.”

Como é fornecido o leite para as bezerras?

Mamadeira	50	20
Balde	50	0
Mama na vaca	0	80

Instalações da fase de aleitamento

Casinha	90	20
Piquete	0	80
Baia	10	

Piso das instalações da fase de aleitamento

Terra	40	0
Pasto	50	100
Cimento	10	0

Local da pós-desmama

Baia	20	0
Piquete	80	100

Critério para a desmama

Idade	80	100
Consumo de ração	20	0

Idade para a desmama

60 dias	10	0
90 dias	70	20
120 dias	20	60
>120 dias	0	20

---

Observa-se na Tabela 10 as características zootécnicas e sanitárias consideradas importantes para a manutenção ou não dos parasitos no ambiente.

Tabela 10 Parâmetros zootécnicos e sanitários de propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais

Característica	Frequência %	
	LB	LCR
As bezerras com diarreia são separadas das sadias?		
Sim	80	30
Não	20	70
Posição (em rel. curral) das instalações da fase de aleitamento		
Abaixo	20	40
Acima	40	30
Próximo	10	30
Distante	30	0
Higiene das instalações		
Ruim	0	50
Regular	20	30
Boa	60	20
Ótima	20	0



### 5.3 2 Frequência de *Cryptosporidium* sp.

A frequência média global de bezerras eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. foi de 21,62%. Na Figura 5 observa-se a frequência média mensal de animais infectados por *Cryptosporidium* sp. ao longo do período de doze meses. O maior número de bezerras eliminando oocistos *Cryptosporidium* sp. ocorreu entre os meses de dezembro/08 a fevereiro/09, nas propriedades que produzem LCR.

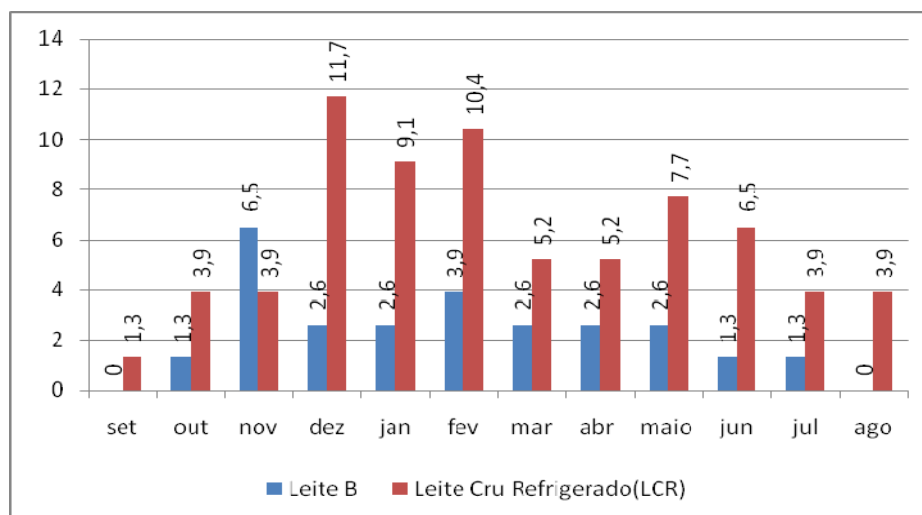


Figura 5 Frequência (%) média mensal de infecção por *Cryptosporidium* sp. durante o período experimental de doze meses, em bezerras de propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais

O pico de bezerras eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. ocorreu na faixa etária de zero a 21 dias de idade (Tabela 11). Foi observada uma associação significativa ( $p < 0,05$ ) entre a frequência de animais eliminando oocistos e a faixa etária entre 8 a 14 dias de idade.

Tabela 11 Frequência (%) média de eliminação de oocistos de *Cryptosporidium* sp. de acordo como a faixa etária, em bezerras de propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais

Propriedade	Faixa etária (dias)				
	0 a 7 %	8 a 14 %	15 a 21 %	22 a 30 %	≥ 31 %
LB	5,1	15,5	5,1	-	-
LCR	20,7	29,1	18,1	3,8	2,6
<b>Total</b>	<b>25,8</b>	<b>44,6</b>	<b>23,2</b>	<b>3,8</b>	<b>2,6</b>

Foi observada variação na frequência de infecção por *Cryptosporidium* sp. entre propriedades que produzem o mesmo tipo de leite (LB). Foram registradas fazendas com 100% das bezerras amostradas negativas e propriedades onde o taxa de infecção foi de 27,27% (Tabela 12).

Tabela 12 Frequência (%) média de *Cryptosporidium* sp. em fezes de bezerras de dez propriedades produtoras de leite tipo B, no estado de Minas Gerais

Propriedade	Nº de bezerras	Nº de amostras	Nº de animais	Frequência
		Coletadas	Positivos	(%)
A	40	17	4	23,52
B	29	16	0	0
C	42	22	6	27,27
D	32	19	5	26,31
E	205	21	2	9,52
F	29	16	0	0
G	80	18	3	16,66
H	18	18	0	0
I	25	19	0	0
J	30	18	0	0

A frequência média de bezerras positivas para *Cryptosporidium* sp. variou de 17,64% a 45,0%, nas propriedades que produzem leite cru refrigerado (LCR) (Tabela 13).

Tabela 13 Frequência (%) média de *Cryptosporidium* sp. em fezes de bezerras de dez propriedades produtoras de leite cru refrigerado, no estado de Minas Gerais

Propriedade	Nº de bezerras	Nº de amostras		Frequência (%)
		Coletadas	Positivos	
K	24	17	3	17,64
L	30	18	5	27,77
M	26	16	7	43,75
N	31	17	5	29,41
O	28	19	6	31,57
P	18	16	5	31,25
Q	21	16	4	26,0
R	30	17	7	41,17
S	22	20	9	45,0
T	20	16	6	37,5

Bezerras mantidas em piquetes coletivos (n=190), em ambos os sistemas de produção de leite, foram mais acometidas por *Cryptosporidium* sp. e foi observada uma associação significativa ( $p < 0,01$ ) com um aumento no risco de infecção (OR=4,88) dos animais mantidos neste tipo de instalação (Tabela 14).

Tabela 14 Frequência (%) média de bezerras positivas para *Cryptosporidium* sp. segundo o tipo de instalação, provenientes de propriedades leiteiras do estado de Minas Gerais

Tipo de Instalação	Animais Positivos	
	Nº	%
Coletivo	62	80,51
Individual	15	19,49
<b>Total</b>	<b>77</b>	<b>100</b>

A intensidade da excreção de oocistos de *Cryptosporidium* sp. variou entre as bezerras de uma mesma propriedade (Tabelas 15 e 16).

Tabela 15 Número de bezerras eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. de acordo com a intensidade, em propriedades produtoras de leite B, no estado de Minas Gerais

Propriedade	<i>Cryptosporidium</i> sp.		
	(+)	(++)	(+++)
A	1	1	2
B	-	-	-
C	-	3	3
D	2	1	2
E	-	-	2
F	-	-	-
G	3	-	-
H	-	-	-
I	-	-	-
J	-	-	-
<b>Total (%)</b>	<b>10(100)</b>	<b>6 (30)</b>	<b>9 (45)</b>

(-)= Negativo; (+)  $\leq$  5 oocistos/campo examinado; (++) = 6 a 10 oocistos/ campo examinado; (+++)  $\geq$  10 oocistos/campo examinado

Tabela 16 Número de bezerras eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. de acordo com a intensidade, em propriedades produtoras de leite cru refrigerado, no estado de Minas Gerais

Propriedade	<i>Cryptosporidium</i> sp.		
	(+)	(++)	(+++)
K	1	2	-
L	1	3	1
M	3	2	2
N	3	2	-
O	2	2	2
P	1	1	3
Q	3	1	-
R	2	2	3
S	4	3	2
T	1	3	2
<b>Total(%)</b>	<b>10(100)</b>	<b>21 (36,8)</b>	<b>15 (26,4)</b>

(-) Negativo; (+)  $\leq 5$  oocistos/campo examinado; (++) 6 a 10 oocistos/campo examinado; (+++)  $\geq 10$  oocistos/campo examinado

Nas amostras positivas para *Cryptosporidium* sp. foram mensurados os diâmetros maior e menor de 160 oocistos e foi calculado o índice morfométrico (Tabela 17).

Tabela 17 Medidas ( $\mu\text{m}$ ) de oocistos de *Cryptosporidium* sp. em fezes de bezerras provenientes de rebanhos leiteiros, no estado de Minas Gerais

<b>Parâmetros avaliados</b>	<b>Média e desvio padrão (medidas em <math>\mu\text{m}</math>)</b>
Diâmetro maior	$5,0 \pm 0,55$
Diâmetro menor	$4,0 \pm 0,52$
Índice Morfométrico	$1,2 \pm 0,28$

### 5.3.3 Fatores de risco para *Cryptosporidium* sp.

Observa-se neste estudo que as propriedades produtoras de leite Cru refrigerado (LCR) têm duas vezes mais chance de ter animais infectados por *Cryptosporidium* quando comparadas com aquelas que produzem leite B (LB). Nas fazendas onde as instalações destinadas aos bezerros estão situadas próximo ou abaixo do curral o risco de infecções por *Cryptosporidium* sp. é maior. Além destes fatores, as condições de higiene inadequadas na criação das bezerras apresentaram um maior risco de infecção por *Cryptosporidium* sp. (Tabela 18).

Tabela 18 Fatores de risco para infecção por *Cryptosporidium* sp. em bezerras provenientes de propriedades leiteiras, no estado de Minas Gerais

Fatores	Categorias	Animais		Valor de p*	Odds ratio	I. C. (95%)
		(+)	(-)			
Tipo de aleitamento	Natural	54	101	<0,01	4,14	2,32 a 7,42
	Artificial	23	178			
Instalações	próximo ao curral	48	128	= 0,01	1,95	1,13 a 3,39
	distante do curral	29	151			
Produção	leite cru refrigerado	57	115	<0,01	4,06	2,24 a 7,43
	leite B	20	164			
Higiene das instalações	Inadequada	49	126	<0,01	2,13	1,22 a 3,70
	Adequada	28	153			

(+) bezerras com oocistos nas fezes; (-) bezerras sem oocistos nas fezes. \*Qui-quadrado

O risco frente às infecções por *Cryptosporidium* sp. é influenciado de acordo com a estação do ano (seca e chuvosa). O mesmo quadro se repete quando se compara os diferentes sistemas de produção de leite (LB e LCR) dentro de cada estação. As propriedades que produzem LCR têm um maior risco às infecções por *Cryptosporidium* sp. (Tabela 19).



Tabela 19 Risco de infecção por *Cryptosporidium* sp. em relação às estações do ano, em bezerras provenientes de propriedades leiteiras, no estado de Minas Gerais

Fatores	Categorias	Animais		Valor de p*	Odds ratio	I. C. (95%)
		(+)	(-)			
Período	Chuvoso	48	131	<0,01	1,87	1,08 a 3,24
	Seco	29	148			
Propriedades LCR*	Período chuvoso	34	54	<0,01	3,46	1,61 a 7,53
Propriedades de leite B	Período chuvoso	14	77		1,00	
Propriedades LCR*	Período seco	23	61	<0,01	5,47	1,96 a 16,03
Propriedades de leite B	Período seco	6	87		1,00	

\*LCR= leite cru refrigerado. (+) bezerras com oocistos nas fezes; (-) bezerras sem oocistos nas fezes. \*Qui-quadrado

Do total de bezerras que receberam colostro no período de seis horas após o nascimento (n= 227), 17,20% foram positivas para *Cryptosporidium* sp. Já os animais que receberam o colostro após esse período (n= 129), 29,46% foram positivos. O fornecimento de colostro nas seis primeiras horas de vida apresentou um efeito positivo ( $p<0,01$ ) na redução do risco à infecção por *Cryptosporidium* sp. (Tabela 20).

