

**INFEÇÃO NATURAL POR *Cryptosporidium parvum*: RELATO DE CASO**

*(Natural infection with *Cryptosporidium parvum*: case report)*

Ana Paula Molinari Candeias, Karim Cristhine Pase Montagnini, Liliane Aparecida Oliveira de Paula, Ana Julia Dal Curtivo Back, Fransael Franklyn Araújo da Silva, Eduardo Michelon do Nascimento, Geane Maciel Pagliosa, Aline de Marco Viott

Universidade Federal do Paraná, Palotina, Paraná, Brasil.

\*Correspondência: anapaula.molinari@ufpr.br

**RESUMO:** A diarreia neonatal bovina é uma doença de origem multifatorial e entre os agentes envolvidos está o *Cryptosporidium parvum*, que ganha destaque por ser o principal protozoário responsável por ocasionar diarreia em bezerros neonatos e possuir elevado potencial zoonótico. O presente trabalho teve como objetivo, descrever um caso de infecção natural por *C. parvum* em um bovino diagnosticado no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) e no Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais (DOPA) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina. Foi atendido no Hospital Veterinário da UFPR, um bovino, fêmea, Girolando, com 10 dias de vida, e conforme o histórico, o animal foi adquirido de outra propriedade que realizava a colostragem de forma inadequada, e desde a aquisição, o animal começou a apresentar manifestações clínicas como prostração e diarreia amarelada e fétida. Realizou-se tratamento, porém sem sucesso, e o animal foi a óbito, sendo encaminhado para o LPV para a autópsia. No exame macroscópico, observou-se baixo escore corporal com discreta deposição de tecido adiposo em subcutâneo e mesentério, a mucosa oral e ocular estavam levemente pálidas e no intestino, notouse leve distensão por conteúdo gasoso e áreas multifocais com leve quantidade de conteúdo avermelhado líquido, por vezes, amarelado e fétido. Na análise histopatológica, notou-se nos no ápice das vilosidades, a presença leve de estruturas multifocais, arredondadas, eosinofílicas, medindo entre 1 a 2µm, compatíveis com *Cryptosporidium* spp. Parte do conteúdo fecal foi remetido ao DOPA, onde realizou-se a análise microscópica e molecular. Para a análise microscópica, foi confeccionado esfregaço fecal com o conteúdo resultante da centrifugo sedimentação, posteriormente, corado pelo método de Ziehl-Neelsen modificado (ORTOLANI, 2000). A análise confirmou a identificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. Após a análise microscópica a amostra foi submetida a clarificação, extração de DNA e nested-PCR (nPCR) (XIAO et al. 1999). Para a realização da PCR (Reação em Cadeia pela Polimerase) e nPCR, uma alíquota da amostra foi utilizada para a extração de DNA utilizando o Kit ChargeSwitch® gDNA Mini Tissue (Invitrogen). A região 18 SSU rRNA foi selecionada como sequência alvo para amplificação de DNA, sendo que, o amplicon esperado era de 826-864pb. A reação foi realizada com o volume final de 25µL e o produto amplificado foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 1,6%. Com o intuito de identificar a espécie envolvida na infecção, após a amostra apresentar resultado positivo na técnica de nPCR, esta foi encaminhada para o sequenciamento e, após a análise da sequência de dados obtida, foi determinado que *Cryptosporidium parvum* era a espécie envolvida neste caso. Desta forma, o monitoramento dos animais para a obtenção do diagnóstico precoce é de suma importância para evitar as possíveis perdas na produção animal e gerenciar o risco da transmissão para seres humanos.

**Palavras-chave:** Ziehl-Neelsen; nested-PCR; oocistos; protozoário

**Referências**

- GROSS, L. T.; IHRKE, P. J.; WALDER, E. J.; AFFOLTER, V. K. **Doenças de pele do** ORTOLANI, E. L., 2000. Standardization of the modified Ziehl-Neelsen technique to stain oocysts of *Cryptosporidium* sp. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária. v. 9, n. 1, p. 29-31, 2000.
- XIAO, L.; ALDERISIO, K.; LIMOR, J.; ROYER, M.; LAL, A. A. Identification of species and sources of *Cryptosporidium* oocysts in storm waters with a small subunit rRNA based diagnostic and genotyping tool. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 66, n. 12, p. 5492-5498, 2000.