



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE

INSTITUTO BIOMÉDICO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA
APLICADAS**

FLÁVIA TERUMI NAKASHIMA

**ESPÉCIES DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. EM HUMANOS E OUTROS ANIMAIS
NA AMÉRICA LATINA: REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

Niterói, RJ

2021

FLÁVIA TERUMI NAKASHIMA

**ESPÉCIES DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. EM HUMANOS E OUTROS ANIMAIS
NA AMÉRICA LATINA: REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Parasitologia

Orientador: Prof. Dr. Alynne da Silva Barbosa

Coorientador: Prof. Dr. Claudia Maria Antunes Uchoa Souto Maior

Niterói, RJ

2021

Ficha catalográfica automática - SDC/BIB
Gerada com informações fornecidas pelo autor

N163e Nakashima, Flávia Terumi
Espécies de *Cryptosporidium* spp. em humanos e outros animais na América Latina: Revisão Sistemática e Metanálise / Flávia Terumi Nakashima ; Alynne da Silva Barbosa, orientadora ; Cláudia Maria Antunes Uchôa, coorientadora. Niterói, 2021.
95 f. : il.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2021.

DOI: <http://dx.doi.org/10.22409/PPGMPA.2021.m.15999511771>

1. Criptosporidiose. 2. Espécies. 3. Revisão. 4. Metanálise. 5. Produção intelectual. I. Barbosa, Alynne da Silva, orientadora. II. Uchôa, Cláudia Maria Antunes, coorientadora. III. Universidade Federal Fluminense. Instituto Biomédico. IV. Título.

CDD -

FLÁVIA TERUMI NAKASHIMA

**ESPÉCIES DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. EM HUMANOS E OUTROS ANIMAIS
NA AMÉRICA LATINA: REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Parasitologia

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Daniela Leles de Souza (Universidade Federal Fluminense - Titular)

Prof^a. Dr^a. Teresa Cristina Bergamo do Bomfim (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - Titular)

Dr^a. Flavia de Souza Cunha (Universidade Federal Fluminense - Titular)

Prof^a. Dr^a. Adriana Pittella Sudré (Universidade Federal Fluminense - Suplente)

Prof^a. Dr^a. Beatriz Coronato Nunes (Faculdade de Medicina de Petrópolis - Suplente)

Niterói, RJ

2021

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Takechi e Magali, por todo apoio, incentivo e ensinamentos concedidos durante essa trajetória. Muito obrigada por terem persistido comigo!

À minha avó, Take Machida (*in memoriam*), por ter me ensinado a ter força e resiliência. Sei que você olha por mim e que está comigo a todo momento, essa conquista também é sua.

À minha irmã, Larissa Yumi, por muitas vezes ter sido uma luz na minha vida nos momentos que mais precisei.

Aos meus amigos, por terem acreditado em mim quando muitas vezes nem eu o fiz.

Às meninas da turma do mestrado, especialmente Ariela Both e Mariana Nunes, tudo isso teria sido bem menos leve sem vocês ao meu lado. Muito obrigada pela diversão, pelo apoio e pelas horas infinitas de conversas motivacionais.

À minha orientadora professora Alynne Barbosa, pelo carinho e pelas conversas ao longo desses anos de laboratório.

À minha co-orientadora, professora Claudia Uchôa, por todo carinho, companheirismo, compreensão e paciência durante essa jornada. Se não fosse por você, não seria a profissional que sou hoje. Muito obrigada por todos esses anos juntas e por ser uma inspiração para mim.

À professora Ana Beatriz Monteiro Fonseca, pela boa vontade e por ser muito prestativa não só em realizar as análises estatísticas, mas sempre esclarecer minhas dúvidas e me ajudar.

Ao Luiz Fernando Coelho, por ter contribuído para a construção dos elementos gráficos do trabalho. Muito obrigada pela paciência e por fazer os mapas com tanta boa vontade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo apoio financeiro.

RESUMO

A criptosporidiose é uma parasitose causada por um protozoário que habita principalmente o trato gastrointestinal de diversas espécies de hospedeiros vertebrados. Até 2019 foram descritas 39 espécies do gênero *Cryptosporidium*, sendo algumas de transmissão zoonótica e outras de transmissão antroponótica, com mais de 20 espécies causando infecção em humanos. Estimativas da prevalência dessa parasitose em humanos e outros animais são escassas na América Latina, sendo essa informação necessária para a compreensão da epidemiologia do parasito. O objetivo desse estudo foi determinar a prevalência de espécies de *Cryptosporidium* spp. em animais, incluindo seres humanos, na América Latina através de uma revisão sistemática e metanálise. Foi conduzida uma busca no período de julho a outubro de 2019 em publicações das bases de dados PubMed, SciELO e LILACS usando os descritores “*Cryptosporidium*”, “species” combinado com o nome de cada país da América Latina. A seleção inicial foi realizada pela leitura dos resumos dos artigos e aqueles considerados elegíveis foram analisados na íntegra. Informações dos artigos foram extraídas e armazenadas em bancos de dados e analisados por meio do programa de linguagem computacional R para o cálculo de prevalência combinada e construção dos gráficos de floresta. Dos artigos recuperados, 59 foram selecionados para a construção do banco de dados. Dezenove espécies de *Cryptosporidium* foram evidenciadas na América Latina, sendo oito em humanos e 16 em outros animais. A espécie com maior prevalência combinada em humanos foi *Cryptosporidium hominis* (3,1% IC 95% 1,3%-7,5%) e entre outros animais foi *Cryptosporidium parvum* (0,7% CI 95% 0,2%-2,4%). Considerando animais de estimação/companhia, de produção e exóticos/cativeiro, as espécies com maior prevalência foram *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium galli*, respectivamente. A prevalência geral para humanos foi 12% (IC 95% 7-22%) e 18% (IC 95% 11-27%) para outros animais. *Cryptosporidium parvum* foi a espécie mais documentada e a maioria dos estudos foi realizada em animais de produção. Foram observados 59 estudos identificando espécies de *Cryptosporidium* spp. na América Latina e ampla circulação de *Cryptosporidium parvum*.

Palavras-chave: Prevalência. Criptosporidiose. Revisão. Metanálise. Espécies.

ABSTRACT

Cryptosporidiosis is a parasitosis caused by a protozoan that mainly inhabits the gastrointestinal tract of several species of vertebrate hosts. By 2019, 39 species of the genus *Cryptosporidium* have been described, some of which are zoonotic and others with anthroponotic transmission, with more than 20 species causing infection in humans. Estimates of the prevalence of this parasitosis in humans and other animals are lacking in Latin America and this information is necessary to understand the epidemiology of the parasite. The aim of this study was to determine the prevalence of species of *Cryptosporidium* spp. in animals, including humans, in Latin America through systematic review and meta-analysis. A search was conducted from July to October 2019 in publications from the PubMed, SciELO and LILACS databases using the descriptors “Cryptosporidium”, “species” combined with the name of each Latin American country. The initial selection was performed by reading the abstracts of the articles and those considered eligible were fully analyzed. Information from the articles was extracted, stored in databases and analyzed using the computer language program R for the calculation of pooled prevalence and construction of forest plot graphs. Of the articles retrieved, 59 were selected for database construction. Nineteen species of *Cryptosporidium* were found in Latin America, eight in humans and 16 in other animals. The species with the highest pooled prevalence in humans was *Cryptosporidium hominis* (3.1% CI 95% 1,3%-7.5%) and among other animals was *Cryptosporidium parvum* (0.7% CI 95% 0.2%-2.4%). Considering pets, livestock and exotic/captive, the species with the highest prevalence were *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium galli*, respectively. The pooled prevalence for humans was 12% (95% CI 7-22%) and 18% (95% CI 11-27%) for other animals. *Cryptosporidium parvum* was the most documented species and most studies were carried out on livestock animals. There were few studies on species of *Cryptosporidium* spp. in Latin America and *Cryptosporidium parvum* had wide circulation.

KEYWORDS: Prevalence. Cryptosporidiosis. Review. Meta-analysis. Species.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Espécies válidas do gênero <i>Cryptosporidium</i> , respectivos hospedeiros principais e infecção humana.....	15
Figura 1 - Esquema de um oocisto de <i>Cryptosporidium andersoni</i> , apresentando parede (A), quatro esporozoítos (B) e corpo residual central (C). Fonte: Modificado de Lindsay <i>et al.</i> , 2000.....	17
Figura 2 – Ciclo biológico de <i>Cryptosporidium</i> sp. em células intestinais do hospedeiro. Fonte: adaptado de Bouzid <i>et al.</i> , 2013.....	19
Figura 3 – Proposta de esquema do ciclo de vida de <i>Cryptosporidium</i> sp. fora de célula hospedeira (em biofilme ou no lúmen intestinal). Fonte: adaptado de Clode <i>et al.</i> , 2015.....	21
Quadro 2 - Critérios e pontuação utilizados para avaliação da qualidade dos artigos utilizados na revisão sistemática sobre criptosporidiose na América Latina.....	44
Figura 4 - Fluxograma detalhando a seleção de estudos elegíveis para revisão sistemática e metanálise referente a identificação das espécies de <i>Cryptosporidium</i> sp. na América Latina, 2020.....	47
Figura 5 – Gráfico apresentando número de artigos analisados referente a espécies de <i>Cryptosporidium</i> na América Latina por país, recuperados das bases de dados PubMed, SciELO e LILACS.....	55
Figura 6 - Gráfico de floresta referente à prevalência do gênero <i>Cryptosporidium</i> em humanos na América Latina. A <i>Cryptosporidium hominis</i> e B – <i>Cryptosporidium parvum</i>	57
Figura 7 - Prevalência (%) das espécies do gênero <i>Cryptosporidium</i> por país da América Latina em humanos, a partir de revisão sistemática e metanálise no período de 1999 a 2019.....	60
Figura 8 - Gráfico de floresta referente à prevalência de <i>Cryptosporidium parvum</i> em animais na América Latina.....	61
Figura 9 - Prevalência (%) por espécie de <i>Cryptosporidium</i> em outros animais, excluindo humanos, nos países da América Latina, a partir de revisão sistemática do período de 1999 a 2019.....	63
Figura 10 - Gráfico de floresta referente à prevalência de <i>Cryptosporidium</i> spp. na América Latina em humanos, 1999-2019.....	65
Figura 11 - Gráfico de floresta referente a prevalência de <i>Cryptosporidium</i> spp. em animais, excluindo humanos, na América Latina no período de 1999 a 2019.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número geral de artigos científicos recuperados em três bases de dados com o uso dos descritores “Cryptosporidium” e “species” por país da América Latina, 2019.....	46
Tabela 2 - Identificação e informações sobre origem amostral, espécies encontradas e técnicas de diagnóstico dos estudos incluídos na revisão sistemática e metanálise sobre espécies de <i>Cryptosporidium</i> na América Latina, 2020.....	49
Tabela 3 - Espécies de <i>Cryptosporidium</i> spp., positividade e hospedeiros na América Latina por meio de revisão sistemática do período de 1999 a 2019.....	56
Tabela 4 - Prevalência global e prevalência combinada pelo modelo de efeitos aleatórios e pelo modelo de efeitos fixos para espécies do gênero <i>Cryptosporidium</i> spp. em humanos na América Latina.....	58
Tabela 5 - Informações sobre a positividade por espécie de <i>Cryptosporidium</i> em humanos em países da América Latina, a partir de revisão sistemática no período de 1999 a 2019.....	59
Tabela 6 - Prevalência global e prevalência combinada pelo modelo de efeitos aleatórios e pelo modelo de efeitos fixos para espécies do gênero <i>Cryptosporidium</i> em animais, excluindo humanos, na América Latina.....	62
Tabela 7 - Positividade por espécie de <i>Cryptosporidium</i> em animais, excluindo humanos, de acordo com a categoria do animal: estimação, produção e exótico/cativeiro em países da América Latina, a partir de revisão sistemática do período de 1999 a 2019.....	64

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
2.1 O PARASITO.....	13
2.2 MORFOLOGIA E CICLO BIOLÓGICO.....	16
2.3 PATOGENIA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	21
2.4 DIAGNÓSTICO	23
2.5 EPIDEMIOLOGIA.....	27
2.5.1 CRIPTOSPORIDIOSE NO MUNDO EM HUMANOS	27
2.5.2 CRIPTOSPORIDIOSE NO MUNDO EM OUTROS ANIMAIS.....	32
2.5.3 CRIPTOSPORIDIOSE NA AMÉRICA LATINA EM HUMANOS	33
2.5.4 CRIPTOSPORIDIOSE NA AMÉRICA LATINA EM OUTROS ANIMAIS	36
3 REVISÃO E METANÁLISE.....	38
4 OBJETIVO.....	40
4.1 OBJETIVO GERAL.....	40
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	40
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
5.1 RECUPERAÇÃO DE ESTUDOS CIENTÍFICOS EM BASES DE DADOS.....	41
5.2 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE.....	41
5.3 CONSTRUÇÃO DO BANCO DE DADOS.....	42
5.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	44
5.5 ANÁLISE DOS DADOS.....	44
6 RESULTADOS.....	46
7 DISCUSSÃO.....	68
8 CONCLUSÕES	75
9 REFERÊNCIAS.....	76
APÊNDICE - Informações sobre origem amostral e os hospedeiros animais	94

1- INTRODUÇÃO

A criptosporidiose é uma infecção causada por espécies do gênero *Cryptosporidium*, que são protozoários intracelulares com habitat principal no trato gastrointestinal de uma diversidade de hospedeiros, incluindo o ser humano e outros animais (GUERRANT,1997). Esse parasito é um dos patógenos entéricos mais comuns mundialmente, afetando tanto indivíduos imunocompetentes como imunocomprometidos e foi classificado pelo *Center for Disease Control* (CDC) como um patógeno emergente (MEINHARDT *et al.*, 1996; GUERRANT, 1997; CHEN *et al.*, 2002).

Cryptosporidium spp. foi inicialmente classificado no filo Apicomplexa e na classe Coccidia. Porém por apresentar características que o distingue de outros coccídios e o aproxima das gregarinas, como completar seu ciclo de vida na ausência de um hospedeiro, a presença de grandes estágios de gamonte extracelular, sizígia e capacidade de adaptação ao ambiente mudando sua estrutura celular, foi transferido formalmente por Ryan *et al.* (2016) para a subclasse Cryptogregarina inserida na classe Gregarinomorpha.

A estrutura infectante do parasito, para hospedeiros suscetíveis, é o oocisto esporulado, o qual apresenta forma esférica ou ovóide com diâmetro entre 4,5 a 6 µm e contém em seu interior 4 esporozoítos periféricos e um corpo residual central (DEL COCO *et al.*, 2009; BOULTER-BITZER *et al.*, 2007). Sua transmissão pode ser de um indivíduo infectado a outro, por meio de contato direto por via fecal-oral ou indiretamente por água ou alimentos contaminados. O parasito pode ser transmitido entre hospedeiros humanos, o que caracteriza a transmissão antroponótica ou de outros animais para humanos e vice-versa caracterizando a transmissão zoonótica (CHEN *et al.*, 2002).