A permanência das bezerras no piquete maternidade acima de 12 h após o nascimento aumentou significativamente ( $p<0,01$ ) o risco à infecção por *Cryptosporidium* sp. (Tabela 20).

O fornecimento de água e concentrado na primeira semana de vida e a permanência das bezerras em locais com o piso composto por pasto foram

fatores que aumentaram significativamente o risco de infecção por *Cryptosporidium* sp. (Tabela 20).

Tabela 20 Risco de infecção por *Cryptosporidium* sp. de acordo com as práticas de manejo adotadas na criação de bezerras, em propriedades leiteiras no estado de Minas Gerais

Fatores	Categorias	Animais		Valor de p*	Odds ratio	I. C. (95%)
		(+)	(-)			
Água e concentrado	1ª vez até 7 dias de vida	48	95	<0,01	3,21	1,64 a 5,60
	1ª vez acima de 7 dias de vida	29	184		1,00	
Permanência das bezerras no piquete maternidade	Até 12 h após o nascimento	34	229	<0,01	1,00	3,25 a 10,36
	Acima de 12 h após o nascimento.	43	50		5,79	
Fornecimento de colostro	Até 6 h após nascimento	39	188	<0,01	1,00	1,17 a 3,47
	Acima de 6 h após nascimento	38	91		2,01	
Tipo de piso	Pasto	57	210	<0,01	2,75	1,20 a 6,53
	Cimentado, areia ou terra	8	81		1,00	

(+) bezerras com oocistos nas fezes; (-) bezerras sem oocistos nas fezes. \*Qui-quadrado.

#### 5.4 Frequência de *Giardia duodenalis*

A frequência média global de bezerras eliminando cistos de *G. duodenalis* foi de 25,56% (91/356), sendo 34% e 66% para propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), respectivamente.

A figura 6 representa a frequência média mensal de infecções por *G. duodenalis* em bezerras provenientes de propriedades produtoras de LB e LCR no período de doze meses. Observa-se que nas fazendas de LB a menor taxa de infecção foi detectada no mês de setembro/08, e a maior frequência foi registrada em novembro/08.

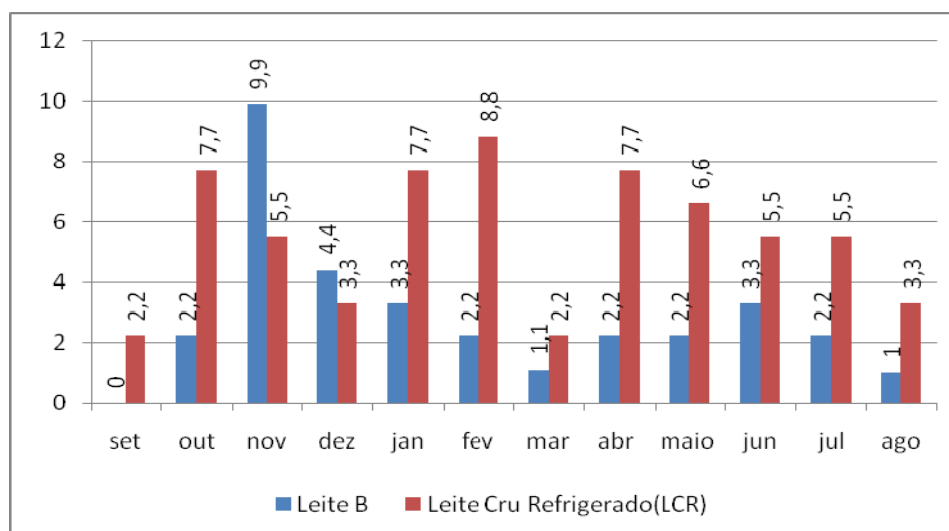


Figura 6 Frequência (%) média mensal de infecção por *G. duodenalis*, durante o período de doze meses, em bezerras provenientes de propriedades leiteiras no estado de Minas Gerais

Foi observada uma maior taxa de eliminação de cistos de *G. duodenalis* nas fezes de bezerras na faixa etária entre dois a três meses de idade (Tabela 21).

Tabela 21 Frequência (%) média de bezerras eliminando cistos de *G. duodenalis*, de acordo como a faixa etária, provenientes de propriedades produtoras de leite B (LB) e leite cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais

Propriedades	Faixa etária (meses)				
	0 a 1 %	2 a 3 %	3 a 4 %	5 a 6 %	>6 %
LB	9,9	13,2	11,0	-	-
LCR	11,0	38,4	12,1	3,2	1,2
<b>Total</b>	<b>20,9</b>	<b>51,6</b>	<b>23,1</b>	<b>3,2</b>	<b>1,2</b>

As taxas médias de infecção por *G. duodenalis* em bezerras provenientes de fazendas de LB variou de zero a 63,15% (Tabela 22).

Tabela 22 Frequência (%) média de *G. duodenalis* em fezes de bezerras provenientes de propriedades produtoras de leite B, no estado de Minas Gerais

Propriedade	Nº de bezerras	Nº de amostras Coletadas	Nº de animais Positivos	Frequência (%)
A	40	17	8	47,06
B	29	16	0	0
C	42	22	11	50
D	32	19	12	63,15
E	205	21	0	0
F	29	16	0	0
G	80	18	0	0
H	18	18	0	0
I	25	19	0	0
J	30	18	0	0

Nas propriedades de LCR as bezerras apresentaram uma frequência média de cistos de *G. duodenalis* nas fezes que variou entre zero a 58,82% (Tabela 23).

Tabela 23 Frequência (%) média de *G. duodenalis* em fezes de bezerras provenientes de propriedades produtoras de leite cru refrigerado, no estado de Minas Gerais

Propriedade	Nº de bezerras	Nº de amostras Coletadas	Nº de animais Positivos	Frequência (%)
K	24	17	0	0
L	30	18	8	44,44
M	26	16	5	31,25
N	31	17	7	41,18
O	28	19	0	0
P	18	16	8	50
Q	21	16	8	50
R	30	17	10	58,82
S	22	20	7	35
T	20	16	7	43,75

As bezerras mantidas em piquetes coletivos (n=190), em ambos os sistemas de produção de leite, apresentaram maior frequência de *G. duodenalis* (Tabela 24). Foi observada uma associação significativa ( $p < 0,01$ ) elevando para 10,25 vezes o risco (OR) de infecções por *G. duodenalis*, quando os animais são mantidos em piquetes coletivos.

Tabela 24 Frequência (%) média de bezerras positivas para *G. duodenalis*, segundo o tipo de instalação, provenientes de propriedades leiteiras do estado de Minas Gerais

Tipo de instalação	Animais positivos	
	N	%
Coletivo	80	87,9
Individual	11	12,1
<b>Total</b>	<b>91</b>	<b>100</b>

Foi observado que a intensidade de excreção de cistos (*G. duodenalis*) variou entre as bezerras de uma mesma propriedade (Tabelas 25 e 26).

Tabela 25 Número de bezerras eliminando cistos de *G. duodenalis*, de acordo com a intensidade, provenientes de propriedades produtoras de leite B, no estado de Minas Gerais

Propriedade	<i>G. duodenalis</i>			
	(+)	(++)	(+++)	
A	-	8	-	
B	-	-	-	
C	6	4	1	
D	2	6	4	
E	-	-	-	
F	-	-	-	
G	-	-	-	
H	-	-	-	
I	-	-	-	
J	-	-	-	
<b>Total (%)</b>	<b>10(100)</b>	<b>8 (25,8)</b>	<b>18 (58,0)</b>	<b>5 (16,2)</b>

(-) Negativo; (+) <5 cistos/campo examinado; (++) 5 a 10 cistos/ campo examinado; (+++) >10 cistos/campo examinado

Tabela 26 Número de bezerras eliminando cistos de *G. duodenalis*, de acordo com a intensidade, provenientes de propriedades produtoras de leite cru refrigerado, no estado de Minas Gerais

Propriedade	<i>G. duodenalis</i>			
	(+)	(++)	(+++)	
K	-	-	-	
L	4	2	2	
M	2	3	-	
N	3	2	2	
O	-	-	-	
P	3	2	3	
Q	1	4	3	
R	4	3	3	
S	2	4	1	
T	3	3	1	
<b>Total (%)</b>	<b>10(100)</b>	<b>22 (36,7)</b>	<b>23 (38,3)</b>	<b>15 (25)</b>

(-) Negativo; (+) <5 cistos/campo examinado; (++) 5 a 10 cistos/campo examinado; (+++) >10 cistos/campo examinado

Foram medidos os valores de comprimento e largura de 180 cistos de *G. duodenalis* presentes nas fezes de bezerras leiteiras. O valor médio dos cistos foi de 14µm de comprimento por 11 µm de largura.

#### 5.4.1 Fatores de risco para *G. duodenalis*

Nas fazendas com condições precárias de higiene das instalações, as bezerras tiveram um risco significativamente ( $p < 0,01$ ) maior de infecção por *G. duodenalis* (Tabela 27).

Tabela 27 Risco de infecção por *G. duodenalis* em bezerras em relação ao tipo de ordenha, localização das instalações, tipo de leite produzido e condições higiênicas das instalações, no estado de Minas Gerais

Fatores	Categorias	Animais		Valor de p*	Odds ratio	I.C. (95%)
		(+)	(-)			
Ordenha	Manual	48	107	<0,01	2,46	1,43 a 4,24
	Mecânica	31	170		1,00	
Instalação	próxima ao curral	63	113	<0,01	3,03	1,77 a 5,19
	distante do curral	28	152		1,00	
Produção	leite cru refrigerado	60	112	<0,01	2,64	1,56 a 4,49
	produz leite B	31	153		1,00	
Higiene das instalações	Inadequada	58	117	<0,01	2,22	1,32 a 3,75
	Adequada	33	148		1,00	

(+) bezerras com cistos nas fezes; (-) bezerras sem cistos nas fezes. \*Qui-quadrado

Foi observado que existe um risco maior das bezerras se infectarem nos meses com os maiores índices pluviométricos. Os animais provenientes de fazendas que produzem LCR possuem mais chances de serem acometidos por *G. duodenalis*, independentemente da estação do ano (Tabela 28).



Tabela 28 Risco de infecção por *G. duodenalis*, de acordo com as estações do ano, em bezerras provenientes de propriedades leiteiras, no estado de Minas Gerais

Fatores	Categorias	Animais		Valor de p*	Odds ratio	I. C. (95%)
		(+)	(-)			
Período	Chuvoso	61	118	<0,01	2,53	1,49 a 4,31
	Seco	30	147		1,00	
Propriedades LCR*	período chuvoso	40	48	= 0,01	2,78	1,39 a 5,57
Propriedades de leite B	período chuvoso	21	70		1,00	
Propriedades de LCR*	período seco	20	64	= 0,02	2,59	1,09 a 6,44
Propriedades de leite B	período seco	10	83		1,00	

\*LCR= leite cru refrigerado. (+) bezerras com cistos nas fezes; (-) bezerras sem cistos nas fezes. \*Qui-quadrado

As bezerras que receberam colostro até seis horas após o nascimento, a frequência de *G. duodenalis* foi de 15,42%. Já para os animais que receberam colostro mais de seis horas após o nascimento, a frequência foi de 43,41% (Tabela 29). Foi observado que o risco a infecções por *G. duodenalis* em bezerras é potencializado quando os animais recebem água e concentrado até sete dias de vida. Além deste fator, outro item pode contribuir com a infecção de rebanhos leiteiros é a manutenção de bezerras recém nascidas em pastos (fora da maternidade). Neste estudo, o tipo de piso foi estatisticamente associado às infecções por *G. duodenalis*, sendo que os animais mantidos em locais compostos por pasto apresentam um risco maior de infecção (Tabela 29).

Tabela 29 Risco de infecção por *G. duodenalis*, de acordo com as práticas de manejo adotadas na criação de bezerras, em propriedades leiteiras no estado de Minas Gerais

Fatores	Categorias	Animais		Valor de p*	Odds ratio	I. C. (95%)
		(+)	(-)			
Água e concentrado	1ª vez até 7 dias de vida	54	89	<0,01	2,89	1,72 a 4,85
	1ª vez acima de 7 dias de vida	37	176		1,00	
Permanência das bezerras no piquete maternidade	Até 12 h após o nascimento	47	216	<0,01	1,00	2,39 a 7,14
	Acima de 12 h após o nascimento	44	49		4,13	
Fornecimento do colostro	Até 6 h após nascimento	35	192	<0,01	1,00	2,48 a 7,17
	Acima de 6 h após nascimento	56	73		4,21	
Tipo de piso:	Pasto	78	189	<0,01	2,38	1,20 a 4,79
	Cimentado, areia ou terra	13	75		1,00	

(+) bezerras com cistos nas fezes; (-) bezerras sem cistos nas fezes. \*Qui-quadrado.

### 5.5 Diarréia em bezerras leiteiras associada à infecção por *Cryptosporidium* sp. e/ou *G. duodenalis*

Embora tenha sido identificados oocistos de *Cryptosporidium* sp. e cistos de *G. duodenalis* em amostras fecais classificadas como normais, as maiores frequências foram observadas em fezes diarréicas (Tabela 30).

Tabela 30 Frequência (%) de amostras fecais positivas para *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis*, normais ou diarréicas, coletadas de bezerras leiteiras, no estado de Minas Gerais.

<b>Fezes</b>	<b>Nº de amostras de fezes</b>	<b><i>Cryptosporidium</i> Positivo (%)</b>	<b><i>G. duodenalis</i> Positivo (%)</b>	<b>Co-infecção (%)</b>
Normal	260	8,08	6,16	0,77
Diarréia	96	58,33	78,13	6,25

### 5.6 Percepção de produtores sobre a diarréia em bezerras leiteiras

Na Figura 7 consta às informações sobre a frequência de diarréia em bezerras provenientes de 20 propriedades leiteiras, de acordo com os seus proprietários ou responsáveis. Pode-se observar similaridades nas respostas em ambos os sistemas de exploração leiteira, onde 60% dos entrevistados responderam serem altas as frequências de diarréia nas bezerras.

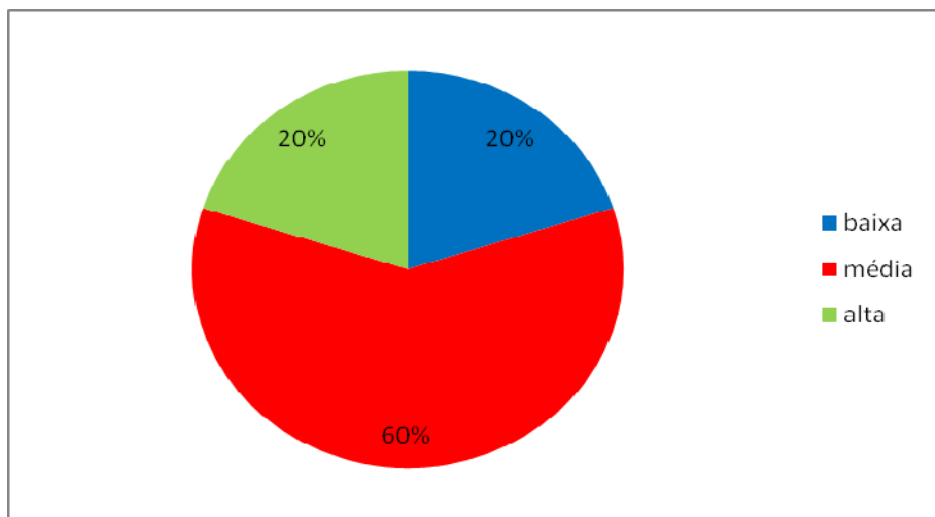


Figura 7 Frequência (%) de diarreia em bezerras provenientes de propriedades leiteiras, de acordo com a percepção de seus proprietários ou responsáveis, no estado de Minas Gerais

Segundo as respostas dos produtores rurais de ambos os sistemas de produção de leite, 75% se dizem capazes reconhecer bezerras com diarreia e segundo os mesmos a maior frequência é observada em animais do nascimento a 60 dias de idade (Figura 8).

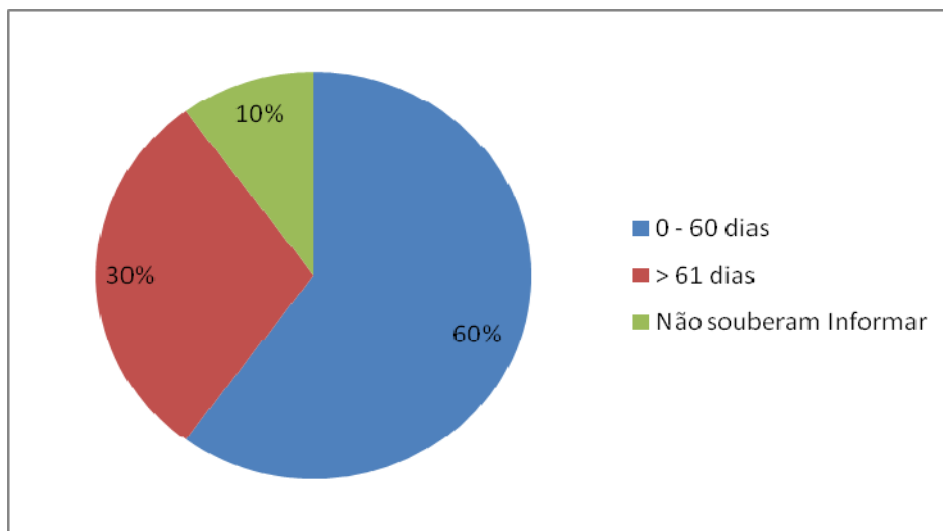


Figura 8 Percepção dos produtores de leite quanto à principal faixa etária de bezerras acometidas por diarreia, provenientes de propriedades leiteiras, no estado de Minas Gerais

Houve uma homogeneidade nas respostas de 70% dos entrevistados quando questionados sobre o principal período do ano que ocorrem os casos de diarreia (estação chuvosa).

De acordo com os entrevistados, as bezerras comumente apresentam quadros de tristeza parasitária bovina (TPB), diarreia e pneumonia, e que os animais raramente chegam a óbito, mas quando morrem a principal causa de mortalidade é a TPB (Figuras 9 e 10).

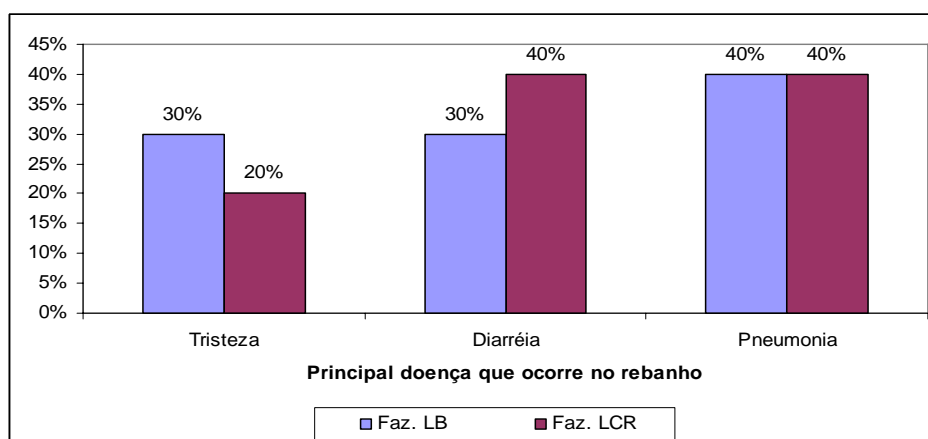


Figura 9 Frequência (%) de doenças que acometem bezerras, segundo a percepção de proprietários ou responsáveis, em propriedades produtoras de leite tipo B (LB) e leite tipo cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais

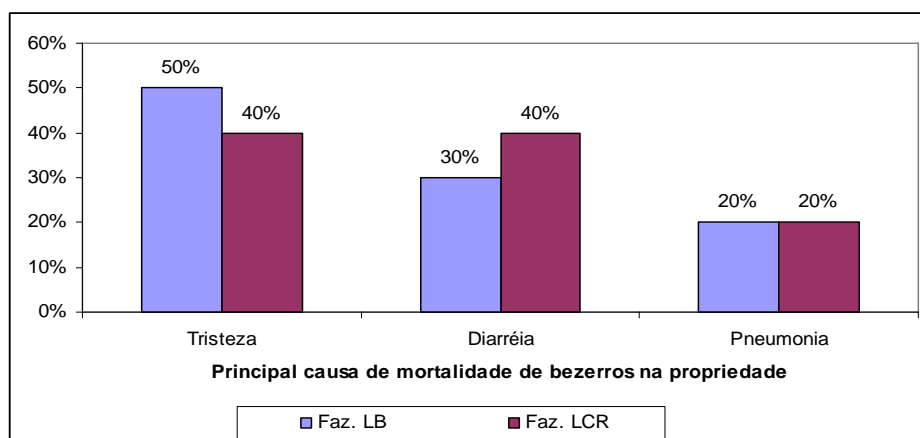


Figura 10 Frequência (%) de doenças que causam mortalidade de bezerras, segundo a percepção de proprietários ou responsáveis, em propriedades produtoras de leite tipo B (LB) e leite tipo cru refrigerado (LCR), no estado de Minas Gerais

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Estudo I - dinâmica de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis* em bezerras de um rebanho leiteiro na microrregião de Lavras, MG.

A dinâmica de infecção por estes protozoários apresentou um perfil de infecção diferente, sendo que os animais mais jovens (com idade inferior a 30 dias de vida) apresentaram-se na sua grande maioria infectados por *Cryptosporidium* sp. Já os animais com idade superior a 90 dias de idade predominantemente apresentaram quadros de infecção por *Giardia duodenalis*.

Segundo Fayer (2006), a dinâmica de infecção está relacionada com os períodos dos ciclos biológicos dos parasitos, entretanto podem ocorrer casos de animais infectados com ambos parasitos.

#### 6.1.1 Dinâmica de infecção por *Cryptosporidium* sp.

A frequência média global de eliminação de oocistos observada na fazenda Palmital pode ser explicada, em parte, pelo manejo das bezerras recém nascidas. Foi observado ao longo do experimento que as bezerras que nasceram foram mantidos em um local sombreado e com cobertura vegetal. A associação destes fatores favorece a manutenção da viabilidade dos oocistos de *Cryptosporidium* sp. neste ambiente, uma vez que cria condições adequadas para a sobrevivência deste coccídeo. Segundo Brenda et al. (2004) a manutenção de bezerros em locais contaminados favorece a contaminação dos rebanhos por *Cryptosporidium* sp.