A duração e a severidade das manifestações clínicas dependem do estado imune e da idade do hospedeiro infectado, espécie/genótipo parasitário e dose infectante (CAREY *et al.*, 2004). Em imunocompetentes, a infecção geralmente é assintomática ou auto-limitada, já em imunocomprometidos, o parasito pode se disseminar para outros sítios, como os pulmões e a árvore biliar (CHEN *et al.*, 2002; MOR *et al.*, 2010).

A infecção em humanos por *Cryptosporidium* sp. é distribuída mundialmente nas populações urbanas e rurais em países desenvolvidos e em desenvolvimento, configurando uma distribuição ampla (MEINHARDT *et al.*, 1996). Na Ásia, Lim *et al.* (2013) reportaram que a criptosporidiose é frequente em humanos e animais em países do sudeste desse continente, como Laos, Vietnã, Filipinas, Tailândia e Camboja. Mahmoudi *et al.* (2017) em um artigo de revisão relataram prevalências variando de 1,8% a 49% para *Cryptosporidium* sp. em humanos de diversos países como Japão, China, Arábia Saudita, Líbano e Turquia.

No continente americano, a criptosporidiose é uma grande preocupação devido ao aumento do número de casos em indivíduos imunocomprometidos e em crianças na Costa Rica, Brasil, Argentina e Estados Unidos da América (PUMIPUNTU; PIRATAE, 2018). As espécies relacionadas mais frequentemente a infecção humana são *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium hominis*.

Considerando a prevalência em outros animais, *Cryptosporidium* já foi relatado em cães, gatos e porcos na China, bovinos na Índia, em aves e gado no Japão e galinhas na Turquia (MAHMOUD *et al.*, 2017, EL-ALFY; NISHIKAWA, 2020; WANG *et al.*, 2020). No Brasil, há relatos em diversos animais entre mamíferos e aves (PAZ; SILVA *et al.* 2014; NOVAES *et al.*, 2018; NETO *et al.*, 2020). Observa-se uma maior diversidade de espécies infectando outros animais, algumas com maior especificidade a hospedeiros e outras com perfil mais eurixênico e até mesmo zoonótico.

As informações sobre a prevalência na América Latina variam de acordo com a região e o grupo estudado, sendo fornecidas informações pontuais nos diversos países, não havendo informações robustas sobre as espécies que circulam nessa região do Continente Americano entre animais, incluindo humanos. Diante desse contexto e da ausência de um estudo que contemple a informação global da criptosporidiose nessa região, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão sistemática e metanálise sobre a prevalência das espécies de *Cryptosporidium* sp. em humanos e outros animais na América Latina.

2- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1- O PARASITO

As primeiras observações sobre o gênero *Cryptosporidium* foram realizadas por Ernest Edward Tyzzer em 1907, o qual descreveu a espécie *Cryptosporidium muris* em glândulas gástricas de ratos de laboratório (TYZZER, 1907). Posteriormente, o mesmo autor publicou uma descrição completa do ciclo biológico e descreveu uma segunda espécie, também isolada de ratos de laboratório, *Cryptosporidium parvum* (TYZZER, 1910; TYZZER 1912). Embora a primeira descrição do parasito tenha sido realizada em 1907, foi apenas na década de 1970, depois que a importância médica e veterinária deste protozoário foi reconhecida, que os primeiros casos em humanos e em animais foram relatados por Nime *et al.* e Meisel *et al.* ambos em 1976 e por Panciera *et al.* (1971), respectivamente. Apesar da descrição deste parasito ter ocorrido no início do século XX, estudos realizados no século XXI tem registrado presença de antígenos de *Cryptosporidium* spp. em materiais arqueológicos (LELES *et al.*, 2019; MORROW; REINHARD, 2016).

Cryptosporidium spp. inicialmente foi classificado como um coccídio, porém sua taxonomia permaneceu sob discussão por este apresentar características que o distinguiam de outros coccídios como: a possibilidade de autoinfecção endógena, diversos sítio de infecção, transmissibilidade cruzada e relativa especificidade de hospedeiros (SMITH *et al.*, 2007; DEL COCO *et al.*, 2009). De maneira geral, não é possível identificar espécies pela morfologia dos oocistos, sendo necessária a utilização de técnicas moleculares para esse fim, bem como na identificação de genótipos (SMITH *et al.*, 2007; FAYER, 2004).

Em 2015, Clode *et al.*, em um artigo de opinião apontaram a capacidade de multiplicação e desenvolvimento do parasito em localização epicelular e extracelular, ambas podendo ocorrer simultaneamente para a produção em massa de novos oocistos. Os mesmos autores também sugeriram uma proximidade do gênero *Cryptosporidium* com as gregarinas.

Em 2016, Ryan *et al.*, baseado em informações microscópicas, moleculares, genômicas e bioquímicas que demonstraram similaridade entre *Cryptosporidium* e as gregarinas, transferiram esse parasito para a classe Gregarinomorpha e para a nova subclasse Cryptogregarina, que tem o mesmo como único membro. Gregarinas

são um grupo diverso de parasitos apicomplexos primitivos, grandes e unicelulares que infectam primariamente os intestinos e outros espaços extracelulares de invertebrados e vertebrados como anelídeos, artrópodes e moluscos os quais são abundantes em fontes de água naturais. (RYAN *et al.*, 2016). Esses microrganismos possuem diversidade na arquitetura e dimensão celular, dependendo do ambiente em torno. Essa habilidade de adaptação ao ambiente é vista também no gênero *Cryptosporidium*, o qual exibe diversidade de estruturas celulares de acordo com o meio no qual se encontra (LEANDER *et al.*, 2003; LEANDER, 2008; VALIGUROVÁ, 2012; ALDEYARBI; KARANIS, 2016).

Uma das semelhanças entre *Cryptosporidium* e as gregarinas é a habilidade de completar seu ciclo de vida na ausência de uma célula hospedeira. Hijjawi *et al.* (2004) descreveram o desenvolvimento completo do parasito em cultura axênica, revelando que *Cryptosporidium* não é um parasito epicelular obrigatório, podendo viver fora de células, em biofilme ou no lúmen intestinal. Além disso, este parasito apresenta uma organela de alimentação, chamada epimerito por meio da qual interage com a célula hospedeira (RYAN *et al.*, 2016).

Outra característica que relaciona o gênero *Cryptosporidium* com as gregarinas é a presença de estágios extracelulares multinucleados (*gamont-like*) no ciclo de vida, sendo os mesmos observados primeiramente por Hijjawi *et al.* em 2002. Posteriormente, Rosales *et al.* (2005), confirmaram a existência de estágios extracelulares do parasito em cultura *in vitro* utilizando a microscopia óptica, de Normarski e a microscopia eletrônica de transmissão.

Foram descritas, até 2020, 39 espécies válidas no gênero *Cryptosporidium* (Quadro 1) infectando mais de 150 espécies diferentes de hospedeiros. As espécies *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium hominis* são as mais frequentes em humanos, sendo associadas a surtos de criptosporidiose (RYAN *et al.*, 2016; KHAN *et al.*, 2017; MORRIS *et al.*, 2019). A infecção humana por outras espécies deste parasito já foi relatada, especialmente por *Cryptosporidium meleagridis* e *Cryptosporidium viatorum*, sendo a última associada à diarreia do viajante (MMBAGA; HOUP, 2017). Segundo Khan *et al.* (2017) mais de 20 espécies são capazes de determinar infecção moderada a severa em humanos. Mais de 40 genótipos de *Cryptosporidium* sp. vindas de vários hospedeiros vertebrados foram

descritos, sendo reportadas diferenças no perfil clínico de acordo com o genótipo, a espécie e o subtipo (CERTAD *et al.*, 2017).

Quadro 1 - Espécies válidas do gênero *Cryptosporidium*, respectivos hospedeiros principais e infecção humana

Espécie	Principais hospedeiros	Relatos de Infecção em humanos
<i>Cryptosporidium andersoni</i>	Bovinos	Relatado
<i>Cryptosporidium baileyi</i>	Galinhas	Não relatado
<i>Cryptosporidium felis</i>	Gatos	Relatado
<i>Cryptosporidium meleagridis</i>	Aves e humanos	Relatado
<i>Cryptosporidium muris</i>	Roedores e humanos	Relatado
<i>Cryptosporidium avium</i>	Periquitos	Não relatado
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Mamíferos	Relatado
<i>Cryptosporidium serpentis</i>	Répteis	Não relatado
<i>Cryptosporidium wrairi</i>	Porquinhos da Índia	Não relatado
<i>Cryptosporidium bovis</i>	Bovinos	Relatado
<i>Cryptosporidium ryanae</i>	Bovinos	Não relatado
<i>Cryptosporidium hominis</i>	Humanos	Relatado
<i>Cryptosporidium canis</i>	Canídeos	Relatado
<i>Cryptosporidium galli</i>	Aves	Não relatado
<i>Cryptosporidium molnari</i>	Peixes	Não relatado
<i>Cryptosporidium cuniculus</i>	Coelhos	Relatado
<i>Cryptosporidium fayeri</i>	Marsupiais	Relatado
<i>Cryptosporidium macropodum</i>	Marsupiais	Não relatado
<i>Cryptosporidium suis</i>	Suínos	Relatado
<i>Cryptosporidium ubiquitum</i>	Ruminantes	Relatado
<i>Cryptosporidium varanii</i>	Répteis	Não relatado
<i>Cryptosporidium scrofarum</i>	Suínos	Relatado
<i>Cryptosporidium agni</i>	Ovinos e Caprinos	Não relatado
<i>Cryptosporidium fragile</i>	Anfíbios	Não relatado
<i>Cryptosporidium rubeyi</i>	Esquilos	Não relatado
<i>Cryptosporidium viatorum</i>	Humanos	Relatado
<i>Cryptosporidium huwi</i>	Peixes	Não relatado
<i>Cryptosporidium apodemi</i>	Ratos	Não relatado

Fonte: adaptado de Xiao (2004), Zahedi *et al.* (2016), Slapeta (2013), Holubová *et al.* (2016) Kvác *et al.* (2016), Khan *et al.* (2017), Zahedi *et al.* (2017), Horčíčková *et al.* (2019), Morris *et al.*, 2019.

Quadro 1 - Espécies válidas do gênero *Cryptosporidium*, respectivos hospedeiros principais e infecção humana (continuação)

<i>Cryptosporidium tyzzeri</i>	Roedores	Relatado
<i>Cryptosporidium erinacei</i>	Ouriços	Relatado
<i>Cryptosporidium proliferans</i>	Roedores, esquilos, equídeos	Não relatado
<i>Cryptosporidium ditrichi</i>	Ratos	Relatado
<i>Cryptosporidium ducismarci</i>	Tartaruga	Não relatado
<i>Cryptosporidium homai</i>	Porquinho da Índia	Não relatado
<i>Cryptosporidium proventriculi</i>	Psitacídeos	Não relatado
<i>Cryptosporidium alticolis</i>	Arganazes (roedor)	Não relatado
<i>Cryptosporidium microti</i>	Arganazes (roedor)	Não relatado
<i>Cryptosporidium testudinis</i>	Tartaruga	Não relatado
<i>Cryptosporidium occultus</i>	Roedores	Relatado

Fonte: adaptado de Xiao (2004), Zahedi *et al.*(2016), Slapeta (2013), Holubolová *et al.*(2016) Kvác *et al.* (2016), Khan *et al.* (2017), Zahedi *et al.* (2017), Horčíčková *et al.* (2019), Morris *et al.*, 2019.

2.2- MORFOLOGIA E CICLO BIOLÓGICO

A forma infectante do parasito é o oocisto esporulado, sendo este esférico ou ovoide, com 4,5 a 6 μm de diâmetro médio. O oocisto esporulado possui 4 esporozoítos em forma de banana e um corpo residual em seu interior (Figura 1) (FAYER, 2004; O'DONOGHUE, 1995). A parede do oocisto possui três camadas visíveis ao microscópio eletrônico e apresenta uma linha de sutura de onde emergem os esporozoítos, característica única do gênero *Cryptosporidium* (FAYER, 2004; PETRY, 2000). A parede do oocisto, rica em ligações de dissulfeto, permite manter a capacidade infectante do parasito. A temperatura exerce um papel fundamental na viabilidade dos oocistos, sendo os mesmos viáveis a temperaturas entre 4 °C e 22 °C, e sobrevivem a -20 °C. Em temperaturas extremas, a viabilidade e a infectividade podem ser afetadas devido à perda de integridade da parede do oocisto (CAREY *et al.*, 2004; FAYER, 2004).

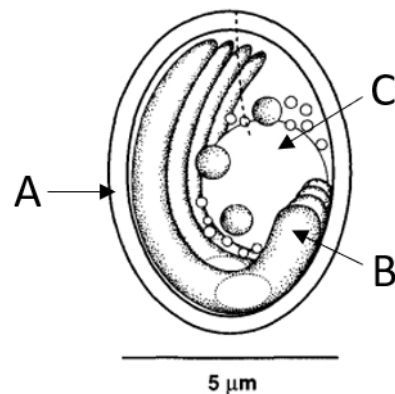


Figura 1 - Esquema de um oocisto de *Cryptosporidium andersoni*, apresentando parede (A), quatro esporozoítos (B) e corpo residual central (C). Fonte: Modificado de Lindsay *et al.*, 2000.

O corpo residual apresenta elementos necessários à sobrevivência do parasito. Em seu interior há um vacúolo lipídico, com inclusões proteicas, ribossomos, citomembranas e grânulos de amilopectina, o que provê a nutrição aos esporozoítos (DEL COCO *et al.*, 2009).

O esporozoíto apresenta forma de vírgula, com o extremo apical afinado e o posterior arredondado. Os microtúbulos, situados lateralmente debaixo da membrana plasmática e unidos ao anel polar, percorrem o corpo do esporozoíto do ápice até a parte média, permitindo assim seu deslocamento e ajudando no processo de invasão (CAREY *et al.*, 2004).

No extremo anterior do esporozoíto é encontrado o complexo apical, composto por organelas secretórias: roptrias, micronemas e grânulos densos, e componentes não vesiculares: conóide e microtúbulos subpeliculares. Dentre as organelas secretórias, as roptrias e os micronemas produzem e secretam uma complexa mistura de proteínas que auxiliam na adesão e invasão da célula hospedeira (BOULTER-BITZER *et al.*, 2007). Do extremo anterior, surge um vacúolo que se funde com a membrana celular para formar uma interface hospedeiro-parasito, formando o vacúolo parasitóforo de localização intracelular e extracitoplasmática (FAYER, 2004). No extremo posterior do esporozoíto se situa o núcleo e próximo ao mesmo localiza-se uma organela semelhante a uma mitocôndria (PETRY, 2000).

O ciclo de vida é monoxeno e geralmente ocorre em células do trato gastrointestinal do hospedeiro (Figura 2). Este consiste em diversas fases de desenvolvimento, incluindo ciclos sexuado e assexuado. A infecção é iniciada pela dissolução da linha de sutura do oocisto, por diferença de temperatura, pH, presença de sais biliares e enzimas pancreáticas, o que possibilita a excitação dos quatro esporozoítos (REDUKER *et al.* 1985; FAYER, 2004). O desencistamento só é observado em parasitos metabolicamente ativos, e envolve a ação de enzimas parasitárias e intestinais (BOULTER-BITZER *et al.*, 2007; PETRY, 2004). O contato direto dos oocistos com o ácido siálico, presente nas células intestinais, também constitui um estímulo para o desencistamento (CHOUDHRY *et al.*, 2009). Os esporozoítos liberados são móveis e invadem ativamente a célula hospedeira (WETZEL *et al.*, 2005).

Uma organela de fixação ou de alimentação se desenvolve entre o parasito e o citoplasma celular, o epimerito. Neste local, o parasito se estabelece, se desenvolve e realiza reprodução assexuada ou fissão nuclear múltipla, também conhecida como merogonia. Esse processo dará origem ao meronte do tipo I com oito merozoítos em seu interior, a qual é estruturalmente parecida com o esporozoíto encontrado dentro do oocisto esporulado. Após a ruptura do meronte, os merozoítos liberados invadem novas células epiteliais e desenvolvem em seu interior um meronte do tipo I, descrito acima, ou um meronte do tipo II caracterizado pela presença de quatro merozoítos. A produção de merontes do tipo I possibilita a reciclagem indefinida com a produção contínua dessas formas evolutivas e justifica juntamente com a autoinfecção, a existência de infecções crônicas persistentes (BOUZID *et al.*, 2013). Os merozoítos liberados pelo meronte do tipo II infectam novas células e se diferenciam em macrogametócito (feminino) e microgametócito (masculino). O macrogametócito evolui para um macrogameta imóvel feminino uninucleado e permanece no interior do enterócito. Já o microgametócito sofre fissão múltipla, originando 16 microgametas móveis que abandonam a célula parasitada em busca de macrogametas localizados em outras células intestinais (BOUZID *et al.*, 2013).

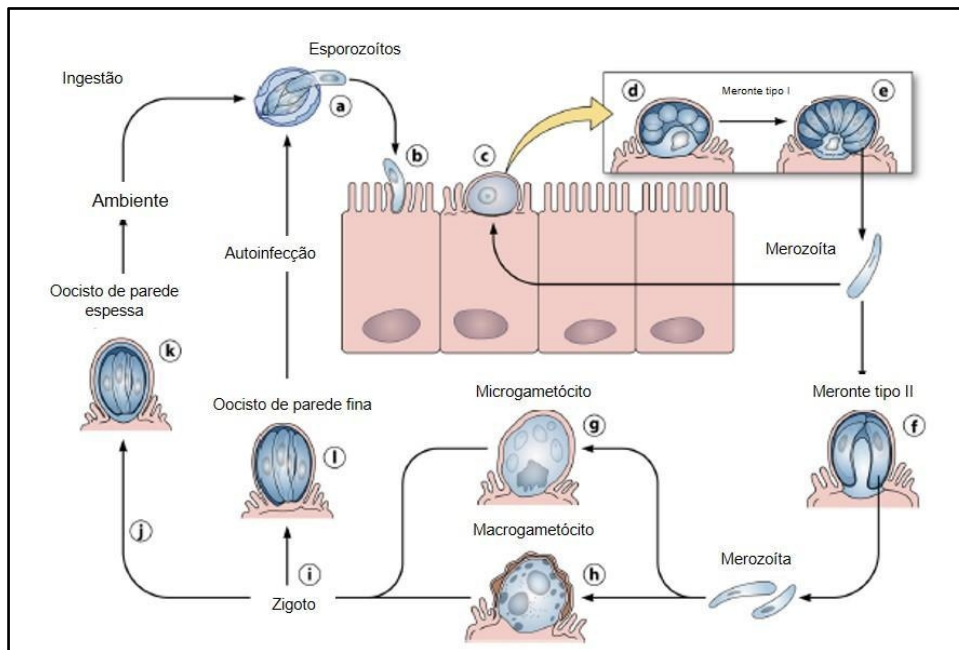


Figura 2 – Ciclo biológico de *Cryptosporidium* sp. em células intestinais do hospedeiro. a: liberação do esporozoíto do oocisto, b: penetração do esporozoíto no enterócito, c: formação de trofozoíto após penetração do esporozoíto, d: reprodução assexuada por merogonia, e: meronte do tipo I, do qual serão liberados merozoítas, f: formação de meronte do tipo II, após entrada de merozoíto no enterócito, merozoítos liberados do meronte do tipo II penetrarão em enterócitos distintos e darão origem a microgametócito (g) e macrogametócito (h). Fecundação do macrogameta pelo microgameta gerando zigoto (i), os quais darão origem a oocistos (j) de parede espessa (k) associados à infecção externa e oocistos de parede fina (l) associados à auto-infecção. Fonte: adaptado de Bouzid *et al.*, 2013.

Assim que ocorre a fecundação do macrogameta pelo microgameta, ocorre a formação do zigoto, sendo este considerado o único estado diploide do ciclo. Posteriormente, ao adquirir parede cística, o zigoto passa a ser denominado oocisto e sofrerá o processo de esporogonia. Nesta fase, o núcleo diploide sofre uma meiose reducional, dando origem a quatro células haploides (os esporozoítos) contidas dentro do oocisto. Este oocisto esporulado sai do enterócito e é eliminado para o ambiente junto com o conteúdo intestinal (BOUZID *et al.*, 2013). Dos oocistos produzidos, 20% sofrem falha na formação de parede, sendo denominados oocistos esporulados de parede fina, os quais podem se romper dentro do lúmen intestinal do hospedeiro e determinar autoinfecção (DEL COCO *et al.*, 2009).

O período de pré-patência varia de acordo com o hospedeiro, a espécie do parasito e a dose infectiva. Nos humanos, este período varia de quatro a 22 dias, considerando estado imune do indivíduo. Em outros animais, como nos bovinos, esse período pode variar de dois a sete dias. Já o período de patência pode ter uma variação de um a 20 dias em humanos e de um a 12 dias em bovinos (FAYER, 2004; DEL COCO *et al.*, 2009).

Além do ciclo intracelular, este protozoário pode realizar um ciclo extracelular na luz intestinal ou em biofilme (Figura 3). Artificialmente, em biofilme, dependendo de fatores do parasito ou do *quorum sensing*, que é a liberação de sinais químicos secretados a partir de células, capazes de induzir diversas alterações como a regulação da expressão de genes dependentes da densidade celular, os esporozoítos são liberados e transformam-se em trofozoítos. Estes trofozoítos realizam sizígia, que consiste em um processo de pareamento de trofozoítas ponta a ponta para reprodução, ou merogonia. Essa etapa determina o desenvolvimento de merontes do tipo I, os quais são transformados em merontes do tipo II. A formação do meronte do tipo II representa o início da reprodução sexuada no ciclo de *Cryptosporidium* sp. Os merontes do tipo II liberarão merozoítas que irão se transformar em macrogametócitos ou microgametócitos. Apesar dos microgametócitos conterem muitos microgametas em seu interior, não foi observada a produção de oocistos em biofilme aquático (CLODE *et al.*, 2015).

Na ausência de células hospedeiras, ocorre a produção de outros dois morfotipos extracelulares sendo eles: estágios *similares a gametócitos (gamont-like)* e gametócitos gigantes (*gigantic gamont-like*). Essas formas evolutivas provavelmente se originaram da fase de desenvolvimento dos trofozoítos com o propósito de produzir maior número de merozoítos e trofozoítos para maximizar o potencial reprodutivo sem necessitar da fase sexuada. Ainda não foi observada a produção de oocistos na ausência de células hospedeiras (CLODE *et al.*, 2015).

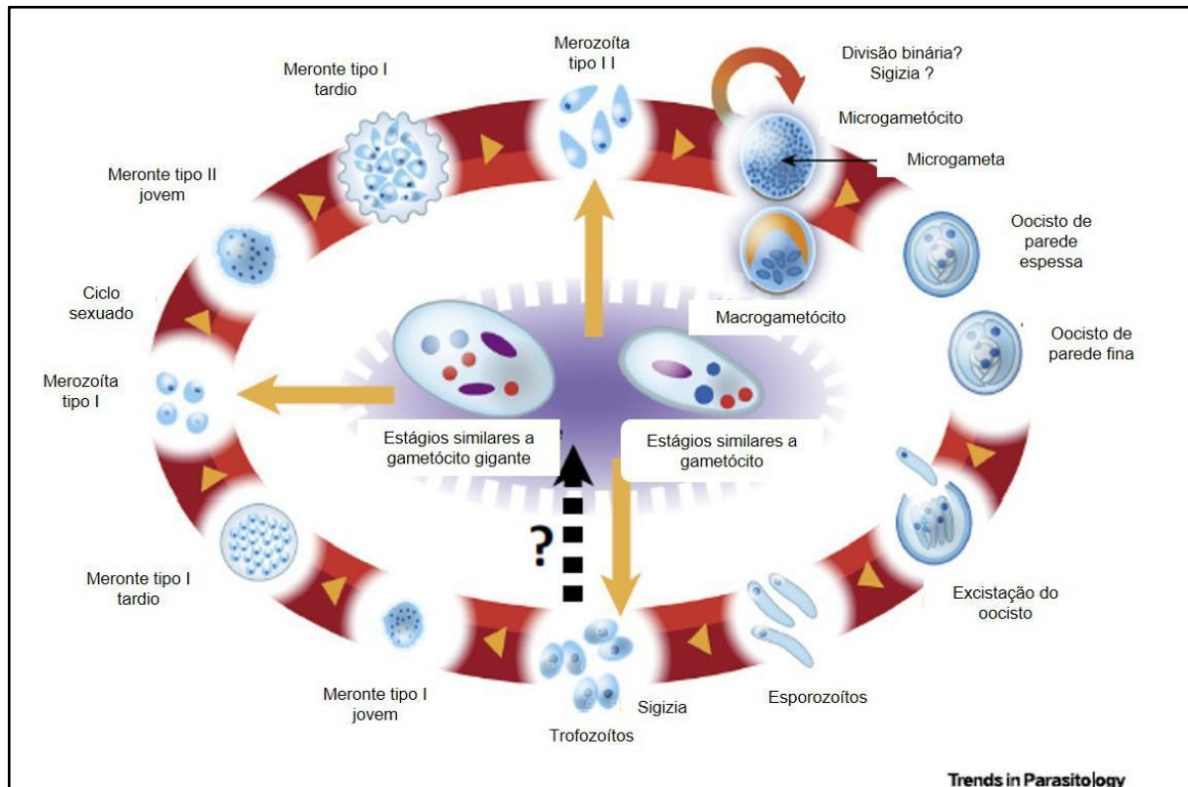


Figura 3 – Proposta de esquema do ciclo de vida de *Cryptosporidium* sp. fora de célula hospedeira (em biofilme ou no lúmen intestinal). Fonte: adaptado de Clode *et al.*, 2015.

2.3 - PATOGENIA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A adesão dos esporozoítos à célula hospedeira e a invasão dos mesmos são eventos primários cruciais para a patogênese da criptosporidiose (DENG *et al.*, 2004). Durante a interação com o enterócito, as proteínas de superfície do esporozoíto e as proteínas secretadas por organelas especializadas do complexo apical facilitam a adesão, invasão e estimulam a formação do vacúolo parasitóforo. *Cryptosporidium* sp. penetra na superfície da célula intestinal, localizando-se de modo intracelular e extracitoplasmático (SIBLEY, 2004; DENG *et al.*, 2004). A adesão do parasito à superfície do enterócito desencadeia a ativação de uma cascata de sinalização culminando na perda da função de barreira da mucosa e na polimerização de filamentos de actina, ocorrendo mudança no citoesqueleto. Por meio da liberação de proteases, fosfolipases e hemolisinas *Cryptosporidium* sp. determina danos celulares diretos. Os enterócitos parasitados produzem citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas que induzem resposta inflamatória e atuam sobre a resposta imune inata e posteriormente adaptativa. A ação multifatorial agrava o

aumento da permeabilidade da mucosa, alteração da absorção e aumento da secreção que contribuem para a diarreia (CERTAD *et al.*, 2017).

A apoptose secundária é um mecanismo defensivo da mucosa, o qual limita o número de parasitos e ajuda no combate à infecção. Porém, *Cryptosporidium* spp. tem a capacidade de inibir a morte celular programada em células parasitadas na fase de trofozoíto, a fim de concluir o ciclo biológico. Posteriormente, o parasito induz a apoptose, na fase de esporozoíto e merozoíto, sugerindo assim uma capacidade na regulação da expressão gênica da célula do hospedeiro (DENG *et al.* 2004; CERTAD *et al.*, 2017).

A criptosporidiose tem como principal manifestação clínica a diarreia aquosa, sendo a mesma de intensidade e duração variáveis (MMBAGA; HOUP, 2017). A heterogeneidade da sintomatologia é dependente de fatores do hospedeiro, como estado imunológico e idade, e do parasito, como dose infectiva (CERTAD *et al.*, 2017). Segundo Cacció e Pozio (2006), em um artigo de revisão, a diarreia está presente em 92% dos casos analisados. Outros animais exibem os mesmos sinais clínicos dos humanos, sendo a diarreia aquosa reportada em animais domésticos e de produção (FAYER, 2004).

No hospedeiro imunocompetente, a infecção pode determinar três quadros principais: portador assintomático, diarreia aguda e diarreia persistente, a qual pode continuar por semanas. Quando a infecção é sintomática o indivíduo apresenta quadro de diarreia aquosa, volumosa e com muco, sem sangue e leucócitos. Outras sintomatologias apresentadas são mal-estar abdominal, vômito, náusea, perda de peso, anorexia, fadiga e aumento da temperatura corporal. A duração do quadro clínico é de nove a 15 dias e a liberação dos oocistos, a princípio intermitente, pode persistir durante a fase de convalescência (CHEN *et al.*, 2002).

Em imunocompetentes, a diarreia é geralmente autolimitada. Já os imunocomprometidos e as crianças podem evoluir para uma infecção crônica com duração de meses. Em pacientes com infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) ou com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) é possível encontrar o parasito em localizações extra intestinais, como a árvore biliar, fígado, pâncreas e pulmões (MOR *et al.*, 2010; FAYER, 2004). Em crianças pequenas, a

diarreia crônica quando associada à desnutrição pode ocasionar a morte (CERTAD *et al.*, 2017).

2.4 - DIAGNÓSTICO

A histopatologia foi uma das primeiras técnicas utilizadas em humanos e outros animais para diagnóstico da criptosporidiose, sendo a mesma realizada com material de biópsia ou autópsia associada à coloração de Giemsa ou hematoxilina-eosina para visualização dos estágios evolutivos endógenos do parasito. Por conta do tamanho reduzido e da limitação de detalhes na morfologia, frequentemente foi utilizada a microscopia eletrônica de transmissão para a identificação do parasito nos cortes histológicos. As desvantagens das técnicas de exame histológico e ultraestrutural associam-se ao alto custo, à demanda de tempo e à sensibilidade questionável. A baixa sensibilidade pode ser devido ao tamanho da amostra tecidual que pode ser analisada e a distribuição não uniforme da infecção ao longo do trato digestivo (O'DONOGHUE, 1995).