Foi observado neste estudo que os animais se infectam por *Cryptosporidium* sp. em média aos 9,5 dias de idade. Este resultado está de acordo com valores relatados por outros autores (BROOK et al., 2008; SANTÍN et al., 2004), que afirmam que a infecção por *Cryptosporidium* sp. obedece ao

ciclo biológico do parasito, acometendo principalmente os animais nas primeiras semanas de vida.

O conhecimento da média de idade de ocorrência de infecções (primoinfecção) por *Cryptosporidium* sp. bem como, a variação sazonal na frequência em rebanhos leiteiros pode ser útil para projetar planos de controle e prevenção e, conseqüentemente minimizar possíveis perdas econômicas e potenciais riscos à saúde pública (DONOVAN; GREINER; MCCLUSKEY, 1995).

Para que se possa traçar uma metodologia para prevenção e/ou tratamento é necessário também determinar as espécies com potencial zoonótico. No caso de *C. parvum*, o genótipo 1 tem sido reportado em infecções no homem e o genótipo 2, em infecções de ambos, seres humanos e animais (CRISANTI; SPANO, 2000).

Neste estudo as amostras fecais classificadas como diarréicas possuíam cargas maiores de oocistos. De acordo com O'Handley et al. (1999) a maior intensidade de oocistos fixados no trato gastrointestinal do bezerro resulta em uma grande irritabilidade e conseqüente aumento de peristaltismo.

Foram mensurados os diâmetros médios dos oocistos de *Cryptosporidium* sp. e calculado o índice morfométrico. Os valores médios para o diâmetro maior e menor foram de 5µm e 4µm, respectivamente. Aliando os valores médios dos oocistos encontrados neste estudo ao índice morfométrico calculado (1,2) pode-se inferir que, *C. parvum* e a espécie presente nas fezes de bezerras da fazenda Palmital (ALMEIDA et al. 2008).

### **6.1.2 Dinâmica de infecção por *G. duodenalis***

A frequência de infecção por *G. duodenalis* foi de 100% das bezerras acompanhadas. Esta alta taxa de animais infectados se deve à forma de manejo



realizada na fazenda Palmital, uma vez que, as bezerras eram conduzidas a pastos utilizados anteriormente por animais infectados. De acordo com Olson et al. (1997a) deve-se evitar o posicionamento de animais saudáveis em locais conhecidamente contaminados, com intuito de evitar novas infecções.

Outro fator que potencializa a infecção por *Giardia* é o fato de o pasto estar localizado em uma área abaixo das instalações onde estão mantidos os animais mais jovens. Segundo Herd e Xiao (1994) o posicionamento das instalações na fase de aleitamento pode contribuir com o aumento dos casos positivos para *Giardia*.

Os animais iniciaram a eliminação de cistos de *G. duodenalis*, em média aos 31 dias de vida, o que concorda com a pesquisa realizada por Mohammed, Schaaf e Wade, (2000). O início da eliminação de cistos logo nos primeiros meses de vida se dá em decorrência da exposição dos animais saudáveis à ambientes contaminados, e fatores que levem o animal a uma imunossupressão como exemplo, a desmama (MONIS; THOMPSON, 2003).

Foi observado que 60,6% das bezerras que eliminavam cistos de *G. duodenalis* não apresentavam quadros de diarreia. Segundo MALDONADO-CAMARGO et al. (1998), a ausência de sinais clínicos pode contribuir para a manutenção do protozoário, pois, animais que estão eliminando cistos de forma intermitente são mantidos com os animais saudáveis.

A morfometria encontrada para os cistos de *Giardia* neste estudo foi de 13µm de comprimento por 9µm de largura. Segundo Zajac (1992), a espécie *G. duodenalis* possui dimensões que compreendem os valores determinados no presente estudo. Assim, com base na morfometria, pode-se afirmar que os bezerros da fazenda Palmital são infectados pela espécie *G. duodenalis* (sinônimos: *G. lamblia* e *G. intestinalis*).

## **6.2 Estudo II - fatores de risco associados à infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* em bezerras leiteiras provenientes da região do Campo das Vertentes de Minas Gerais.**

Os resultados deste estudo demonstram que as infecções por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* estão presentes em bezerras provenientes de rebanhos leiteiros do estado de Minas Gerais.

É importante ressaltar que a frequência média global de infecção por *G. duodenalis*, determinada neste estudo, provavelmente está subestimada, uma vez que os cistos de *Giardia* são eliminados de forma intermitente e neste estudo foi analisada uma única amostra fecal por animal (DONOVAN; GREINER; MCCLUSKEY, 1995; HERD; XIA, 1994).

### **6.2.1 Frequência de *Cryptosporidium* sp.**

No presente estudo, a frequência média global de bezerras eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. em 20 propriedades leiteiras foi de 21,62%. Considerando as frequências citadas na literatura e a principal faixa etária acometida por *Cryptosporidium* sp. os resultados encontrados neste estudo estão de acordo com os estudos realizados anteriormente.

Kvác et al. (2006), observaram que a frequência de infecções por *Cryptosporidium* sp. variou de 1,4% a 56,5% em bezerros provenientes de fazendas leiteiras na República Tcheca no período de pré-desmama. SANTÍN et al. (2004) trabalhando com bezerros oriundos de fazendas situadas nos EUA, encontraram uma prevalência variando de 4,4% a 61,5%. Já Atwill et al. (1998), relataram uma prevalência de 10% a 60% dos bezerros eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. Outros estudos encontraram frequências variando entre 15% a 88,7 % (COUTURE; FAUBERT; RUEST, 1998 - Canadá; LEFAY et al., 2000 – França; OLSON et al., 1997 - Canadá).

Embora as propriedades produtoras de leite B (LB) terem um sistema de produção que proporciona um maior *stress* fisiológico nos animais (ALMEIDA et al., 2008), as precárias condições higiênicas e sanitárias encontradas nas fazendas que produzem leite cru refrigerado (LCR) neste estudo, provavelmente favorecem a manutenção de oocistos de *Cryptosporidium* sp. no ambiente, e consequentemente há uma maior taxa de infecção das bezerras criadas neste sistema de produção leiteira.

Foi observado que as bezerras jovens são mais acometidas por *Cryptosporidium* sp. Contudo os achados do presente estudo mostraram que a disseminação de oocistos foi registrada em varias faixa etária com uma alta frequência nos animais entre zero e 21 dias de idade (93,6%). Valores similares foram observados nos EUA por Atwill et al. (1998), que encontraram uma frequência de 92% de bezerros eliminando oocistos nessa mesma faixa etária.

Singh et al. (2006) observaram que o maior número de casos de criptosporidiose em rebanhos bovinos presentes na Índia ocorreu em bezerros entre zero e 30 dias de idade. Um estudo conduzido por O’Handley et al. (1999) no Canadá, encontrou uma frequência de 100% de bezerros eliminando oocistos *Cryptosporidium* sp. nas duas primeiras semanas de vida.

As propriedades que produzem LB tiveram uma variação menor na frequência da infecção por *Cryptosporidium* sp. (0% a 27,28%) em relação às fazendas de LCR (17,64% e 45%). Essas variações podem ter ocorrido devido ao fato de apenas uma amostra de fezes por animal ter sido examinada, sendo que os animais eliminam oocistos de forma intermitente (XIAO, 1994). Outros fatores que podem explicar essa diferença são as distintas condições sanitárias, higiênicas e de manejo encontradas nos dois tipos de sistemas de produção de leite (LOPES; SOUZA, 1995).

Os animais mantidos em instalações coletivas foram mais infectados por *Cryptosporidium* sp. quando comparados com aqueles que ficavam em

instalações individuais. De acordo Sturdee et al. (2003) a manutenção de muitos animais em pequenas áreas potencializa as infecções por colocar animais saudáveis em contato com aqueles que servem de reservatório para os parasitas (animais assintomáticos).

No presente estudo, foi observada uma variação na intensidade de eliminação de oocistos nas fezes das bezerras dentro de uma mesma propriedade e entre sistemas de criação (LB e LCR). Possivelmente, isto está relacionado com a capacidade individual de resposta imune frente a um desafio. Fatores como a nutrição e pressão exercida pela exposição ao agente infeccioso condicionam a resposta imunológica frente aos parasitos. Outro fator que pode contribuir com as taxas de eliminação de *Cryptosporidium* sp. é o próprio manejo realizado nas fazendas, que em muitos casos é feito de maneira incorreta (RIGGS, 2002).

A associação destas condições às quais os bezerros estão expostos, somadas as respostas imunes ineficazes, faz com que, animais que são mantidos em ambientes com altos índices de contaminação sejam mais infectados por este coccídeo (GARBER et al., 1994).

Devido à resistência dos oocistos no ambiente (FAYER et al., 1997), e a continua introdução de novos bezerros susceptíveis, a transmissão de *Cryptosporidium* sp. é um processo contínuo nas fazendas (ATWILL et al., 1999; MOHAMMED; SCHAAF; WADE, 1999).

Foi verificada uma flutuação de casos positivos para infecções por *Cryptosporidium* sp. ao longo dos meses, sendo que nos meses mais chuvosos houve uma maior frequência de bezerras eliminando oocistos. Isto pode ser explicado, em parte, devido à manutenção da umidade no piso onde as bezerras ficam alojadas, a lixiviação de matéria orgânica contaminada de locais situados acima das instalações onde os bezerros eram mantidos e pelas práticas de

manejo adotadas em cada propriedade, o que pode, indiretamente, contribuir para a manutenção dos oocistos no ambiente (CAUSAPÉ et al., 2002).

### 6.2.2 Frequência de *G. duodenalis*

Neste estudo foi observado que a frequência média global de bezerras eliminando cistos de *G. duodenalis* foi de 25,56%. Um estudo conduzido por Olson et al. (1997) registrou uma frequência de 31%, em bezerros com idade inferior a seis meses de idade. Outros trabalhos reportaram frequências variando de 5,6% (XIAO, 1994) a 94% (DONOVAN; GREINER; MCCLUSKEY, 1995).

No decorrer dos doze meses deste estudo, pode-se observar que as taxas de infecção por *G. duodenalis* mantiveram-se estáveis e sem grandes alterações. O pico de eliminação de cistos, nas fezes de bezerras oriundas de fazendas de LB, foi no mês de novembro/08, enquanto que o pico nas propriedades que produzem LCR ocorreu no mês de fevereiro/09. Segundo Huetink et al. (2001), que avaliaram um rebanho localizado na Holanda, existe uma sazonalidade na frequência de infecção por protozoários do gênero *Giardia*, havendo, portanto, uma maior ocorrência no verão quando comparado com o inverno.

Mas não pode deixar de ser levado em consideração que nos trópicos a dinâmica de infecção se dá de forma diferenciada daquelas situações que ocorrem em regiões de clima temperado. O fator clima nos trópicos é muito mais “regular” e conseqüentemente a condição ambiental é mais favorável à manutenção dos cistos (ARAÚJO; BARTMANN, 2004). Por isso pode-se considerar que as infecções por *Giardia* são mais constantes em regiões tropicais, como foi observado no presente estudo.

Nos rebanhos leiteiros em questão a maior frequência de animais eliminando cistos de *G. duodenalis* foi observada entre dois a três meses de idade. Este aumento pode ser em decorrência do *stress* sofrido pelas bezerras

que estão no período de desmama. Este *stress* resultante do corte ou diminuição do fornecimento de leite pode afetar o sistema imune dos bezerros, deixando-os mais susceptíveis a infecções por parasitos (ALMEIDA et al., 2008).

Ralston et al. (2003) registraram que a frequência de bezerros infectados e eliminando cistos de *Giardia* apresentou um pico com cinco semanas de vida (85%), e que esses valores foram decrescendo até 21% entre 25 a 27 semanas de idade.