O diagnóstico de *Cryptosporidium* spp. em laboratórios de análises clínicas ainda é baseado principalmente na detecção microscópica de oocistos em material fecal por técnicas parasitológicas associadas a colorações, como Ziehl-Neelsen, Kinyoun modificadas e/ou anticorpos fluorescentes (IFA), bem como por métodos de detecção antigênica, como ensaios imunoenzimáticos e imunocromatográficos (RYAN *et al.*, 2016). Embora a microscopia necessite de instrumentos relativamente simples e consumíveis baratos, é trabalhosa, requer um operador capacitado, carece de sensibilidade e resultados falsos positivos podem ocorrer quando bolhas de gordura ou leveduras que se coram de modo semelhante ao parasito são identificadas erroneamente (RYAN *et al.*, 2016; CUNHA *et al.*, 2019). A utilização de técnicas de concentração, por flutuação ou sedimentação, do material fecal aumenta a sensibilidade das técnicas microscópicas (DEL COCO *et al.*, 2009).

A associação de técnicas de coloração na microscopia é geralmente necessária devido ao fato de que os oocistos são semelhantes em tamanho e forma às leveduras, a componentes fecais e outros detritos (RYAN *et al.*, 2016). As principais técnicas de coloração utilizadas são: coloração de Kinyoun (MA; SOAVE, 1983), safranina azul de metileno (BAXBY *et al.*, 1984) e Ziehl-Neelsen modificado

(HENRIKSEN; POHLENZ, 1981). Estas técnicas coram os oocistos em vermelho e contrastam o fundo em verde ou azul (FAYER *et al.*, 2000). Embora úteis, estas colorações podem apresentar baixa sensibilidade, principalmente em amostras com pequeno número de oocistos (QUÍLEZ *et al.*, 1996; MORGAN *et al.*, 1998). Além dos métodos de coloração convencional, há os de coloração negativa que utilizam a negrosina, o verde brilhante ou o verde de malaquita, para corar o fundo da lâmina, leveduras e bactérias, deixando os oocistos sem coloração (FAYER *et al.*, 2000).

Ignatius *et al.* (2016) avaliando o uso da microscopia de contraste de fase para o diagnóstico da criptosporidiose concluíram que essa representa uma metodologia específica, simples e barata. Este procedimento apresenta custo inferior a coloração e ao diagnóstico molecular, com sensibilidade significativamente associada aos valores da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) e com os números de oocistos excretados.

Os limites de detecção da microscopia convencional considerando *Cryptosporidium* sp. apresenta variações de acordo com o tipo da amostra fecal e a técnica utilizada. Weber *et al.* (1991) determinaram o limite de 50.000 oocistos por grama de fezes formadas de origem humana para a técnica de imunofluorescência indireta e de 500.000 oocistos por grama de fezes formadas de origem humana para técnica de coloração por Kinyoun, ambas realizadas a partir de sedimento da técnica de Ritchie modificada. Infecções leves ou a liberação de oocistos de forma intermitente podem resultar na não detecção do parasito quando métodos convencionais são usados. Devido à intermitência, no caso de diagnóstico utilizando coloração por Ziehl-Neelsen, preconiza-se que sejam utilizadas três amostras fecais de dias diferentes para pacientes imunocompetentes e duas para pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (RYAN *et al.*, 2016). Embora úteis para a detecção de oocistos, os métodos parasitológicos baseados em microscopia óptica de campo claro são pouco confiáveis, demorados e não permitem a identificação das espécies de *Cryptosporidium* (FALL *et al.*, 2003; JEX *et al.*, 2008; IGNATIUS *et al.*, 2016).

Para aumento de sensibilidade no diagnóstico da criptosporidiose têm sido utilizado métodos baseados em fundamentos imunológicos: para detecção direta do oocisto por meio de anticorpos marcados, de anticorpos em soro de indivíduos suspeitos ou de antígenos em material fecal. A não especificidade dos métodos

baseados em anticorpos ocorrem devido à reatividade cruzada com outros microrganismos (FAYER *et al.*, 2000). Os testes de imunofluorescência diretos para detecção de oocistos são amplamente utilizados em amostras ambientais e de material fecal devido à sua elevada sensibilidade (98,5%-100%) e especificidade (96%-100%), permitindo a visualização dos parasitos intactos (JEX *et al.*, 2008; JOHNSTON *et al.*, 2003). Porém, a necessidade de um microscópio de fluorescência e um profissional treinado, pode representar um entrave nos países em desenvolvimento com poucos recursos financeiros, onde a criptosporidiose representa um grande problema de saúde (RYAN *et al.*, 2016).

A detecção de coproantígenos solúveis de *Cryptosporidium* spp., por métodos imunológicos como as técnicas de ensaio imunoenzimático (ELISA) ou imunocromatografia, também tem sido utilizadas no diagnóstico. A pesquisa de coproantígenos tem vantagens sobre a microscopia óptica como: detecção de infecções pré-patentes, utilização para triagem rápida, eficácia para trabalhar com grande quantidade de amostras fecais (JEX *et al.*, 2008). Uma das limitações de alguns desses testes é a leitura visual que pode determinar interpretações subjetivas dos resultados (JOHNSTON *et al.*, 2003; JEX *et al.*, 2008). A detecção de anticorpos em soro também pode ser efetuada, porém uma desvantagem dessa técnica é a impossibilidade de distinguir entre uma infecção passada e uma recente, principalmente em áreas consideradas endêmicas onde há uma alta circulação do parasito (CUNHA *et al.*, 2019). Além disso, essas técnicas não permitem a determinação de espécies ou genótipos de *Cryptosporidium* sp. envolvidos na infecção (JEX *et al.*, 2008).

Devido às limitações da microscopia e dos métodos imunológicos, uma diversidade de técnicas baseadas na detecção de ácidos nucleicos foi desenvolvida para identificação específica e sensível de espécies e de variação genética nas amostras ambientais e clínicas. A compreensão sobre a epidemiologia e a biologia das espécies do gênero *Cryptosporidium* foi aprimorada após a aplicação de ferramentas moleculares (JEX *et al.*, 2008; CHALMERS; KATZER, 2013).

Dentre algumas técnicas moleculares utilizadas no estudo de *Cryptosporidium* spp. incluem-se: a reação em cadeia da polimerase convencional (PCR), a *nested-PCR* (NPCR) e a reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). Essas técnicas amplificam uma sequência gênica alvo a múltiplas cópias

detectáveis, aumentando a sensibilidade e possibilitando a identificação de espécies e genótipos (CHALMERS; DAVIES, 2010; ADEYEMO *et al.*, 2018).

O uso da *nested*-PCR tem como principal objetivo aumentar a sensibilidade ao utilizar dois conjuntos de primers, onde o primeiro primer liga-se às sequências fora do DNA alvo e a região amplificada serve como modelo para o segundo conjunto de primers. As técnicas baseadas em PCR e na restrição de polimorfismo de comprimento de fragmento (PCR-RFLP) utilizam pares de primers específicos para amplificação de diferentes *loci* genéticos, seguido de clivagem enzimática ou sequenciamento, sendo útil na identificação de espécies e genótipos (ADEYEMO *et al.*, 2018). Para identificação de subtipos, aplica-se a PCR, sendo o marcador mais utilizado a glicoproteína de 60 kDa (gp60) na identificação das famílias de subtipos em *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium hominis* (KHAN *et al.*, 2017).

O PCR quantitativo (qPCR) permite o monitoramento da amplificação do material genético à medida que o processo ocorre e sua quantificação, possuindo vantagens sobre a PCR convencional, tais como: maior sensibilidade e especificidade, e execução em menor tempo. Ensaios de qPCR foram previamente descritos tendo como alvo a região SSU rRNA a fim de detectar todas as espécies do gênero *Cryptosporidium*. A amplificação dessa região cobre a maior região de variabilidade entre espécies e genótipos, permitindo a identificação de *Cryptosporidium* spp. e seus genótipos através da análise de sequência dos produtos da reação (ADEYEMO *et al.*, 2018). Outros marcadores que permitem a identificação de espécie são o gene de actina e a proteína de choque térmico 70kDa (hsp70), sendo utilizados juntamente com o SSU rRNA na classificação dentro do gênero *Cryptosporidium* (JEX *et al.*, 2008).

A etapa final das técnicas moleculares para identificação de espécies consiste no sequenciamento dos fragmentos amplificados, sendo necessária para a confirmação dos resultados e para a análise da diversidade genética entre as mesmas. O sequenciamento do DNA é o padrão-ouro para detectar variação genética ou polimorfismo, pois pode ser utilizado tanto em genes de única cópia quanto de múltiplas cópias (JEX *et al.*, 2008; CUNHA *et al.*, 2019).

Em amostras ambientais ou de alimentos, diversas metodologias vêm sendo utilizadas. A eluição ou extração dos oocistos é uma etapa fundamental na detecção

do parasito, pois apenas a lavagem dos vegetais não é o suficiente para removê-los. A escolha de um tampão eluente e o método de eluição tem influência direta na recuperação dos oocistos. A concentração e a purificação também são utilizadas, sendo a concentração geralmente feita por centrifugação. A centrifugação é um procedimento que utiliza velocidades de centrifugação e períodos de tempo diferentes a fim de sedimentar o eluato das amostras de alimentos, podendo ser associada com múltiplas soluções de flutuação. Além disso, tem sido utilizada a separação imunomagnética, a qual aumenta a taxa de detecção e consequentemente a sensibilidade diagnóstica. Após o procedimento de concentração e purificação, o material é submetido a técnicas de coloração para leitura por microscopia, imunofluorescência direta, citometria de fluxo ou microscopia confocal (AHMED; KARANIS, 2018).

Os métodos moleculares, principalmente os baseados na reação da cadeia em polimerase têm sido amplamente utilizados na detecção do parasito nessas amostras ambientais, sendo necessário certos ajustes de acordo com o tipo de alimento/matriz, a fim de restringir a ação de alguns inibidores presentes. Uma desvantagem dos métodos moleculares em alimentos é a não detecção da viabilidade dos oocistos, sendo empregada a Hibridização da Fluorescência *in situ* (FISH) para tal finalidade. A FISH utiliza sondas oligonucleotídicas de cDNA marcadas com fluorescência, que tem como alvo sequências celulares específicas de rRNA, a fim de identificar diretamente os microrganismos viáveis. É um método alternativo a PCR, pois além de determinar a viabilidade dos oocistos, consegue distinguir entre as duas principais espécies envolvidas em infecções em humanos, sendo amplamente utilizada na investigação de surtos e em análises filogenéticas e ecológicas (ADEYEMO *et al.*, 2018; AHMED; KARANIS, 2018).

2.5 - EPIDEMIOLOGIA

2.5.1 - CRUPTOSPORIDIOSE NO MUNDO EM HUMANOS

A infecção em seres humanos por *Cryptosporidium* sp. é distribuída mundialmente nas populações urbanas e rurais em países desenvolvidos e em desenvolvimento, configurando uma distribuição ampla (MEINHARDT *et al.*, 1996). Nos anos de 1980, as taxas de prevalência da infecção mundial por este parasito em seres humanos abrangeram em torno de 1% a 30%. Essa variação foi associada a

diferenças geográficas, fatores demográficos, temporais e metodológicos (CASEMORE, 1990; CASEMORE *et al.*, 1985). Meinhardt *et al.* (1996) analisaram, em um artigo de revisão, que durante a década de 1990 as taxas de prevalência em pacientes com diarreia de países desenvolvidos variaram entre 4% a 30%. Estes mesmos autores relataram taxa média de positividade de 2% para a população geral e para crianças 4% em países desenvolvidos, 4,9% na Ásia e 10,4% na África.

Ainda na década de 1990, segundo O'Donoghue (1995) as taxas de prevalência em indivíduos assintomáticos variaram de 0% a 2% em países desenvolvidos e de 0% a 9,8% em países em desenvolvimento. A maior prevalência de infecção em países em desenvolvimento foi associada à falta de saneamento básico, fontes de água contaminadas, superpopulação ou contato com animais domésticos (O'DONOGHUE, 1995).

Em 2020, Dong *et al.* obtiveram prevalência mundial estimada de 7,6% (IC 95% 6,9% -8,5%) para criptosporidiose ao analisarem estudos de 69 países por meio de revisão sistemática e metanálise. As maiores taxas de prevalência para essa parasitose foram no México (69,6%), na Nigéria (34%) e em Bangladesh (42,5%).

Em áreas rurais no nordeste de Bangladesh, 3,2% (4/125) dos fazendeiros que lidavam diretamente com bezerros apresentaram positividade através de ensaios de imunofluorescência para *Cryptosporidium* spp. (EHSAN *et al.*, 2015). Em 2013, Lim *et al.* reportaram que a criptosporidiose é frequente em humanos e outros animais em países como Laos, Vietnã, Filipinas, Tailândia e Camboja. Esta ampla distribuição pode estar associada ao rápido crescimento populacional, à insuficiência de fontes de água e falta de manutenção das fontes de água, permitindo contaminação fecal por animais (BAMAIYI; REDHUAN, 2016).

Feng e Xiao (2017) evidenciaram prevalência de 0,8% a 13,5% em humanos ao realizarem uma revisão de estudos conduzidos em diferentes localidades da China. Nessa revisão, a maioria das infecções em humanos foi causada por *Cryptosporidium hominis* e *Cryptosporidium parvum*. Além disso, outras espécies como *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium canis*, *Cryptosporidium felis* e *Cryptosporidium suis* também foram reportadas.

Na Europa, devido às mudanças climáticas acarretando em chuvas muito intensas e alagamentos, houve um aumento de casos desta parasitose pela contaminação da água potável. A espécie *Cryptosporidium hominis* foi identificada como o patógeno mais frequente (BAMAIYI; REDHUAN, 2016; PUMIPUNTU; PIRATAE, 2018).

Na África, *Cryptosporidium* spp. está associado com diarreia severa, aumento da mortalidade e impacto negativo no desenvolvimento e crescimento das crianças. Surtos de HIV/AIDS, má nutrição, alta taxa de pobreza e falta de saneamento básico contribuem para a alta prevalência da criptosporidiose nesse continente (BAMAIYI; REDHUAN, 2016; SQUIRE; RYAN, 2017).

O gênero *Cryptosporidium* é um dos patógenos mais comuns responsáveis por morbidade e mortalidade significativa em paciente com HIV/AIDS. Segundo Wang *et al.* (2018), apesar do uso da terapia antiretroviral, as taxas de infecção pelo parasito ainda são altas e representam até um terço dos casos de diarreia nestes pacientes. Por meio de revisão sistemática e metanálise a prevalência geral estimada para *Cryptosporidium* sp. em pacientes HIV/AIDS foi de 14% (WANG *et al.*, 2018).

Na Nigéria, ao analisarem estudos provenientes de 20 estados desse país, Karshima e Karshima (2020) encontraram prevalência de 14,5% (IC 95% 10,4% - 19,9%) para criptosporidiose em pacientes com HIV/AIDS através de uma revisão sistemática e metanálise. Segundo os autores, a espécie responsável pela maioria das infecções foi *Cryptosporidium hominis* (3,5%, IC 95% 2,3% - 5,2%).