Infecções por *Giardia* têm sido encontradas com uma frequência relativamente alta em bezerros, sendo mais comuns em animais com idade entre dois a três meses de vida (OLSON et al., 1997; RALSTON et al., 2003). No Canadá foi reportada uma frequência de infecção por *Giardia* sp. em 73% dos bezerros na faixa etária entre 3 a 24 semanas de idade (OLSON et al., 1997).

Outros estudos encontraram frequências de bezerros eliminando cistos de *Giardia* variando entre 16% a 54,5 % (DIAZ et al., 1996 - Espanha; HUETINK et al., 2001 - Holanda). Em rebanhos bovinos situados na Austrália e no Canadá foi observada uma frequência em torno 58% (O'HANDLEY et al., 2000).

Em um trabalho realizado por TROUT et al. (2005) verificou-se uma frequência de 52% em bezerros já desmamados (com idade superior a 90 dias). Já Gjerde, Hamnes e Robertson (2006), na Noruega, relataram uma ocorrência de 49% em bezerros no período pós-desmama (maior que 90 dias).

Foi observado neste trabalho que, nas propriedades de LB, a frequência de animais eliminando cistos *Giardia* apresentou uma maior variação (0% a 63,15%), em relação às fazendas LCR (0% e 58,82%), resultado que pode estar associado ao *stress* fisiológico ocasionado pelo sistema de criação nas fazendas de LB.

As bezerras de propriedades produtoras de LB apresentaram uma maior variação na frequência de bezerras eliminando cistos de *G. duodenalis* (63,15%),

porém as maiores intensidades de eliminação de cistos foram observadas em fazendas que produzem LCR. Isto pode ser explicado em parte, pelas condições higiênicas e sanitárias mais precárias nestas últimas, expondo os animais a um maior risco ao permanecerem em ambientes contaminados (MCALLISTER et al., 2005).

No presente estudo houve uma diminuição de bezerras infectadas por *Giardia* a partir dos cinco meses de idade. Segundo Maddox-Hyttel et al. (2006), as infecções por *Giardia* têm uma tendência de decaírem tanto na intensidade de infecção como nos índices de frequência, ao mesmo tempo em que os animais aumentam sua faixa etária.

### **6.2.3 Fatores de risco associados às infecções por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis***

Foram avaliados diversos fatores que são comuns nas propriedades leiteiras e que podem contribuir de alguma maneira para a presença de protozoários dentro dos sistemas de criação de bovinos.

Dentre as variáveis avaliadas, algumas não apresentaram associação significativa com a infecção das bezerras por ambos parasitos, como: tipo de forrageira fornecida, raça do gado e presença de outros animais domésticos na propriedade. Neste estudo, o resultado referente a esta última variável discorda do que foi relatado por Mohammed, Schaaf e Wade (1999), que observaram que a presença de várias espécies de animais domésticos na fazenda aumentou o risco de infecções por *Cryptosporidium* sp. em bovinos leiteiros.

As propriedades leiteiras deste estudo, com ordenha manual, tiveram um risco maior frente às infecções por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis*, quando comparadas com aquelas que dispõem de ordenha mecânica. Este resultado pode ser explicado, em parte, se considerar as vacas como potenciais reservatórios

para ambos protozoários, lembrando nas fazendas que produzem LCR, 80% das bezerras mamam na própria vaca.

Diferentemente do que foi observado neste trabalho, Alves et al. (2005) demonstraram que propriedades com o sistema de ordenha mecânica possuem uma frequência maior de infecções por estes protozoários, uma vez que o sistema de produção mais tecnificado proporciona um maior desgaste fisiológico do animal se comparado com os sistemas onde os animais são menos exigidos.

A localização das instalações onde os bezerros eram mantidos situados próximo ao curral foi um fator que contribuiu para o aumento de casos positivos para *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis*. Segundo Atwill et al. (1999), instalações destinadas aos bezerros localizadas nos arredores do curral favorecem a permanência das infecções por reduzir a distância entre animais.

Foi observado neste estudo como sendo um fator que contribui para o aumento ou diminuição das taxas de infecção das bezerras, o tipo de leite produzido na propriedade, onde houve um risco maior nas fazendas que exploram LCR. As propriedades com produção de LCR possuíam um sistema menos tecnificado e as bezerras eram criadas de forma mais extensiva. Já as fazendas que produzem LB, buscam uma maior produtividade e consequentemente as bezerras eram mantidas em um sistema mais intensivo e que exige mais dos animais.

Portanto, esperava-se que as bezerras de propriedades com um sistema mais extensivo tivessem uma menor frequência de infecção quando comparadas com aquelas de fazendas mais tecnificadas (*stress* fisiológico). Mohammed, Schaaf e Wade (1999) demonstraram que bezerros que são mantidos em sistema extensivo possuem cinco vezes menos chance de se infectarem com *Cryptosporidium* sp. uma vez que os animais são mantidos em grandes áreas, consequentemente a contaminação ambiental é diluída.



Já o trabalho realizado por Feitosa et al. (2004) registrou que os bezeros mantidos em propriedades com melhores condições de manejo têm um maior risco de infecções por parasitos, devido às práticas de manejo que exigem muito dos animais e consequentemente provocam um *stress* fisiológico.

Castro-Hermida et al. (2002) não encontraram diferenças significativas entre os sistemas de criação semi-intensivo e intensivo para as infecções por *Cryptosporidium* sp. pois ambos os sistemas exigem uma concentração de animais em áreas próximas a ambientes contaminados, seja pela proximidade com animais mais velhos que servem como reservatórios, ou pela grande densidade animal nas instalações.

O aumento no risco de infecções em bezerras provenientes de propriedades de LCR, observado no presente estudo, pode ser explicado, em parte, pelas condições precárias de sanidade e higiene em que estes animais eram mantidos. As propriedades de LB diferem-se daquelas que produzem LCR em vários aspectos zootécnicos e sanitários, sendo gerenciadas de maneira mais organizada e práticas de manejo tecnicadas (BRASIL, 2002).

Neste estudo, na maioria das propriedades que exploram LCR, as bezerras eram mantidas em áreas com piso coberto por pasto, e neste, havia um acúmulo de fezes e estas não eram removidas frequentemente. Deste modo as instalações eram sujas e úmidas, atraindo moscas e mosquitos que podem servir como vetores mecânicos para carrear (oo)cistos. De acordo com Graczyk et al. (2003), a manutenção dos bezerreiros em condições inadequadas favorece a incidência de novos casos por protozoários dos gêneros *Cryptosporidium* e *Giardia*.

As estações do ano (seca ou chuvosa) também influenciaram as taxas de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis*, sendo consideradas, portanto um fator de risco. Na estação chuvosa houve um maior número de bezerras infectadas. Segundo Causapé et al. (2002), este acréscimo está

associado à lixiviação de matéria orgânica de áreas contaminadas para ambientes limpos e o aumento de umidade nos locais onde os bezerros são mantidos, propiciando condições ótimas para uma maior longevidade dos (oo)cistos.

Já na estação seca, as bezerras mantidas em fazendas de LCR foram mais acometidas por infecções por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis*, em decorrência da concentração de animais em pastos contaminados, uma vez que neste período há escassez de pasto, havendo a necessidade de uma maior densidade de bezerras por área (ALVES et al., 2005).

Outro aspecto comum nas propriedades leiteiras e que atuou neste estudo como um fator de risco para as infecções por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis*, foi o fornecimento de água e concentrado na primeira semana de vida. Esta exposição precoce do animal a esses componentes pode afetar diretamente os índices de infecção, uma vez que estes podem conter (oo)cistos. De acordo com Slifko et al. (2000), o principal mecanismo de transmissão da maioria dos parasitos gastrintestinais é a veiculação hídrica.

O tempo que a bezerra fica com a vaca após o nascimento mostrou uma associação significativa ( $p < 0,01$ ), aumentando o risco de infecções por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis* naqueles animais que ficaram por mais de sete horas na maternidade. Vacas como fonte de infecção para bezerros neonatos foi observado em estudos realizados por Atwill et al., (1998), Faubert e Litvinsky (2000) e Huetink et al. (2001). Entretanto, um estudo realizado por Silverlas et al. (2009) demonstrou que bezerros mantidos por um período maior na maternidade após o nascimento juntamente com a vaca, diminuiu a taxa de infecção por *Cryptosporidium* sp. Segundo este mesmo pesquisador, a manutenção do bezerro junto com a mãe diminui a exposição a oocistos, uma vez que a eliminação de oocistos por parte da vaca é muito inferior às quantidades eliminadas por outros bezerros.

Foi observado que as bezerras as quais receberam o colostro com até seis horas após o nascimento tiveram uma menor frequência e uma menor chance de se infectarem por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis*. Segundo Climeni et al. (2008) a qualidade do colostro declina rapidamente após o nascimento do bezerro, bem como, a própria capacidade do bezerro de absorver as imunoglobulinas que irão conferir imunidade. O período ideal para a ingestão do colostro preconizado por Braund, Nocek e Warner (1984) é de até três horas após o nascimento.

As instalações onde o piso era composto por areia, terra ou cimentado, as bezerras tiveram um risco menor às infecções por *Cryptosporidium* e *Giardia* se comparadas àquelas onde o piso era formado por pasto. Mohammed, Schaaf e Wade (1999) observaram que instalações de alvenaria e compostas por camadas de palha ou outro tipo de forragem diminuem a frequência de infecções por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis* em bezerros.

Já Santín et al. (2004), não encontraram nenhuma associação significativa entre o tipo de construção utilizada para abrigar os bezerros com a frequência de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis*.

No presente estudo foi identificado animais com fezes normais eliminando oocistos de *Cryptosporidium* sp. e cistos de *Giardia duodenalis*, fato este que contribui para a manutenção destes protozoários parasitos no ambiente. Segundo Atwill et al. (1998), um dos principais sintomas apresentados por bezerros infectados por *Cryptosporidium* sp. é a presença de fezes diarréicas, sendo, portanto uma característica que auxilia no diagnóstico destes animais. A presença de bezerros assintomáticos nas instalações coletivas é, portanto um fator de risco relevante na dinâmica de transmissão desses protozoários.

Na presente pesquisa a idade das bezerras influenciou na frequência de infecções por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis*. Houve um predomínio de bezerras infectadas por *Cryptosporidium* sp. com menos de um mês de vida, e

animais com dois e três meses de idade infectados por *Giardia*. O efeito da idade no risco às infecções por *Cryptosporidium* sp. é significativo, com bezerros nas três primeiras semanas de vida sendo os mais acometidos (BROOK et al., 2008).

Maldonado-Camargo et al. (1998) observaram que bezerros com quatro meses de idade ou menos foram 13 vezes mais susceptíveis às infecções por *C. parvum*. Mohammed, Schaaf e Wade (1999) relataram que os riscos frente às infecções por *Cryptosporidium* sp. diminuem significativamente de acordo com o aumento da idade dos bezerros.

As infecções por *Giardia* são bastante comuns em bezerros com dois a três meses de vida (HUETINK et al., 2001; OLSON et al., 1997), mas outras faixas etárias podem ser acometidas (RALSTON et al., 2003).

A maior frequência de infecção por *Cryptosporidium* sp. em animais com um mês de vida pode ser associada à presença do protozoário no ambiente, bem como, as condições sanitárias no local onde as bezerras são mantidas, além do próprio ciclo biológico do protozoário. De acordo com Becher et al. (2004), infecções por *Cryptosporidium* sp. seguem o padrão de seu ciclo biológico acometendo principalmente os bezerros neonatos e jovens.

Já as infecções por *G. duodenalis* foram mais comuns nos animais com idade entre dois e três meses de vida. Este resultado pode estar associado às condições de *stress* proporcionadas no manejo destas bezerras, uma vez que as fazendas de ambos os sistemas de produção leiteira iniciam o processo de desaleitamento nesta faixa etária. Segundo Quílez et al. (1996) os animais que sofrem algum tipo de *stress* são mais susceptíveis às infecções por *Giardia*.

Neste estudo, foram mensurados o diâmetro menor e o maior de oocistos de *Cryptosporidium* sp. com o intuito de estimar, por meio da morfometria, qual ou quais as espécies presentes nos rebanhos leiteiros. Os valores médios encontrados foram de 4,0 $\mu$ m e 5,0 $\mu$ m para o diâmetro menor e maior, respectivamente, e o índice morfométrico estimado foi de 1,2  $\mu$ m.

Segundo Park et al. (2006), a espécie *C. parvum* possui formato esférico e medidas que variam de 4 µm a 6 µm de diâmetro. De acordo com os valores médios do diâmetro (menor e maior) e o índice morfométrico observado, pode-se inferir que a espécie encontrada infectando as bezerras leiteiras, neste estudo, é *C. parvum* - like (ALMEIDA et al., 2008).

No presente estudo, as dimensões dos cistos de *Giardia* eliminados por bezerras leiteiras, variaram de 12µm a 20µm de comprimento e 9µm a 12µm de largura, média de 14µm x 11µm. Usando como referência o trabalho de Olson et al. (1997), os valores médios dos cistos encontrados nas fezes das bezerras em questão se referem a espécie *G. duodenalis* (sin.: *G. lamblia* e *G. intestinalis*).

Um aspecto importante observado neste trabalho foi a eliminação de oocistos de *Cryptosporidium* sp. e cistos de *Giardia duodenalis* por bezerras que não apresentavam quadros de diarreia. Com esta constatação fica claro que animais assintomáticos podem favorecer a manutenção destes protozoários no ambiente e conseqüentemente resultar em prejuízos para os produtores rurais, seja pela aplicação de medicamentos, ou até mesmo a perda de animais (HERD; XIAO, 1993).

Os animais mantidos em instalações coletivas tiveram um risco maior de serem infectados por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis* quando comparados com aqueles mantidos em instalações individuais. Este resultado concorda com o estudo de Feitosa et al. (2004), na região de Araçatuba, SP, que também observou maior infecção por *Cryptosporidium* sp. em animais mantidos em instalações coletivas. De acordo com Bolfassa-Ouzout (1986), a transmissão de *Cryptosporidium* sp. é incrementada quando existe contato de animais susceptíveis com bezerros infectados, ou quando este contato ocorre de maneira indireta pela exposição a ambientes contaminados.

Quanto à percepção dos proprietários ou responsáveis pelas fazendas do presente estudo, todos demonstraram algum conhecimento sobre os quadros de

diarréia em bezerras leiteiras. Isto evidencia que, seja por conhecimento empírico ou técnico, os entrevistados nas fazendas produtoras de leite B e leite cru refrigerado são capazes de reconhecer as bezerras que estão com quadro agudo de diarréia.

Conforme observado neste estudo, é frequente a infecção de bezerras leiteiras por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis*, e novas pesquisas são necessárias para caracterizar geneticamente o potencial zoonótico destes protozoários.

## 7 CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que:

- a) Bezerras leiteiras se infectam bem mais precocemente por protozoários do gênero *Cryptosporidium* em relação aos protozoários do gênero *Giardia*;
- b) Infecções por *Cryptosporidium* sp. e *Giardia duodenalis* estão amplamente distribuídas entre bezerras provenientes de propriedades produtoras de leite B e leite cru refrigerado da região do Campo das Vertentes de Minas Gerais;
- c) Bezerras criadas em propriedades produtoras de leite cru refrigerado, em função da infraestrutura precária e práticas de manejo inadequadas, apresentam elevada taxa de infecção por *Cryptosporidium* sp. e *G. duodenalis*;
- d) Foram identificados como fatores de risco para a ocorrência de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia*, em bezerras leiteiras, as seguintes variáveis: condições precárias de higiene e sanidade na criação das bezerras, a estação chuvosa, sistema de criação, tipo de ordenha, proximidade das instalações destinadas para os bezerros do curral, fornecimento de água e concentrado precocemente, manutenção das bezerras em instalações coletivas, a idade dos animais e o fornecimento de colostro a partir de sete horas após o nascimento;
- e) Os entrevistados de propriedades leiteiras, independente do nível de tecnificação da fazenda, são capazes de reconhecer as bezerras com quadros agudos de diarreia;
- f) Segundo a percepção dos proprietários e responsáveis pelas fazendas leiteiras, a diarreia é uma das principais doenças e causa de

mortalidade de bezerras, juntamente com a pneumonia e a tristeza parasitária bovina.



## REFERÊNCIAS

AHMAD, R. A.; LIM, Y. A. L.; SMITH, H. V. Current status and future trends In *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology in Malasy. **Journal of Water and Health**, London, v. 6, n. 2, p. 239-254, 2008.

ALMEIDA, A. J. et al. Relative risk of infection of parasites from genus *Cryptosporidium* in cattle in North of Rio de Janeiro State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Carlos, v. 17, p. 243-248, 2008. Suplemento 1.

ALVES, L. L. et al. Natural infection by *Giardia* sp and *Cryptosporidium* spin dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 134, p. 9-13, 2005.

ANGUS, K. W. Cryptosporidiosis in ruminants. In: DUBEY, J. P.; FAYER, R.; SPEER, C. A. (Ed.). **Cryptosporidiosis of man and animals**. Boca Ratom: CRC Press, 1990. p. 95-103.

ARAÚJO, F. A. P.; BARTMANN, A. Frequência de *Giardia* lamblia em cães atendidos em clínicas veterinárias de Porto Alegre, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1093-1096, jul./ago. 2004.

ATWILL, E. R. et al. Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium* parvum for calfhoo infection. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 59, p. 1116-1121, 1998.

ATWILL, E. R. et al. Association of herd composition, stocking rate, and duration of calving season with fecal shedding of *Cryptosporidium* parvum oocysts in beef herds. **Journal American of Veterinary Medicine Association**, Schaumburg, v. 215, p. 1833-1838, 1999.

BAXBY, D.; BLUNDELL, N.; HART, C. A. The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. **Journal of Hygiene**, New Jersey, v. 92, p. 317-323, 1984.

BEACH, M.; YODER, J. S. *Cryptosporidium* surveillance and risk factors in the United States. **Experimental Parasitology**, Amsterdam, v. 124, p. 31-39, 2010.

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

BOLFASSA-OUZOUT, S.; CHERNETTE, R.; MEISSONIER, E. La Cryptosporidiose - une maladie animale et humaine cosmopolite. **Ser Tech off Int Epizooties**, Paris, v. 5, p.1-97, 1986.

BRAUND, D. G.; NOCEK, J. E.; WARNER, R. G. Influence of neonatal colostrum administration, immunoglobulin, and continued feeding of colostrum on calf gain, health, and serum protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 2, p. 319-333, Feb. 1984.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, p. 13-21, seção 1, set. 2002.

BRENDA J. R. et al. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. **Trends in Parasitology**, Cambridge, v. 20, n. 4, p. 185 -191 Apr. 2004.

BROOK, E. J. et al. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in fresh and frozen cattle faeces: comparison of three methods. **Letters in Applied Microbiology**, Bognor Regis, v. 46, p. 26-31, 2008.

CACCIO, S. M. et al. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. **Trends in Parasitology**, Cambridge, v. 21, p. 430–437, 2005.

CAMPOS FILHO, P. C. et al. Zoonotic parasites in dog feces at public squares in the municipality of Itabuna, Bahia, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Carlos, v. 17, n. 4, p. 206-209, 2008.

CAPUANO, D. M. et al. Ocorrência de parasitas com potencial zoonótico em fezes de cães coletadas em áreas públicas do município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 1, p. 81-86, 2006.

CARVALHO, C. B.; EDERLI, B. B.; SALES, L. G. Ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* em bezerros na microrregião de Campos dos Goytacazes no norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Carlos, v. 13, n. 2, p. 45-48, 2004.

CARVALHO, R. A.; GUEDES, E.; GUIMARÃES, A. M. Ocorrência de *Giardia* spp. em bezerros leiteiros no Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 6, p. 652-653, 2001.

CASTRO-HERMIDA, J. A. et al. Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 106, n. 1, p. 1-10, 2002.

CASTRO-HERMIDA, J. A. et al. Prevalence and intensity of infection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in dairy cattle in Galicia (NW Spain). **Journal of Veterinary Med. B Infect. Disease and Vet. Public Health**, Berlin, v. 53, n. 5, p. 244-246, 2006.

CAUSAPÉ, A. C. et al. Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeastern Spain). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 104, n. 4, p. 287-298, 2002.

CERI, H.; MORCK, D.W.; OLSON, M. E. *Giardia* vaccination. **Parasitology Today**, Oxford, v. 16, p. 213-217, 2000.

CLIMENI, B. S. O. et al. Qualidade do colostro bovino. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 6, p. 1-6, 2008.

COELHO, W. M. et al. Occurrence of gastrointestinal parasites in fecal samples of cats in Andradina City, São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Carlos, v. 18, n. 18, p. 46-49, 2009.

COOPERATIVA AGRÍCOLA ALTO RIO GRANDE. **Lavras**. Disponível em: <<http://www.caarg.com.br/caarg.html>>. Acesso em: 12 mar. 2009.

COUTURE, Y.; FAUBERT, G. M.; RUEST, N. Prevalence and geographical distribution of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in dairy farms in Quebec. **Canadian Veterinary Journal**, Bethesda, v. 39, p. 697-700, 1998.

CRISANTI, A.; SPANO, F. *Cryptosporidium* parvum: the many secrets of a small genome. **International Journal of Parasitology**, Colorado Springs, v. 30, p. 553-565, 2000.

DIAZ, V. et al. Aspects of animal giardiasis in Granada province (Southern Spain). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 64, p. 171-76, 1996.

DONOVAN, G. A.; GREINER, E. C.; MCCLUSKEY, B. J. Patterns of *Cryptosporidium* oocyst shedding in calves and a comparison of two diagnostic methods. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 60, p. 185-190, 1995.

FAUBERT, G. M.; LITVINSKY, Y. Natural transmission of *Cryptosporidium* parvum between dams and calves on a dairy farm. **The Journal of Parasitology**, Colorado Springs, v. 86, p. 495-500, 2000.

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**, Amsterdam, n. 135, p. 105-112, 2006.

FAYER, R.; XIAO, L. Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. **International Journal for Parasitology**, Amsterdam, v. 38, p. 1239-1255, 2008.

FAYER, R. et al. The general biology of *Cryptosporidium*. In: FAYER, R. (Ed.). ***Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis**. Boca Raton: CRC, 1997. p. 2-41.

FEITOSA, F. L. F. et al. Prevalência de criptosporidiose em bezerros na região de Araçatuba, Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 189-193, 2004.

FEITOSA, F. L. F. et al. Importância de *Cryptosporidium* spp. como causa de diarreia em bezerros. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 28, n. 10, p. 452-456, 2008.

GARBER, L. P. et al. Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, Schaumburg, v. 205, p. 86-91, 1994.

GARCIA, A. M.; LIMA, J. D. Prevalência de *Cryptosporidium* spp. em rebanhos leiteiros de Pará de Minas e sua relação com práticas de manejo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Carlos, v. 3, n. 1, p. 23-28, 1994.