Um estudo retrospectivo conduzido em indivíduos de zero a 15 anos no estado de Borno, na Nigéria, obteve uma prevalência total de 42,9% através da microscopia associadas a técnicas de coloração (ANIESONA; BAMAIYI, 2014). Samra *et al.* (2012) obtiveram prevalência de 12,2% ao analisarem 442 amostras fecais de crianças menores de cinco anos em quatro províncias da África do Sul. A caracterização genética realizada em 25 amostras neste estudo, pela técnica de PCR-RFLP, identificou *Cryptosporidium hominis* (19/25) como a espécie mais frequente, sendo ainda relatada a infecção por *Cryptosporidium meleagridis* em uma criança.

Berhe *et al.* (2018) realizaram um estudo no norte da Nigéria para determinar a prevalência de protozoários associados a alimentos em 223 pacientes com diarreia aquosa, encontrando prevalência de 2,2% (5/223) para *Cryptosporidium* sp. através de esfregaços corados por Ziehl-Neelsen. Segundo os autores, a maior proporção de infecção por protozoários foi em indivíduos do sexo masculino, na faixa etária de 15-24 anos. Uma associação estatística significativa observada foi entre a ausência do uso de descontaminantes para saladas e frutas e a positividade.

Delahoy *et al.* (2018) em um estudo no Quênia, analisando dados de crianças apresentando diarreia, obtiveram prevalência de 11% (195/1778), sendo a infecção mais frequente em crianças menores de um ano, com pico de infecção presente entre 6-11 meses da idade. Quando comparados com crianças maiores de dois anos, crianças menores de um ano tiveram o triplo de chance de se infectarem pelo parasito.

A transmissão deste parasito pode ocorrer de forma direta ou indireta. A transmissão direta ocorre via fecal-oral por ingestão acidental de oocistos após excreção dos mesmos nas fezes de outros animais para outros animais, de outro animal para humano ou vice-versa e entre humanos. A transmissão entre humanos é muito comum em piscinas, parques aquáticos, creches, hospitais e durante o sexo oroanal (PUMIPUNTU; PIRATAE, 2018). Já a transmissão indireta está associada principalmente a ingestão de água com oocistos esporulados, a ingestão de alimentos contaminados, fômites como roupas e sapatos expostos a fezes contaminadas de humanos ou outros animais e por contaminação ambiental seguida por ingestão (PUMIPUNTU; PIRATAE, 2018).

A infecção por este gênero está associada à baixa dose infectante, sendo os oocistos liberados já esporulados. Dessa forma, não necessitam de maturação externa, apresentam resistência a condições adversas, tendo fácil dispersão no ambiente (DEL COCO *et al.*, 2009).

O primeiro e maior surto de transmissão hídrica de criptosporidiose ocorreu em 1993, em Milwaukee, Estados Unidos da América, no qual foi estimada a infecção de 403 milhões de pessoas com quadro de diarreia aquosa após a passagem dos oocistos pelo sistema de filtração de água da cidade (MACKENZIE *et al.*, 1994). Durante o período de 2009-2017 agentes de saúde pública relataram 444

surtos de criptosporidiose em 40 estados dos Estados Unidos da América e em Porto Rico, resultando em 7.465 casos. Em 56,7% dos casos, a infecção estava associada à exposição a águas recreacionais, outras exposições predominantes foram contato com gado e contato com pessoas infectadas em creches sendo responsáveis por 14,6% e 12,8% dos casos, respectivamente (GHARPURE *et al.*, 2019).

Segundo Baldursson e Karanis (2011), durante os anos de 2004-2010, o parasito foi responsável por 60,3% dos surtos causados por protozoários por meio de veiculação hídrica. Em 2017, Efstratiou *et al.* relataram que dentre 381 surtos determinados por protozoários transmitidos por água, no período de 2011-2016, 63% tiveram como etiologia *Cryptosporidium* spp.

No ano de 2010, em Ostersund, Suécia, 45% dos habitantes foram afetados pela criptosporidiose veiculada à transmissão hídrica. Uma investigação conduzida em amostras fecais de pacientes com gastroenterite, por meio de esfregaços fecais corados por Ziehl-Neelsen e pela PCR-RFLP, constatou que a espécie envolvida foi *Cryptosporidium hominis* (Winderstrom *et al.*, 2014)

No Reino Unido, Chalmers *et al.* (2011) submeteram 3.030 amostras positivas para *Cryptosporidium* sp. a análise molecular utilizando a técnica de PCR-RFLP. As espécies detectadas foram *Cryptosporidium parvum* (1.506/3.030), *Cryptosporidium hominis* (1.383/3.030), *Cryptosporidium meleagridis* (26/3.030), *Cryptosporidium felis* (8/3.030) e *Cryptosporidium cuniculus* (37/3.030). Nesse estudo, os autores observaram que a faixa etária de pacientes acometidos pela espécie *Cryptosporidium cuniculus* era mais ampla do que das espécies *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium hominis*, sendo as últimas mais frequentes em pessoas mais jovens.

No Canadá, em Ontario, Guy *et al.* (2021) analisaram 169 amostras positivas para *Cryptosporidium* sp. através da nested-PCR aliada ao sequenciamento. As espécies com maior positividade foram *Cryptosporidium parvum* (91/169) e *Cryptosporidium hominis* (24/169), respectivamente. Outras espécies como *Cryptosporidium muris*, *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium ubiquitum*, *Cryptosporidium meleagridis* e *Cryptosporidium cuniculus* também foram relatadas.

As espécies de *Cryptosporidium* relacionadas com formas endêmicas e epidêmicas são *Cryptosporidium hominis* de transmissão antroponótica e *Cryptosporidium parvum* de transmissão zoonótica, sendo ambas responsáveis por 90% dos casos de criptosporidiose em humanos (CACCIO; POZIO, 2006).

2.5.2 - CRIPTOSPORIDIOSE NO MUNDO EM OUTROS ANIMAIS

Cryptosporidium spp. pode infectar espécies de mamíferos, peixes, répteis, anfíbios e aves, sendo amplamente reconhecido como um patógeno de animais de produção, domésticos e de vida livre. A distribuição e a prevalência da criptosporidiose em gado domesticado é amplamente documentada, sendo a espécie *Cryptosporidium parvum* encontrada mundialmente (FAYER, 2004). As maiores prevalências são em bezerros lactantes, pois os mesmos são mais suscetíveis à morbidade e são importantes na contaminação ambiental pela liberação maciça de oocistos (FAYER, 2004). Na região peninsular da Malásia, Yap *et al.* (2016) obtiveram positividade de 3,2% (7/215) em amostras de gado de fazenda, pela técnica de nested-PCR, sendo encontradas as espécies *Cryptosporidium bovis* (2/215) e *Cryptosporidium ryanae* (5/215).

Ehsan *et al.* (2015) ao realizarem um estudo em regiões rurais de Bangladesh, obtiveram positividade de 5% (31/623) ao analisarem amostras fecais de bezerros por ensaios de imunofluorescência. Ao executarem a PCR em algumas das amostras positivas, as espécies encontradas foram *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium andersoni* e *Cryptosporidium bovis*.

Feng e Xiao (2017), em um artigo de revisão, encontraram prevalência variável entre 3,5%-47,7% em bezerros leiteiros pré-desmamados de diferentes localidades da China, sendo as espécies *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium bovis* frequentemente documentadas. Além disso, também houve relato de infecção por *Cryptosporidium ryanae* e *Cryptosporidium andersoni*. Ao analisarem estudos com roedores como uma possível fonte de transmissão de *Cryptosporidium parvum* para bezerros, a prevalência geral para criptosporidiose variou entre 7,8% a 32%.

Além dos bezerros, já foram documentados achados similares em outros ruminantes jovens, como ovelhas, cabras e ruminantes exóticos (FAYER, 2004).

Khezri e Khezri (2013) analisaram 1.200 amostras fecais de carneiros e cabritos com idade de um a seis meses na província de Curdistão, no Irã. Oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram encontrados em 10,24% dos carneiros e 18,86% dos cabritos utilizando esfregaços corados por Ziehl-Neelsen modificado, sendo observadas maiores taxas de infecção em animais com diarreia e nos três primeiros meses de vida. No mesmo país, uma revisão sistemática e metanálise realizada com estudos contemplando diversos hospedeiros relatou prevalência de 7,5% em aves, 20,8% em roedores, 19,5% em cavalos, 14,4% em bovinos, 8,4% em camelos, 4,9% em cães e 9,1% em ovelhas (HAGHI *et al.*, 2020).

Na Itália, ao investigarem ovelhas de quatro províncias de Sardenha, Dessì *et al.* (2020) evidenciaram prevalência de 10,1% (92/915) por esfregaços corados por Ziehl Neelsen modificado. Ao realizarem a análise molecular nas amostras positivas por microscopia, foi evidenciada a infecção por *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium ubiquitum*.

Em Zara, na Nigéria, a prevalência total obtida ao analisarem 890 amostras fecais de aves foi de 7,4% (65/890) através de esfregaços corados por Safranina azul de metileno e auramina fenol (BAMAIYI *et al.*, 2013).

Nos Estados Unidos, na região do Noroeste Pacífico, Li *et al.* (2020) encontraram prevalência de 13,8% (70/506) por ensaio de imunofluorescência em amostras fecais de diversos animais silvestres residindo próximo a uma bacia hidrográfica, tendo sido documentada a infecção pelas espécies *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium canis* e *Cryptosporidium ubiquitum*.

Taghipour *et al.* (2020), em uma revisão sistemática e metanálise sobre prevalência mundial da criptosporidiose em cães, relataram taxa de 8% (IC 95% 5%-11%) pela microscopia, 7% (IC 95% 4%-10%) por detecção de coproantígenos e 6% (IC 95% 4%-9%) por métodos moleculares. As análises moleculares revelaram que as espécies mais prevalentes nesse grupo de animais foram *Cryptosporidium canis* e *Cryptosporidium parvum*.

Mahmoudi *et al.* (2017), em revisão sobre o tema, identificaram prevalência de 3,8-7% em cães e 3,8-100% em gatos na China, 11,7-39,7% em gado na Índia, 0,93-35,13% em aves no Japão e de 34% em galinhas na Turquia. Os autores evidenciaram uma diversidade de espécies infectando outros animais, que não

humanos e relacionaram essa diversidade a versatilidade, adaptabilidade e sucesso na colonização de animais hospedeiros e na diversificação e propagação de sua progênie.

Wang *et al.* (2020) em uma revisão sistemática e metanálise obtiveram prevalência de 12,2% (4.349/ 30.404) em porcos de diversas regiões da China. No Japão, El-Alfy e Nishikawa (2020), por meio de uma revisão sistemática, relataram prevalência variável de 1,3%-100% em gado, 0,4%-47,7% em porcos, 0,3%-31,6% em cães e gatos, 3,3%-38% em roedores e coelhos. As espécies *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium muris* foram relatadas infectando gado e roedores, enquanto *Cryptosporidium andersoni*, *Cryptosporidium bovis* e *Cryptosporidium ryanae* infectaram apenas bovinos. *Cryptosporidium canis* e *Cryptosporidium felis* foram evidenciadas em cães e gatos, respectivamente.

2.5.3- CRIPTOSPORIDIOSE NA AMÉRICA LATINA EM HUMANOS

Em países como Costa Rica, Brasil e Argentina, a criptosporidiose é uma grande preocupação devido ao aumento do número de casos em indivíduos imunocomprometidos e em crianças (PUMIPUNTU; PIRATAE, 2018). No México, Quihui-Cota *et al.* (2017) realizaram um estudo em três creches e duas escolas na região de Cananea, Sonora. Foram analisadas 173 amostras fecais de crianças com idades entre dois a oito anos, obtendo positividade em 27% (47/173) pelos esfregaços corados por Kinyoun. Neste mesmo país, Leach *et al.* (2000) analisaram 279 amostras sorológicas provenientes de crianças de seis meses até 13 anos por ELISA. A prevalência geral obtida foi 70,2% (196/279), sendo as maiores taxas as de crianças que viviam em colônias (93/105) e em uma comunidade urbana da fronteira Texas-México (53/65). De acordo com a análise univariada realizada pelos autores, ser residente dessas áreas foi considerado um fator de risco para infecção pelo parasito, assim como a baixa renda familiar e o contato com animais.

No Peru, Silva-Díaz *et al.* (2016) avaliaram a frequência de infecção por coccídios intestinais em 325 crianças com idades de seis meses a dez anos atendidas em um hospital na cidade de Chiclayo. Os autores obtiveram positividade para este parasito de 3,7% (12/325) pela técnica de ELISA e de 3,4% (11/325) pela

coloração, observando índice de concordância de Kappa de 0,955. Nesse estudo não foi realizada a identificação de espécie.

Laubach *et al.* (2004) analisaram amostras de crianças com idades entre zero a cinco anos residentes em duas vilas na cidade de Lake Atitlan, Guatemala. A positividade obtida no estudo foi de 32% (32/100) através dos esfregaços corados por Kinyoun modificado. Também foi observado que a faixa etária mais acometida foi de dois a cinco anos e o sexo feminino apresentou a maior taxa de prevalência.

Chacín-Bonilla *et al.* (2008) conduziram um estudo de fatores de risco para criptosporidiose na ilha de São Carlos, na Venezuela encontrando prevalência de 13% (67/515) através de esfregaços corados por Ziehl-Neelsen modificado. Os fatores de risco associados com a infecção por *Cryptosporidium* sp. foram condição socioeconômica baixa, condições sanitárias precárias e uso de água proveniente de poços.

Na Colômbia, Arango *et al.* (2006) realizaram um estudo com crianças de um mês até 13 anos em um hospital em Arauca. A positividade obtida foi de 46,8% (81/173) por meio de esfregaços corados por Ziehl-Neelsen, sendo a maior frequência de *Cryptosporidium* spp. em crianças que frequentavam creches. Neste mesmo país, Botero *et al.* (2003) encontraram prevalência de 3,6% (4/111) em pacientes imunocomprometidos de várias faixas etárias por esfregaços corados por Ziehl-Neelsen modificado.

No Brasil, em Santa Catarina, Schnack *et al.* (2003) avaliando enteropatógenos em 94 crianças com diarreia com menos de cinco anos de um Centro de Saúde de Criciúma-SC evidenciaram positividade em 85,1% (80/94) das crianças por meio de ELISA. No mesmo estado, na cidade de Lages, De Quadros e De Lima Miguel (2018) investigaram a presença do parasito em 93 amostras fecais provenientes de idosos residentes em instituições de longa permanência. A prevalência encontrada foi de 6,45% (6/93) através de esfregaços corados por Ziehl-Neelsen.

No município do Rio de Janeiro-RJ, Silva *et al.* (2003), avaliaram 485 amostras de fezes de crianças com diarreia ou história de quadro clínico diarreico em menores de dez anos submetidas a pesquisa de rotavírus, utilizando a técnica

de Ritchie modificada e coradas pela safranina a quente e Kinyoun modificado a frio, e evidenciaram parasitismo em 3,3% (16/485) sem associação com rotavírus.