GJERDE, B.; HAMNES, I. S.; ROBERTSON, L. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in three areas of Norway. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 140, p. 204-216, 2006.

GOLDIN, A. J. et al. Efficient diagnosis of *Giardiasis* among nursery and primary school children in Santiago, Chile by captive ELISA for the detection of fecal *Giardia* antigens. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Deerfield, v. 42, p. 538-545, 1990.

GOMES, A. D. et al. Prevalência de *Cryptosporidium* spp e *Giardia* sp. em eqüinos estabulados no Jockey Club de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 9, p. 2662-2665, 2008.

GRACZYK, T. K. et al. Detection of *Cryptosporidium* parvum and *Giardia* lamblia carried by synanthropic flies by combined fluorescent in situ hybridization and monoclonal antibody. **American Journal of Tropical Medicine and Hygie**, Deerfield, v. 68, p. 228-232, 2003.

GRIFFITHS, J. K.; TZIPORI, S. Natural history and biology of *Cryptosporidium* parvum. **Advances in Parasitology**, New Jersey, v. 40, n. 5, p. 6-36, 1998.

GUIMARÃES, L. B. et al. Comportamento da excreção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e de cistos de *Giardia* spp. em bezerros infectados naturalmente. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 8., 2009, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 2009. Suplemento 1.

HERD, R. P.; XIAO, L. Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 55, p. 257-262, 1994.

HERD, R. P.; XIAO, L. Quantitation of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in fecal samples by direct immunofluorescence assay. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 31, p. 2944-2946, 1993.

HSU, B.; HSU, P.; WUN, H. Prevalence and genotyping of *Giardia* in husbandry systems in Taiwan. **Parasitology Research**, Düsseldorf, v. 101, p. 275-280, 2007.

HUBER, F. Comparação da eficiência da técnica de sedimentação pelo formaldeído-éter e da técnica de centrífugo-flutuação modificada na detecção de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em amostras fecais de bezerros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Carlos, v. 12, p. 135-137, 2003.

HUETINK, R. E. et al. Epidemiology of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 102, p. 53-67, 2001.

JACOBSEN, G. et al. *Cryptosporidium* sp. em intestinos, bursa de Fabricius e traquéia de frangos (*Gallus gallus* sp). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 682-684, 2006.

JOACHIM, A. et al. Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 112, p. 227-288, 2003.

LEFAY, D. et. al. Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 89, p. 1-9, 2000.

LEIB, M. S.; ZAJAC, A. M. *Giardiasis* in dogs and cats. **Veterinary Medicine**, Bonner Springs, v. 94, n. 9, p. 793-802, 1999.

LOPES, C. W. G.; SOUZA, J. C. P. Criptosporidiose em bezerros de rebanhos da bacia leiteira Sul-Fluminense, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Carlos, v. 4, n. 1, p. 33-36, 1995.

LOPES, R. S.; SANTOS, K. R.; TAKAHIRA, R. K. Ocorrência de giardíase em cães e gatos no município de Botucatu-SP. **Jornal Brasileiro de Patologia**, Rio de Janeiro, v. 37, p. 224, 2001.

LYMBERG, A. J.; MELONI, B. P.; THOMPSON, R. C. A. Genetic variation in *Giardia* Kunstler, 1882: taxonomic and epidemiological significance. **Protozoological Abstract**, Farnham Royal, v. 14, p. 1-28, 1990.

MADDOX-HYTTEL, C. et al. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs – Occurrence and management associated risk factors. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 141, n. 1-2, p. 48-59, 2006.

MAIA, A. A. M. et al. Oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes de bovinos em Montes Claros, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 47, n. 5, p. 717-719, 1995.

MALDONADO-CAMARGO, S. et al. revalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium* parvum in Holstein Friesian dairy calves in central México. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 36, p. 95-107, 1998.

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**, Bethesda, v. 46, p. 47-55, 2005.

MINAS GERAIS. **Mesoregiões**. Disponível em: <[http://pt.wikipedia.org/wiki/Minas\\_Gerais](http://pt.wikipedia.org/wiki/Minas_Gerais)>. Acesso em: 15 fev. 2010.

MINUZZI, R. B. et al. Climatologia do comportamento do período chuvoso da região sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Meteorologia**, São José dos Campos, v. 22, n. 3, p. 338-344, 2007.

MOHAMMED, H. O.; SCHAAF, S.; WADE, S. E. Epidemiologic study of *Giardia* sp infection in dairy cattle in southeastern New York State. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 89, p. 11-21, 2000.

MOHAMMED, H. O.; SCHAAF, S.; WADE, S. E. Risk factors associated with *Cryptosporidium* parvum infection in dairy cattle in southeastern New York State. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 83, p. 1-13, 1999.

MONIS, P. T. et al. Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. **Trends in Parasitology**, Cambridge, v. 25, n. 2, p. 93-100, 2009.



MONIS, P. T.; THOMPSON, R. C. A. *Cryptosporidium* and *Giardia* zoonoses: fact or fiction. **Infection Genetics and Evolutio**, Amsterdam, v. 3, p. 233-244, 2003.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 10. ed. São Paulo: Atheneu, 2004. 428 p.

O'HANDLEY, R. M. et al. Duration of naturally acquired *Giardiasis* and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. **American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 214, p. 391-396, 1999.

O'HANDLEY, R. M. et al. Prevalence and genotypic characterisation of *Giardia* in dairy calves from Western Australia and Western Canada. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 90, p. 193-200, 2000.

OLSON, M. E. et al. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 68, p. 375-381, 1997.

OLSON, M. E. et al. *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in British Columbia. **Canadian Veterinary Journal**, Bethesda, v. 38, p. 703-706, 1997a.

PARK, J. H. et al. Genotype analysis of *Cryptosporidium* spp. prevalent in a rural village in Hwasun-Gun, Republic of Korea. **Korean Journal of Parasitology**, Colorado Springs, v. 44, p. 27-33, 2006.

PENA, H. F. et al. *Cryptosporidium muris* in dairy cattle in Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 73, n. 3-4, p. 353-355, 1997.

QUÍLEZ, J. et al. Prevalence of *Cryptosporidium* infections in pigs in Aragon (Northeastern Spain). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 67, p. 83, 1996.

RALSTON, B. J. et al. Prevalence and infection pattern of naturally acquired *Giardiasis* and cryptosporidiosis in range beef calves and their dams. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 114, p. 113-122, 2003.

RIBEIRO, M. G. et al. Identification of enteropathogens from buffalo calves with and without diarrhoea in the Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 34-39, 2000.

RIGGS, M. W. Recent advances in cryptosporidiosis: the immune response. **Microbes and Infection**, Amsterdam, v. 4, p. 1067-1080, 2002.

ROSE, J. B.; SMITH, H. V. Waterborne cryptosporidiosis: current status. **Parasitology Today**, Oxford, v. 14, p. 14-22, 1998.

SANTÍN, M. et al. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 122, p. 103–117, 2004.

SEQUEIRA, T. C. G. O et al. Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 103, p. 19-27, 2002.

SILVERLAS, C. et al. Prevalence and associated management factors of *Cryptosporidium* shedding in 50 Swedish dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 90, p. 242-253, 2009.

SIMÕES, D. C. et al. Natural Infection with *Cryptosporidium galli* in Canaries (*Serinus canaria*), in a Cockatiel (*Nymphicus hollandicus*), and in Lesser Seed-Finches (*Oryzoborus angolensis*) from Brazil. **Avian Diseases**, Tempe, v. 52, p. 702-705, 2008.

SINGH, B. B. et al. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Punjab (India) and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 140, p. 162-165, 2006.

SLIFKO, T. R. et al. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. **International Journal for Parasitology**, Amsterdam, v. 30, p. 1379-1393, 2000.

SOUZA, P. N. et al. Natural infection by *Cryptosporidium* sp. *Giardia* sp. and *Eimeria leuckarti* in three groups of equines with different handlings in Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 160, n. 3-4, p. 327-333, 2009.

STURDEE, A. P. et al. Long-term study of *Cryptosporidium* prevalence on a lowland farm in the United Kingdom. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 116, p. 97-113, 2003.

SUNNOTEL, O. Under the microscope: *Cryptosporidium*. *Let Appl Microbiol*, v 43, p 7-16, 2006. Apud FRANCO, B. M. G. Protozoários de veiculação hídrica: relevância em Saúde Pública. **Panam Infectol**, São Paulo, v. 9, n. 4, p. 36-43, 2007.

THOMAZ, A. Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. from fecal samples of felines, canines and bovines in the state of São Paulo, Brazil, **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 150, n. 2, p. 291-296, 2007.

THOMPSON, R. C. A. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections. **Journal of Parasitology**, Colorado Springs, v. 89, p. 134-140, 2003.

THOMPSON, R. C. A. Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. **Parasitology Today**, Oxford, v. 16, n. 5, p. 210-217, 2000.

TROTZ-WILLIAMS, L. A. et al. Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 82, p. 12-28, 2007.

TROUT, J. M. et al. Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* in post-weaned dairy calves. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 130, p. 177-183, 2005.

UGA, S. et al. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocyst shedding in calves in Japan. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 94, p. 27-32, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for drinking: water quality**. 3. ed. Geneva: Typesetter Ltd, 2006. 494 p.

XIAO, L. *Giardia* infection in farm animals. **Parasitology Today**, Oxford, v. 10, p. 436-438, 1994.

ZAJAC, A. M. *Giardiasis*. **Compendium on continuing education for the practicing veterinarian**, Yardley, v. 14, p. 604-611, 1992.

## ANEXO A

Questionário abordando as principais características zootécnicas e sanitárias das propriedades leiteiras em três mesorregiões no sul de Minas Gerais.

Questionário - Diarréia em bezerros

Nº \_\_\_\_\_

Proprietário: \_\_\_\_\_

Fone: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Fazenda: \_\_\_\_\_

Linha de leite: \_\_\_\_\_

Entrega leite à: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_

Horário: Início: \_\_\_\_:\_\_\_\_ Fim: \_\_\_\_:\_\_\_\_ Tempo: \_\_\_\_:\_\_\_\_

Fonte de Renda: ( ) Única ( ) Principal ( ) Secundária

1 Características da propriedade:

1.1 Qual a principal atividade?

( ) Pecuária ( ) Agricultura ( ) Ambos

Tipo: \_\_\_\_\_

1.2 Qual a área total da fazenda

(hectares)? \_\_\_\_\_

a) Área utilizada para o gado de leite? \_\_\_\_\_

b) Outras culturas \_\_\_\_\_

1.3 Quais os tipos de forrageiras são utilizadas na criação de:

Bezerros? \_\_\_\_\_

Novilhas? \_\_\_\_\_

Vacas? \_\_\_\_\_

Comentário: \_\_\_\_\_

2 Rebanho:

2.1 Efetivo bovino:

a) Categorias: Vacas

Total \_\_\_\_\_

Em lactação \_\_\_\_\_

Touros \_\_\_\_\_

Novilhos \_\_\_\_\_

Novilhas \_\_\_\_\_

Bezerros \_\_\_\_\_

2.2 Tem outros animais na propriedade?

Cães:  Não  Sim

Quantos? \_\_\_\_\_

Equinos:  Não  Sim

Quantos? \_\_\_\_\_

Galinhas:  Não  Sim

Quantas? \_\_\_\_\_

Suínos:  Não  Sim

Quantos? \_\_\_\_\_

Outros: \_\_\_\_\_

2.3 Qual a produção de leite total, em média, diária, no momento?

\_\_\_\_\_

E a produção média/vaca/dia? \_\_\_\_\_

2.4 Qual o tipo de leite produzido? ( ) Tipo A ( ) Tipo B ( ) Tipo C

2.5 Qual o grau de sangue do gado?

a) Zebu (raça) \_\_\_\_\_

b) Europeu (raça) \_\_\_\_\_

c) Cruzado ( )  $\frac{1}{2}$  ( )  $\frac{3}{4}$  ( )

d) Outros: \_\_\_\_\_

2.6 Qual é o sistema de criação das vacas:

( ) Sistema intensivo {free stal [ ]; tie stal [ ]} ( ) Semi-intensivo ( )