Em Minas Gerais, Oliveira-Silva *et al.* (2007) analisaram 359 amostras fecais de pacientes infectados por HIV e encontraram oocistos do parasito em 31 amostras pelo esfregaço fecal corado por Ziehl-Neelsen.

Em 2016, Peralta *et al.* analisaram 89 e 132 amostras de pacientes infectados por HIV de hospitais do Rio de Janeiro, Brasil e de Buenos Aires, Argentina. Em relação às amostras do hospital do Rio de Janeiro, os autores obtiveram positividade de 26/89 pela microscopia e *Taq Man* PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Já nos pacientes de Buenos Aires, 15 de 132 foram diagnosticados com *Cryptosporidium* spp. pela *Taq Man* PCR e nested-PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Em ambos grupos houve identificação de infecções simples por *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum* e infecções mistas.

2.5.4 - CRIPTOSPORIDIOSE NA AMÉRICA LATINA EM OUTROS ANIMAIS

No Chile, Munoz *et al.* (2014) obtiveram positividade de 57,9% e 55,6% em bezerros de fazenda leiteira, utilizando as colorações de Ziehl-Neelsen e Auramina, respectivamente. Na Argentina, De Felice *et al.* (2020) encontraram prevalência de 9% (47/520) em leitões de 13 fazendas utilizando a coloração de Ziehl-Neelsen modificado. Dentre as amostras positivas, 15 foram sequenciadas e as espécies encontradas foram *Cryptosporidium suis* (3) e *Cryptosporidium scrofarum* (4) e quatro infecções mistas.

Lopez-Urbina *et al.* (2011) obtiveram prevalência de 13% (666/5.163) para criptosporidiose em alpacas recém-nascidas em sete regiões do Peru, através da realização de esfregaços corados por Ziehl-Neelsen modificado. Gómez-Couso *et al.* (2012) investigaram a presença do parasito em 274 amostras fecais coletadas de alpacas em 12 rebanhos no Peru, obtendo positividade de 4,4% (12/276) para *Cryptosporidium* sp. por microscopia de imunofluorescência, PCR e sequenciamento. O parasito só foi identificado em três amostras, sendo *Cryptosporidium parvum* identificado em duas e *Cryptosporidium ubiquitum* em uma amostra.

Na Colômbia, Santín *et al.* (2006) relataram pela primeira vez a presença do parasito em gatos na cidade de Bogotá, encontrando prevalência de 11% (5/46) para *Cryptosporidium felis* e 2% (1/46) para *Cryptosporidium muris*, através da *nested-PCR*. No mesmo país, Pulido-Medellin *et al.* (2014) obtiveram prevalência de 48% (48/100) em bovinos através da coloração de Ziehl-Neelsen em esfregaços fecais. Os autores reportaram dois principais fatores de risco associados a liberação de oocistos: a presença de diarreia e ter menos de 12 meses de idade.

Neto *et al.* (2020), em um estudo com amostras provenientes de 138 gatos domésticos no estado de São Paulo, encontraram positividade em 13 (9,4%) animais ao combinar técnicas microscópicas, ELISA e *nested-PCR*. O sequenciamento de sete amostras mostrou similaridade genética de 99% com a espécie *Cryptosporidium felis*.

Paz e Silva *et al.* (2014) analisaram 100 amostras de ovelhas de uma fazenda de Tupi Paulista, nordeste do estado de São Paulo, obtendo positividade de 25% (25/100) para *Cryptosporidium* spp. por ensaio imunoenzimático e RFLP. Em Lavras e Viçosa, no estado de Minas Gerais, Figueiredo *et al.* (2004) realizaram a detecção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* através de ELISA em 269 amostras fecais de cães saudáveis, onde cinco amostras foram positivas.

Bomfim *et al.* (2005) coletaram 105 amostras de cabras leiteiras de propriedades na região serrana do Rio de Janeiro, encontrando positividade de 4,8% (5/105) em cabras juvenis (até um ano de idade), pelo esfregaço fecal corado por Safranina-Azul de metileno. Novaes *et al.* (2018) encontraram positividade de 10,58% (9/85) por microscopia e por *nested-PCR* em amostras provenientes de pássaros de um aviário localizado na cidade do Rio de Janeiro.

Cruvinel *et al.* (2020) em um estudo realizado em oito estados do Brasil, obtiveram uma prevalência de 50,41% (182/361) em gado leiteiro através da coloração de verde malaquita. No Mato-Grosso, Pacheco *et al.* (2020) investigaram a presença do parasito em 237 amostras de bezerros de corte pela *nested-PCR*, com positividade de 21,2% (50/237). Após o sequenciamento, foram encontradas 27 amostras positivas para *Cryptosporidium bovis*, 12 para *Cryptosporidium parvum* e 11 para *Cryptosporidium ryanae*.

3- REVISÃO SISTEMÁTICA E METANÁLISE

Revisões sistemáticas são um tipo de investigação científica que sintetizam os resultados de investigações múltiplas primárias utilizando métodos que limitam viés e erros aleatórios, além de critérios explícitos e reproduzíveis na seleção de artigos para revisão (MULROW, 1987; COOK *et al.*, 1995). Uma revisão sistemática é realizada para responder uma questão clínica restrita, sendo a questão central baseada em variáveis como: população, condição de interesse, exposição e um ou mais desfechos específicos (RICHARDSON *et al.*, 1995; COOK *et al.*, 1997).

Esse tipo de investigação contribui para resumir dados existentes, refinar hipóteses, estimar tamanhos amostrais e definir pesquisas futuras. As características dos estudos são avaliadas, os dados são sintetizados e os resultados são interpretados (COOK *et al.*, 1997).

Quando os resultados dos estudos primários são sintetizados, mas não estatisticamente analisados, temos uma revisão sistemática qualitativa. Quando uma revisão sistemática utiliza métodos estatísticos para combinar os resultados dos estudos, a mesma é denominada revisão sistemática quantitativa ou metanálise, a qual se refere a um processo de integração dos resultados de muitos estudos para chegar na síntese da evidência (COOK *et al.*, 1997; NORMAND, 1999).

A representação gráfica de uma metanálise é obtida através do gráfico de floresta ou *forest plot*. Esta representação permite a visualização rápida da informação dos estudos individuais analisados, representando a variação entre os resultados e uma estimativa geral de todos os estudos juntos (LEWIS; CLARKE, 2001).

Para melhorar a acurácia de revisões sistemáticas e metanálises torna-se importante analisar a qualidade dos estudos a serem inseridos. O método *Grading of Recommendations Assessment, Developing and Evaluation* (GRADE) tem sido utilizado para avaliação da qualidade dos estudos incluídos neste tipo de pesquisa (GALVÃO; PEREIRA, 2015). Através de um sistema de pontuação por critérios estabelecidos, a qualidade da evidência pode ser classificada em: alta, moderada, baixa ou muito baixa. A qualidade da evidência reflete diretamente na confiabilidade dos resultados apresentados. Se apenas artigos de alta qualidade forem utilizados, entende-se que o efeito observado ou obtido não sofrerá modificações futuras,

enquanto o uso de publicações consideradas com qualidade baixa poderá ter modificação em suas estimativas com a publicação de novos estudos (GALVÃO; PEREIRA, 2015)

No estudo de metanálise, há dois modelos de análise que podem ser adotados: o modelo de efeitos fixos e o modelo de efeitos aleatórios. O modelo de efeitos fixos parte do princípio que o efeito de interesse é o mesmo em todos os estudos e considera que a variabilidade ocorrida entre os estudos foi ao acaso, ignorando a heterogeneidade entre os mesmos. Já o modelo de efeitos aleatórios parte do princípio que o efeito de interesse não é o mesmo em todos os estudos, incorporando a heterogeneidade entre os mesmos nos resultados (DE SOUZA; RIBEIRO, 2009, DOS SANTOS; CUNHA, 2013).

A heterogeneidade em revisões sistemáticas e metanálises consiste na diferença entre os resultados dos estudos em relação à estimativa de efeito e pode ter como causa a heterogeneidade clínica ou metodológica, a escolha inadequada do efeito de tratamento ou pelo acaso, sendo essencial para a avaliação do grau da confiança dos resultados obtidos. A identificação da heterogeneidade pode ser realizada através da aplicação de testes estatísticos, como o teste Q de Cochran e Estatística I^2 (DOS SANTOS; CUNHA, 2013).

Para interpretação dos valores da estatística I^2 , são seguidos os critérios propostos por Higgins *et al.* (2003) onde valores próximos a 25% indicam heterogeneidade baixa, enquanto valores próximos a 50% e valores próximos ou acima de 75% indicam heterogeneidade moderada e alta, respectivamente.

4- OBJETIVOS

4.1- OBJETIVO GERAL

- Determinar diversidade e prevalência de espécies de *Cryptosporidium* na América Latina em humanos e outros animais por meio de revisão sistemática e metanálise.

4.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar as espécies de *Cryptosporidium* spp. identificadas na América Latina em humanos e outros animais;
- Identificar a prevalência combinada de infecção por *Cryptosporidium* em humanos na América Latina por metanálise;
- Identificar a prevalência combinada das espécies de *Cryptosporidium* relatadas em humanos na América Latina por metanálise;
- Quantificar as espécies de *Cryptosporidium* em humanos por país na América Latina;
- Identificar a prevalência combinada das espécies de *Cryptosporidium* relatadas em outros animais na América Latina por metanálise;
- Quantificar as espécies de *Cryptosporidium* em outros animais por país na América Latina.
- Analisar a distribuição de espécies de *Cryptosporidium* entre animais, excluindo humanos, na América Latina.

5- MATERIAIS E MÉTODOS

5.1- RECUPERAÇÃO DE ESTUDOS CIENTÍFICOS EM BASES DE DADOS

No período de julho a outubro de 2019, foi realizada uma busca sistemática de artigos científicos sobre espécies do gênero *Cryptosporidium* em humanos e outros animais na América Latina. Os descritores foram utilizados em inglês, uma vez que a maioria dos periódicos tem como obrigatoriedade resumos e palavras-chave nesta língua, sendo os descritores fixos: “Cryptosporidium” e “species” combinados com o nome de cada país pertencente à América Latina, os quais foram: “Brazil”, “Argentina”, “Bolivia”, “Chile”, “Colombia”, “Costa Rica”, “Cuba”, “Ecuador”, “El Salvador”, “Guatemala”, “Haiti”, “Honduras”, “Mexico”, “Nicaragua”, “Panama”, “Paraguay”, “Peru”, “Dominican Republic”, “Uruguay” e “Venezuela”.

As bases de dados utilizadas para a busca sistemática foram PubMed, LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e SciELO (*Scientific Electronic Library Online*).

5.2 - CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Os artigos científicos recuperados nas bases de dados utilizadas foram identificados a partir de informações técnicas, leitura de título e resumo dos estudos, sendo triados e avaliados de acordo com a presença dos critérios de elegibilidade.

Crítérios de inclusão na revisão sistemática e metanálise foram:

- Artigos publicados em periódicos nacionais e internacionais no período de 1999 a 2019, sendo o ano de início da revisão estabelecido a partir da data de publicação do protocolo de identificação de espécies do parasito.
- Artigos publicados nos idiomas português, inglês e espanhol.
- Artigos publicados cujo estudo foi realizado em países pertencentes à América Latina.
- Artigos que identificavam a espécie do gênero *Cryptosporidium*.

Os critérios de exclusão utilizados foram:

- Revisões, dissertações, teses, monografias e outros tipos de manuscrito.

- Artigos não publicados em português, inglês e espanhol.
- Artigos de revisão sistemática ou infecção experimental.
- Artigos cujo estudo não foi realizado em países pertencentes à América Latina.
- Artigos que não identificavam a espécie do gênero *Cryptosporidium*.

Após leitura dos resumos, os artigos que atenderam os critérios estabelecidos, foram obtidos na íntegra, lidos e analisados, sendo considerados apenas aqueles que se enquadram nos objetivos da presente metanálise.

5.3- CONSTRUÇÃO DO BANCO DE DADOS

A leitura de todos os artigos incluídos foi realizada por um avaliador, havendo consulta de um segundo avaliador nos artigos onde não havia clareza das informações definidas para a construção dos bancos de dados. Após a leitura dos estudos elegíveis recuperados de países da América Latina, foram construídos dois bancos de dados no programa Microsoft Excel®, um para humanos e outro para outros animais, sendo que ambos continham as informações:

- Ano de publicação do artigo
- Autores - nome dos autores dos artigos
- País - país da América Latina onde o estudo foi realizado
- Sintomatologia – sinais e sintomas relatados nos participantes do estudo
- Número amostral - quantidade de indivíduos inseridos no estudo
- Número total de positivos – número de indivíduos que participaram e apresentaram positividade
- Número total de indivíduos com diarreia/número de positivos com diarreia
- Positividade por técnica - o número de indivíduos positivos de acordo com cada técnica utilizada
- Total de positivos por espécie

- Total de indivíduos com coinfeção

No banco de dados referente aos estudos com humanos, além das categorias acima, foram obtidas as seguintes informações referentes a:

- População/categoria
- Idade - a faixa etária para crianças e adolescentes foi definida de acordo com o Art. 2 da lei Nº 8.069 de 13 de julho de 1990, onde considera-se criança a pessoa até 12 anos incompletos e adolescente entre 12 e 18 anos de idade (BRASIL, 1990). A faixa etária para os adultos foi definida entre 19 anos e 59 anos e 11 meses. Para os idosos, considerou-se como idoso o indivíduo com idade igual ou superior a 60 anos, de acordo com o Art. 1 da lei Nº 10.741 de 1º de outubro de 2003 (BRASIL, 2003).
- Total de pacientes HIV/imunocomprometidos/ número de positivos para pacientes HIV/imunocomprometidos
- Total de crianças/ número de positivos para crianças
- Total de indivíduos por sexo/ número de positivos por sexo
- Amostras diarreicas - quantidade de amostras diarreicas obtidas no estudo/ positividade das amostras diarreicas
- Fatores de risco - contato com crianças, presença de pets, consumo de verdura crua, beber água da torneira

Com relação ao banco dos animais, foram compiladas as informações adicionais:

- Espécie/ordem animal
- Categoria:
 - Animais de produção - foram considerados como aqueles que fornecem produtos para o consumo humano, tais como bovinos; suínos; equídeos, ovinos; caprinos e aves como perus, galinhas, patos, avestruz (IBGE, 2018).
 - Animais de estimação - segundo o IBGE (2007), considera-se como animal de estimação (cão ou gato) aquele que vive no domicílio e com idade superior ou igual a dois meses.

- Outros - animais de companhia exóticos, roedores, animais silvestres e animais silvestres ou selvagens em cativeiro.
- Total de animais jovens/ positividade nos animais jovens
- Total por faixa etária/ positividade por faixa etária

5.4 - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ARTIGOS CIENTÍFICOS

Para avaliação da qualidade dos artigos científicos, foi elaborado um procedimento baseado no método *Grading of Recommendations Assessment, Developing and Evaluation* (GRADE) (GALVÃO; PEREIRA, 2015), que consistiu na atribuição de uma pontuação a partir da presença ou ausência de critérios pré-estabelecidos (HOPPEN *et al.*, 1996)(Quadro 2). A cada critério identificado no estudo foi atribuído o valor de um ponto. Ao final, os pontos conferidos foram somados, sendo considerado como RUIM, os artigos que pontuaram de zero a um ponto; BOM, artigos com pontuação de dois a três pontos e ÓTIMO, com pontuação de quatro a seis pontos.