Extensivo

2.7 Quanto tempo, em média, as vacas permanecem em lactação? \_\_\_\_\_

2.8 Como é feita a ordenha?

( ) Manual ( ) ordenha mecânica: qual

tipo? \_\_\_\_\_

2.9 Quantas ordenhadas são feitas por dia? ( ) uma ( ) duas ( ) três

2.10 Qual o tipo de alimentação dos animais? ( ) somente pasto ( ) pasto e sal mineral ( ) pasto, concentrado e sal mineral ( ) volumoso e concentrado no cocho (confinamento)

2.11 Quais vacinas você aplica no gado?

---

---

---

---

## 2.12 Reprodução:

- Monta natural    Monta natural assistida    Inseminação artificial
- Transferência de embriões

## 2.13 Os animais descartados (velhos ou doentes) são repostos de que maneira?

- com outros animais criados na própria propriedade
- com novos animais comprados

## 2.14 São adquiridos novos animais com que frequência?

- nunca    raramente    com frequência

## 3 Manejo com a vaca gestante:

## 3.1 Na propriedade existe algum tipo de maternidade?

- Não    Sim

Qual? \_\_\_\_\_

## 3.2 Como é a maternidade?

- pasto    piquete    baia    coletiva    individual

## 3.3 Quanto tempo (dias) antes do parto as vacas entram na maternidade?



60       30       21       15       5

3.4 Qual a frequência de observação das vacas na maternidade?

1 vez    2 vezes    3 vezes    2 em 2 horas    o dia todo

3.5 É feito algum tipo de vacinação antes do parto?

Não       Sim

Quais? \_\_\_\_\_

3.6 As vacas são ordenhadas antes do parto?

Não       Sim

4 Parto:

4.1 Em que condição estão as vacas na época do parto?

Magras                       Médias                       Gordas

4.2 As vacas costumam apresentar dificuldade no parto?

Não                       Raramente                       Frequentemente

4.3 Na propriedade, quando se interfere no trabalho de parto da vaca?

Rompimento da bolsa    Pelo tempo que está em trabalho de parto

Quando vê o bezerro

4.4 Quem ajuda no parto?

Veterinário       Proprietário       Funcionário

Outros \_\_\_\_\_

4.5 Com quanto tempo de vida o bezerro sai da maternidade?

- Na hora    12 h                       1 dia     2 a 7 dias     Mais de 7 dias

4.6 E a vaca?

- 1 dia     2 dias    7 dias    10 dias    14 dias

5 Manejo com o bezerro:

5.1 Quais os meses do ano que ocorre o maior número de nascimento de bezerros?

- Jan         Fev         Mar     Abr     Mai         Jun  
 Jul         Ago         Set     Out     Nov         Dez

5.2 Qual o tamanho da área de criação de bezerros? \_\_\_\_\_

5.3 Quantos bezerros têm nesta área? \_\_\_\_\_

5.4. Como é o local onde os bezerros ficam?

- Casinha    Baia coletiva    Baia individual         Piquete (Qual o tipo de forrageira?) \_\_\_\_\_

5.5 Quantos animais são colocados em cada instalação?

- 1             2             3 ou mais         Coletivo

5.6 Quando uma casinha ou baia é desocupada, após quanto tempo ela é ocupada novamente?

- 1 dia    7 dias    15 dias    Muito tempo depois     Imediatamente

5.7 Qual a distância entre as casinhas?

- O suficiente para não ter contato entre os bezerros  
 Há contato                     2 metros    5 metros ou mais

5.8 Como é o piso das casinhas?

- Areia     Pasto     Serragem     Terra    Outro

5.9 Com quanto tempo é feita a troca da casinha de lugar?

- Quando dá barro    Quando o capim foi pastejado    Nunca    Semanalmente

5.10 Os bezerros são ordenados por idade nas casinhas?

- Sim                                     Não

5.11 Qual a posição do bezerreiro?

- Abaixo do curral     Acima do curral    Longe do curral    Ao lado do curral     Dentro do curral

5.12 Bate sol no bezerreiro?

- Sim                                     Não

5.13 Quantos tratadores cuidam da criação de bezerros? \_\_\_\_\_

5.14 Em sua opinião a higiene e a limpeza das instalações de criação de bezerros

- é?  Ótima  Boa     Regular     Ruim

5.15 Qual foi a taxa de mortalidade de bezerros até 12 meses de idade no último ano (2007)? \_\_\_\_\_

## 6 Colostro

6.1 Quanto tempo após o nascimento o bezerro recebe o colostro?

2 h       6 h       Na próxima ordenha       Mama sozinho

6.2 Como o colostro é fornecido ao bezerro?

o bezerro suga direto da mãe       balde       mamadeira       sonda (alimentação esofageal)  outro: \_\_\_\_\_

6.3 E quando a vaca pare durante a noite, quando se dá o colostro?

2 h       Na ordenha da manhã       Mama sozinho

6.4 É feito algum tipo de controle da qualidade do colostro na propriedade? Esse controle é utilizado ajuda na colostragem?

Não       Sim, é usado como critério       Sim, mas não usa como critério

6.5 Quantos litros de colostro o bezerro mama na primeira mamada?

1 a < 2       2 a < 3       3 a 4       À vontade

6.6 Adota o sistema de sonda, para dar o colostro?

sim       não       já usei       nunca ouvi falar

6.7 Na propriedade existe banco de colostro? Caso exista, como é feito o congelamento e o descongelamento do colostro?

Não  Sim:

Congelamento\_\_\_\_\_

Descongelação\_\_\_\_\_

6.8 O que é feito com o leite de transição?

Usado para o bezerro  Outros bezerros  Joga fora  Usado para outros animais da fazenda  Misturado com o leite e vendido para consumo

6.9 Que tipo de colostro é utilizado na alimentação dos bezerros?

comercial  colostro da própria mãe  colostro de outra vaca  um pool de colostro de vacas do rebanho

6.10 Qual o modo de armazenamento do colostro?

congelado  fermentado  fresco

7 Aleitamento:

7.1 Como é fornecido leite para o bezerro?

Mamadeira  Balde  Mama na vaca

7.2 Usa algum alimento para substituir o leite?

Não

Sim,nacional.Qual?\_\_\_\_\_

Sim,importado.Qual?\_\_\_\_\_

7.3 Quantos litros de leite são oferecidos ao bezerro até os 30 dias de idade?

2  3  4  5  6  À vontade

7.4 E entre 30 e 60 dias?

2  3  4  5  6  À vontade

7.5 A que temperatura o leite é fornecido?

Temperatura ambiente  Morno  Frio

7.6 O leite é fornecido sempre no mesmo horário?

Não  Sim

7.7 Quem é o responsável pela alimentação dos bezerros?

Retireiro  Ordenhador  Tratador  Varia

7.8 Os bezerros recebem leite de vacas tratadas com antibióticos?

Não  Sim

7.9 Qual o critério de desmame dos bezerros?

Peso  Produtividade da mãe  Idade  Consumo de ração

7.10 Com que idade os bezerros costumam ser desmamados?

60 dias  90 dias  120 dias  mais que 120 dias

7.11 Com que idade os bezerros recebem água e concentrado pela primeira vez?

Primeiro dia  7 dias  15 dias  30 dias  Não recebe concentrado

7.12 Qual a quantidade de concentrado é oferecida às fêmeas?

Até 0,5Kg       0,5 a 1Kg       Mais de 1Kg       À vontade

7.13 É utilizado algum antibiótico na ração dos bezerros?

Sim       Não       Não soube informar

7.14 Fornece forragem aos bezerros?

Sim       Não

Qual? \_\_\_\_\_

7.15 Com que idade começa a fornecer a forragem aos bezerros?

1 dia       7 dias       15 dias       30 dias

7.16 Os machos permanecem na propriedade até quando?

Até vender       Até 6 meses       Mais que 6 meses

## 8 Diarréia

8.1 Quais as doenças que mais acontecem com os bezerros?

Diarréia       Pneumonia       Tristeza       Verminoses       Carrapatos       Outras

---

8.2 Os bezerros doentes são separados dos sadios?

Sim       Não

8.3 Ocorrem casos de diarréia em bezerros na fazenda?

Nunca       Raramente       Frequentemente

8.4 Em que época do ano é mais frequente a ocorrência de diarréia em bezerros?

Época de ocorrência:

Durante todo o ano

Na época seca

Na época das águas

8.5 Em qual idade é mais frequente a ocorrência de diarreia nos bezerros?

0 a 7 dias de vida       De 7 a 14 dias de vida       De 15 a 21 dias de vida

De 22 a 28 dias de vida       De 30 a 60 dias de vida       De 61 a 90 dias de vida

Outro: \_\_\_\_\_

8.6 Dos bezerros que tem diarreia quantos morrem?

Nunca morrem       Raramente morrem       Frequentemente morrem

Todos morrem       Outro: \_\_\_\_\_

8.7 Você se considera preparado para identificar os bezerros com diarreia?

Sim       Não       Mais ou menos

8.8 Quais os principais sinais observados nos bezerros com diarreia (pode indicar mais de um sinal)?

Fezes moles       Pêlo arrepiado       Desidratação       Falta de apetite

Outros: \_\_\_\_\_

Não soube informar

8.9 Em sua opinião a frequência da diarreia em bezerros na fazenda é:

Alta       Média       Baixa



8.10 Quantos bezerros estão com diarreias hoje? \_\_\_\_\_

8.11 Qual o tratamento que é feito para os bezerros com diarreia?  
\_\_\_\_\_

8.12 Como você avalia a qualidade de higiene e limpeza das instalações de criação de bezerros?

Ótima             Boa             Regular             Ruim

8.13 Com que frequência é feito a limpeza das instalações dos bezerros?

diariamente     Semanalmente     a cada 15 dias     mensalmente

Outro: \_\_\_\_\_

8.14 Com que frequência é feito a desinfecção das instalações dos bezerros?

diariamente     Semanalmente     a cada 15 dias     mensalmente

Outro: \_\_\_\_\_

8.15 A frequência de diarreia nos bezerros em 2007 foi:

Alta             Média             Baixa

8.16 Qual a origem da água utilizada para os bezerros?

Natural             Reservatório             Empresa (Copasa)

9. Manejo Geral e Práticas Estressantes:

9.1 Faz cura de umbigo?

Não  Sim

9.2 Por quantos

dias? \_\_\_\_\_

Nº de vezes por

dia? \_\_\_\_\_

9.3 Qual produto é utilizado? Quantas vezes ao dia?

Spray  Iodo 10%  Álcool iodado 5%  Iodo de ordenha

Curumbi  outros

produtos \_\_\_\_\_

9.4 Com que idade é feita a descorna dos animais?

Até 15 dias  30 dias ou mais  Varia  Não faz descorna

9.5 Remove teta supranumerária (teta “extra”)?

Não  Sim; com que

idade? \_\_\_\_\_

9.6 Qual o tipo de identificação dos animais? Com que idade esta identificação é feita?

Brinco  Ferro  Nome próprio  Nome da mãe  Foto

Idade: \_\_\_\_\_

9.7 Faz vermifugação dos bezerros?

Sim  Não