Quadro 2 - Critérios e pontuação utilizados para avaliação da qualidade dos artigos utilizados na revisão sistemática sobre criptosporidiose na América Latina

Critério	Parâmetros	Pontuação
Consistência nos resultados	Relação direta resultado com objetivo Consistência entre número amostral metodologia e do resultado Clareza exposição de resultados	1
Desenho experimental	Modelo de pesquisa Relevância da metodologia	1
Cálculo amostral	Calculo estatístico para definição da amostra	1
Fatores de risco com análise de Odds Ratio	Explicitar análise de risco	1
Número amostral <30	Amostra mínima global do estudo	1
Teste estatístico	Explicitação na metodologia de testes estatísticos e apresentação nos resultados	1

5.5 - ANÁLISE DOS DADOS PARA METANÁLISE E CONSTRUÇÃO DOS MAPAS

Os dados armazenados em Microsoft Excel® foram analisados pelo programa de linguagem computacional R para o cálculo de prevalência combinada. Em

metanálise, um efeito combinado é uma média ponderada dos tamanhos dos efeitos observados a nível dos estudos (PATHAK *et al.*, 2019). Utilizou-se os modelos de efeitos aleatórios e o de efeitos fixos para identificação de qual geraria dados mais robustos sobre a prevalência. Os gráficos de floresta gerados utilizaram um intervalo de confiança de 95%. A heterogeneidade entre os estudos foi avaliada pelo índice I^2 . Para interpretação do índice de heterogeneidade utilizou-se os parâmetros propostos por Higgins *et al.* (2003).

Os mapas de representação da distribuição geográfica das espécies de *Cryptosporidium* spp. na América Latina por país foram construídos a partir do programa Adobe® Photoshop CC 2020 com mesa digitalizadora One by Wacom.

6 - RESULTADOS

A partir da busca realizada com os descritores em inglês, com ênfase na identificação de espécies de *Cryptosporidium* na América Latina, foi recuperado um total de 246 artigos, nas três bases de dados. O total de artigos recuperados na base PubMed foi de 160, enquanto na base SciELO e LILACS foram 52 e 34, respectivamente.

O país que apresentou o maior número de estudos recuperados na busca foi o Brasil (n=131), seguido pelo Peru (n=22), Venezuela (n=19) e Argentina (n=18) (Tabela 1). Não foi encontrado nenhum estudo dos países: Paraguai, Panamá e Costa Rica.

Tabela 1 - Número geral de artigos científicos recuperados em três bases de dados com o uso dos descritores “*Cryptosporidium*” e “species” por país da América Latina, 2019

País	PubMed	SciELO	LILACS	TOTAL
Venezuela	4	7	8	19
Uruguai	2	0	0	2
República Dominicana	1	0	0	1
Peru	19	3	0	22
Paraguai	0	0	0	0
Panamá	0	0	0	0
Nicarágua	1	0	0	1
México	5	2	0	7
Honduras	1	0	0	1
Haiti	5	0	0	5
Guatemala	1	0	0	1
El Salvador	0	1	0	1
Ecuador	1	0	0	1
Cuba	2	2	1	5
Costa Rica	0	0	0	0
Colômbia	10	3	1	14
Chile	9	3	3	15
Bolívia	2	0	0	2
Argentina	14	3	1	18
Brasil	83	28	20	131
TOTAL	160	52	34	246

Após a leitura dos resumos, 83 estudos considerados elegíveis foram obtidos na íntegra e incluídos para análise. Dentre esses, 24 artigos foram excluídos, devido à falta de estimativa de prevalência, descrição apenas de genótipos e subtipos, não determinação de espécie e ausência de positividade para criptosporidiose (Figura 4). Para construção dos bancos de dados foram utilizados 59 estudos.

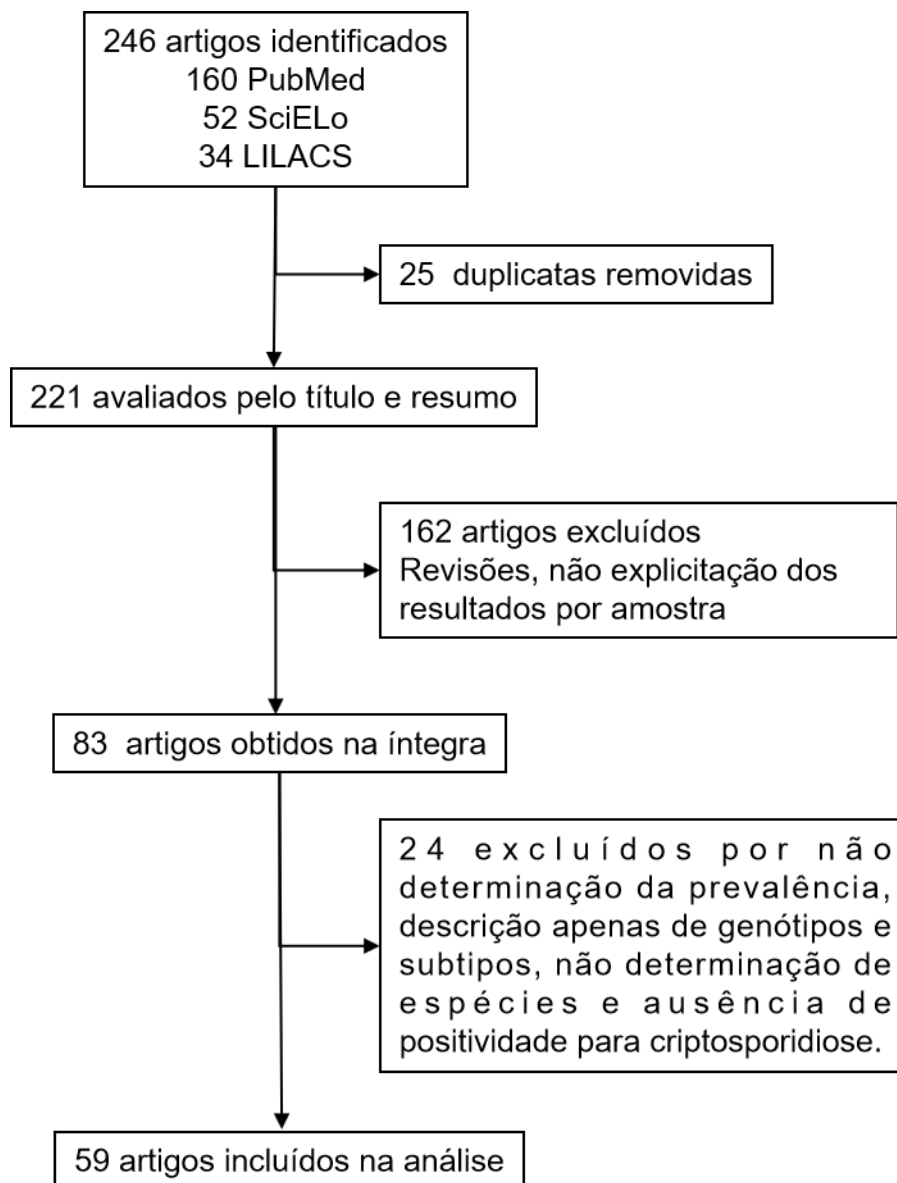


Figura 4 - Fluxograma detalhando a seleção de estudos elegíveis para revisão sistemática e metanálise referente a identificação das espécies de *Cryptosporidium* sp. na América Latina, 2020

Dos 59 artigos incluídos no estudo, 18 apresentavam informações sobre hospedeiro humano e 41 informações referentes a espécies de *Cryptosporidium* em outros animais (Tabela 2).

Tabela 2 - Identificação e informações sobre origem amostral, espécies encontradas e técnicas de diagnóstico dos estudos incluídos na revisão sistemática e metanálise sobre espécies de *Cryptosporidium* na América Latina, 2020

Nº	Referência	País	Origem amostral	Espécies encontradas	Número de espécies encontradas no estudo	Diagnóstico por microscopia associado a molecular	Diagnóstico por ELISA associado a molecular	Seleção de amostras para análise molecular	Amplificação de amostras submetidas a análise molecular
1	Aquino <i>et al.</i> (2015)	Brasil	Animais de produção (Bezerros)	<i>C. parvum</i> e <i>C. ryanae</i>	2	Não	Não	Não	Parcial
2	Assis <i>et al.</i> (2013)	Brasil	Humana	<i>C. parvum</i>	1	Sim	Não	Não	Parcial
3	Avendaño <i>et al.</i> (2018)	Colômbia	Animais de produção (Bezerros)	<i>C. parvum</i> e <i>C. bovis</i>	2	Sim	Não	Sim	Total
4	Bushen <i>et al.</i> (2007)	Brasil	Humana	<i>C. parvum</i> e <i>C. hominis</i>	2	Sim	Não	Sim	Total
5	Cama <i>et al.</i> (2007)	Peru	Humana	<i>C. parvum</i> , <i>C. hominis</i> , <i>C. felis</i> , <i>C. meleagridis</i> , <i>C. canis</i> e <i>C. suis</i>	6	Sim	Não	Sim	Parcial
6	Cama <i>et al.</i> (2008)	Peru	Humana	<i>C. parvum</i> , <i>C. hominis</i> , <i>C. felis</i> , <i>C. meleagridis</i> , <i>C. canis</i>	5	Sim	Não	Sim	Parcial
7	Coelho <i>et al.</i> (2016)	Brasil	Animais de produção (Vários grupos)	<i>C. parvum</i> , <i>C. bovis</i> , <i>C. andersoni</i> e <i>C. ryanae</i>	4	Não	Não	Não	Parcial
8	Couto <i>et al.</i> (2014)	Brasil	Animais de produção (Bezerros)	<i>C. parvum</i> , <i>C. andersoni</i> e <i>C. ryanae</i>	3	Sim	Não	Sim	Parcial
9	Cunha <i>et al.</i> (2018)	Brasil	Animais de produção (Aves)	<i>C. meleagridis</i> e <i>C. baileyi</i>	2	Não	Não	Não	Parcial
10	David <i>et al.</i> (2015)	Brasil	Animais de estimação (Cães)	<i>C. canis</i>	1	Não	Não	Não	Total

Tabela 2 - Identificação e informações sobre origem amostral, espécies encontradas e técnicas de diagnóstico dos estudos incluídos na revisão sistemática sobre espécies de *Cryptosporidium* na América Latina, 2020 (continuação)

Nº	Referência	País	Origem amostral	Espécies encontradas	Número de espécies encontradas no estudo	Diagnóstico por microscopia associado a molecular	Diagnóstico por ELISA associado a molecular	Seleção de amostras para análise molecular)**	Amplificação de amostras submetidas a análise molecular
11	Díaz-Lee <i>et al.</i> (2011)	Chile	Animais de produção (Bezerros)	<i>C. parvum</i>	1	Sim	Não	Sim	Total
12	Ewald <i>et al.</i> (2017)	Brasil	Animais de produção (Galinhas)	<i>C. parvum</i> , <i>C. meleagridis</i> e <i>C. baileyi</i>	3	Não	Não	Não	Parcial
13	Ferrari <i>et al.</i> (2018)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. parvum</i> , <i>C. galli</i> e <i>C. canis</i>	3	Sim	Não	Sim	Parcial
14	Fiuza <i>et al.</i> (2010)	Brasil	Animais de produção (Ovelhas)	<i>C. ubiquitum</i>	1	Não	Não	Não	Total
15	Fiuza <i>et al.</i> (2011)	Brasil	Animais de produção (Gado leiteiro)	<i>C. andersoni</i>	1	Não	Não	Não	Total
16	Gonçalves <i>et al.</i> (2006)	Brasil	Humana	<i>C. hominis</i>	1	Sim	Não	Não	Total
17	Heker <i>et al.</i> (2016)	Brasil	Animais de produção (Coelhos)	<i>C. cuniculus</i>	1	Sim	Não	Não	Total
18	Homem <i>et al.</i> (2012)	Brasil	Animais de produção (Bezerros)	<i>C. parvum</i> , <i>C. bovis</i> , <i>C. andersoni</i> e <i>C. ryanae</i>	4	Não	Não	Não	Total

Tabela 2 - Identificação e informações sobre origem amostral, espécies encontradas e técnicas de diagnóstico dos estudos incluídos na revisão sistemática sobre espécies de *Cryptosporidium* na América Latina, 2020 (continuação)

Nº	Referência	País	Origem amostral	Espécies encontradas	Número de espécies encontradas no estudo	Diagnóstico por microscopia associado a molecular	Diagnóstico por ELISA associado a molecular	Seleção de amostras para análise molecular	Amplificação de amostras submetidas a análise molecular
19	Huber <i>et al.</i> (2007)	Brasil	Animais de estimação (Gatos)	<i>C. felis</i>	1	Sim	Não	Não	Parcial
20	Lalonde <i>et al.</i> (2013)	República Dominicana	Humana	<i>C. parvum</i> , <i>C. hominis</i> , <i>C. meleagridis</i> e <i>C. canis</i>	4	Sim	Não	Não	Total
21	Lombardelli <i>et al.</i> (2019)	Argentina	Animais de produção (Bezerros)	<i>C. parvum</i>	1	Sim	Não	Sim	Total
22	Lucca <i>et al.</i> (2009)	Brasil	Humana	<i>C. parvum</i> , <i>C. hominis</i> , <i>C. canis</i> e <i>C. felis</i>	4	Não	Não	Não	Total
23	Meireles <i>et al.</i> (2007)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. parvum</i>	1	Sim	Não	Não	Total
24	Meireles <i>et al.</i> (2011)	Brasil	Animais de produção (Bezerros)	<i>C. parvum</i> , <i>C. bovis</i> , <i>C. andersoni</i> e <i>C. ryanae</i>	4	Não	Não	Não	Parcial
25	Mendonza <i>et al.</i> (2018)	México	Animais de produção (Cordeiros)	<i>C. parvum</i>	1	Sim	Não	Sim	Total
26	Muñoz <i>et al.</i> (2011)	Nicarágua	Humana	<i>C. parvum</i>	1	Não	Não	Não	Total
27	Nakamura <i>et al.</i> (2014)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. galli</i> e <i>C. baileyi</i>	2	Não	Não	Não	Parcial

Tabela 2 - Identificação e informações sobre origem amostral, espécies encontradas e técnicas de diagnóstico dos estudos incluídos na revisão sistemática sobre espécies de *Cryptosporidium* na América Latina, 2020 (continuação)

Nº	Referência	País	Origem amostral	Espécies encontradas	Número de espécies encontradas no estudo	Diagnóstico por microscopia associado a molecular	Diagnóstico por ELISA associado a molecular	Seleção de amostras para análise molecular	Amplificação de amostras submetidas a análise molecular
28	Neira <i>et al.</i> (2005)	Chile	Humana	<i>C. parvum</i> e <i>C. hominis</i>	2	Sim	Não	Não	Total
29	Neira <i>et al.</i> (2012)	Chile	Humana	<i>C. parvum</i> , <i>C. hominis</i> , <i>C. muris</i> e <i>C. meleagridis</i>	4	Sim	Não	Não	Total
30	Neira <i>et al.</i> (2005)	Chile	Animais de produção (Bovinos)	<i>C. parvum</i>	1	Sim	Não	Não	Total
31	Neira <i>et al.</i> (2010)	Chile	Animais exóticos	<i>C. parvum</i>	1	Sim	Não	Não	Total
32	Ocampo <i>et al.</i> (2012)	Colômbia	Animais de produção (Bezerros)	<i>C. parvum</i>	1	Não	Não	Não	Total
33	Oliveira <i>et al.</i> (2016)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. parvum</i> , <i>C. andersoni</i> e <i>C. meleagridis</i>	3	Não	Não	Não	Parcial
34	Oliveira <i>et al.</i> (2017)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. parvum</i>	1	Sim	Não	Não	Parcial
35	Paz e Silva <i>et al.</i> (2013)	Brasil	Animais de produção (Bovinos)	<i>C. parvum</i> , <i>C. bovis</i> , <i>C. andersoni</i>	3	Sim	Sim	Não	Parcial
36	Paz e Silva <i>et al.</i> (2014)	Brasil	Animais de produção (Ovehas)	<i>C. parvum</i> e <i>C. ubiquitum</i>	2	Não	Sim	Sim	Total
37	Peralta <i>et al.</i> (2016)	Argentina	Humana	<i>C. parvum</i> e <i>C. hominis</i>	2	Sim	Não	Não	Total
38	Peralta <i>et al.</i> (2016)	Brasil	Humana	<i>C. parvum</i> e <i>C. hominis</i>	2	Sim	Não	Não	Parcial

Tabela 2 - Identificação e informações sobre origem amostral, espécies encontradas e técnicas de diagnóstico dos estudos incluídos na revisão sistemática sobre espécies de *Cryptosporidium* na América Latina, 2020 (continuação).

Nº	Referência	País	Origem amostral	Espécies encontradas	Número de espécies encontradas no estudo	Diagnóstico por microscopia associado a molecular	Diagnóstico por ELISA associado a molecular	Seleção de amostras para análise molecular	Amplificação de amostras submetidas a análise molecular
39	Rolando <i>et al.</i> (2012)	Brasil	Humana	<i>C. parvum</i> e <i>C. hominis</i>	2	Sim	Não	Sim	Parcial
40	Ruggiero <i>et al.</i> (2011)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. serpentis</i>	1	Não	Não	Não	Total
41	Sanchez <i>et al.</i> (2017)	Colômbia	Humana	<i>C. parvum</i> , <i>C. hominis</i> e <i>C. viatorum</i>	3	Sim	Não	Não	Total
42	Santana <i>et al.</i> (2018)	Brasil	Animais de produção (Galinhas)	<i>C. parvum</i> , <i>C. meleagridis</i> e <i>C. baileyi</i>	3	Não	Não	Não	Parcial
44	Sevá <i>et al.</i> (2011)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. serpentis</i>	1	Não	Não	Não	Total
45	Sevá <i>et al.</i> (2011)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. galli</i> e <i>C. baileyi</i>	2	Não	Não	Não	Parcial
46	Sevá <i>et al.</i> (2010)	Brasil	Animais de estimação e de produção (Vários grupos)	<i>C. andersoni</i> e <i>C. canis</i>	2	Não	Não	Não	Total
47	Silva <i>et al.</i> (2010)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. galli</i>	1	Não	Não	Não	Total
48	Silva <i>et al.</i> (2014)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. muris</i> , <i>C. serpentis</i> , <i>C. tyzzeri</i> e <i>C. varanii</i>	4	Não	Não	Não	Parcial
49	Silva <i>et al.</i> (2013)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. muris</i>	1	Não	Não	Não	Parcial
50	Soldan <i>et al.</i> (2006)	Peru	Humana	<i>C. parvum</i> e <i>C. hominis</i>	2	Sim	Não	Não	Total

Tabela 2 - Identificação e informações sobre origem amostral, espécies encontradas e técnicas de diagnóstico dos estudos incluídos na revisão sistemática sobre espécies de *Cryptosporidium* na América Latina, 2020 (continuação)

Nº	Referência	País	Origem amostral	Espécies encontradas	Número de espécies encontradas no estudo	Diagnóstico por microscopia associado a molecular	Diagnóstico por ELISA associado a molecular	Seleção de amostras para análise molecular	Amplificação de amostras submetidas a análise molecular
51	Souza <i>et al.</i> (2015)	Brasil	Animais exóticos	<i>C. parvum</i> , <i>C. muris</i> e <i>C. tyzzeri</i>	3	Não	Não	Não	Parcial
52	Thomaz <i>et al.</i> (2007)	Brasil	Animais de estimação e de produção (Bovinos)	<i>C. parvum</i> , <i>C. felis</i> , <i>C. bovis</i> e <i>C. canis</i>	4	Não	Não	Não	Total
53	Toledo <i>et al.</i> (2017)	Brasil	Animais de produção (Bovinos)	<i>C. parvum</i> , <i>C. bovis</i> , <i>C. andersoni</i> e <i>C. ryanae</i>	4	Sim	Não	Sim	Parcial
54	Tomazic <i>et al.</i> (2013)	Argentina	Animais de produção (Bezerros)	<i>C. parvum</i>	1	Não	Não	Não	Total
57	Villamizar <i>et al.</i> (2019)	Colômbia	Animais de estimação (Cães)	<i>C. parvum</i>	1	Não	Não	Não	Total
58	Xiao <i>et al.</i> (2001)	Peru	Humana	<i>C. parvum</i> , <i>C. meleagridis</i> e <i>C. felis</i>	3	Sim	Não	Sim	Total
59	Zuccato <i>et al.</i> (2015)	Brasil	Animais de produção (Cordeiros)	<i>C. ubiquitum</i> , <i>C. xiaoi</i> e <i>C. meleagridis</i>	3	Não	Não	Não	Parcial

O país que apresentou maior número de artigos analisados foi o Brasil, seguido pela Colômbia e pelo Chile (Figura 5). A avaliação realizada nos artigos, de acordo com o indicador de qualidade, classificou 27 artigos como “ÓTIMO”, 12 como “BOM” e 20 como “RUIM”.



Figura 5 – Gráfico apresentando número de artigos analisados referente a espécies de *Cryptosporidium* na América Latina por país, recuperados das bases de dados PubMed, SciELO e LILACS entre os anos de 1999 até 2019

Dentre os 59 estudos, em 29 (49,2%) houve associação de técnicas microscópicas e moleculares, em 30 (50,8%) foi utilizado apenas o diagnóstico molecular. Dos estudos, 2 (3,4%) utilizaram técnica de pesquisa de antígeno por ensaio imunoenzimático na detecção do parasito. Foi verificado em 13/59 artigos a seleção de amostras, dentre as positivas, para identificação de espécies e em 32/59 artigos foi observado a amplificação de todas as amostras positivas para *Cryptosporidium* spp.. Com relação à positividade geral por técnica, o total de amostras positivas por técnicas microscópicas foi de 1.584 enquanto para as técnicas moleculares foi de 2.863.

Esta revisão sistemática evidenciou a circulação de 19 espécies de *Cryptosporidium* na América Latina, das quais três foram exclusivamente

encontradas em humanos, onze somente em outros animais e cinco circulando nos dois grupos. A Tabela 3 apresenta informações sobre as diferentes espécies de *Cryptosporidium* detectadas na América Latina.

Tabela 3 - Espécies de *Cryptosporidium* spp., positividade e hospedeiros na América Latina por meio de revisão sistemática do período de 1999 a 2019

Espécie de <i>Cryptosporidium</i>	Total positivos	Total de estudos	Hospedeiros
<i>C. parvum</i>	983	42	Humanos, animais domésticos (produção/estimação) e silvestres
<i>C. hominis</i>	360	15	Humanos
<i>C. muris</i>	14	5	Humanos, cães, roedores e serpentes
<i>C. canis</i>	24	8	Humanos e cães
<i>C. viatorum</i>	1	1	Humanos
<i>C. meleagridis</i>	113	10	Humanos, mexilhão e aves
<i>C. felis</i>	31	7	Humanos e gatos
<i>C. suis</i>	1	1	Humanos
<i>C. bovis</i>	16	7	Bovinos
<i>C. galli</i>	705	4	Aves
<i>C. ubiquitum</i>	24	3	Ovelhas e cordeiros
<i>C. andersoni</i>	64	9	Bovinos e mexilhão
<i>C. ryanae</i>	74	6	Bovinos e búfalos
<i>C. xiaoi</i>	15	1	Cordeiros
<i>C. cuniculus</i>	7	1	Coelhos
<i>C. baileyi</i>	50	5	Aves
<i>C. serpentis</i>	42	3	Serpentes
<i>C. varanii</i>	12	1	Serpentes
<i>C. tyzzeri</i>	10	2	Serpentes e roedores
Total	2546	-	-

Em humanos, a espécie com maior prevalência foi *Cryptosporidium hominis* com prevalência combinada de 3,1% (1,3%-7,5%, $I^2=93\%$) e positividade global de 4,88% (Figura 6A), seguida por *Cryptosporidium parvum* com prevalência combinada de 2,8% (1,2%-6,6%, $I^2=98\%$) e positividade global de 3,74% (Figura 6B). As prevalências globais e combinadas de outras espécies recuperadas neste estudo estão apresentadas na Tabela 4. Pode-se observar que o modelo de efeitos fixos gera valores de prevalência combinada mais próximos da prevalência global por não

levar em conta a diferença entre os estudos, a qual é contemplada pelo modelo de efeitos aleatórios, ideal nesses estudos de metanálise.

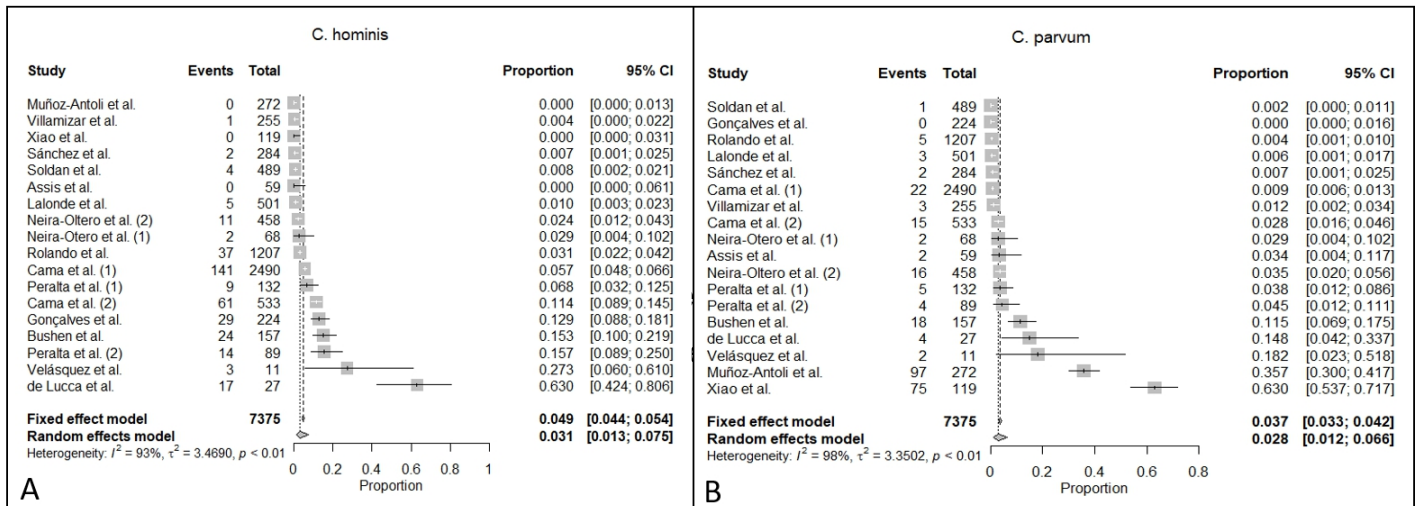


Figura 6 - Gráfico de floresta referente à prevalência do gênero *Cryptosporidium* em humanos na América Latina. A *Cryptosporidium hominis* e B – *Cryptosporidium parvum*

Com relação ao índice de heterogeneidade, foi verificado que dentre aquelas onde foi possível realizar a metanálise, duas espécies apresentaram heterogeneidade elevada, duas espécies apresentaram heterogeneidade moderada e uma espécie não apresentou heterogeneidade (Tabela 4)

Tabela 4 - Prevalência global e prevalência combinada pelo modelo de efeitos aleatórios e pelo modelo de efeitos fixos para espécies do gênero *Cryptosporidium* spp. em humanos na América Latina

Espécie	Prevalência			I ²
	Global (%)	Modelo de Efeitos Aleatórios (%)	Modelo de Efeitos Fixos (%)	
<i>C. parvum</i>	3,74	2,8 (1,2% - 6,6%)	3,7 (3,3% - 4,2%)	98%
<i>C. hominis</i>	4,88	3,1 (1,3% - 7,5%)	4,9 (4,4% - 5,4%)	93%
<i>C. canis</i>	0,14	0,1 (0% - 0,4%)	0,1 (0,1% - 0,3%)	0%
<i>C. meleagridis</i>	0,46	0,1 (0% - 0,5%)	0,5 (0,3% - 0,6%)	46%
<i>C. felis</i>	0,22	0 (0% - 0,5%)	0,2 (0,1% - 0,4%)	67%
<i>C. viatorum</i>	0,01	*	*	*
<i>C. suis</i>	0,01	*	*	*
<i>C. muris</i>	0,01	*	*	*

*Metanálise não realizada pelo pequeno número de estudos

Em humanos, a espécie *Cryptosporidium hominis* foi evidenciada no Brasil, Colômbia, Peru, Chile, Argentina e República Dominicana, enquanto *Cryptosporidium parvum* aparece nos mesmos países supracitados e mais a Nicarágua. A positividade das espécies do parasito por país da América Latina está representada na Figura 7 e apresentada Tabela 5.

Tabela 5 - Informações sobre a positividade por espécie de *Cryptosporidium* em humanos em países da América Latina, a partir de revisão sistemática no período de 1999 a 2019

Humanos (n=7375)				
Espécies	Total de estudos	Total de positivos (n=808)	País	Nº de identificação dos estudos (referência Tabela 2)
<i>C. parvum</i>	17	276	Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Nicarágua, Peru e República Dominicana	2, 4, 5, 6, 20, 22, 26, 28, 29, 37, 38, 39, 41, 50, 55, 56, 58
<i>C. hominis</i>	15	360	Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Peru e República Dominicana	4, 5, 6, 16, 20, 22, 28, 29, 37, 38, 39, 41, 50, 55, 56
<i>C. muris</i>	1	1	Chile	29
<i>C. canis</i>	4	10	Brasil, Peru e República Dominicana	5, 6, 20, 22
<i>C. viatorum</i>	1	1	Colômbia	41
<i>C. meleagridis</i>	5	34	Chile, Peru e República Dominicana	5, 6, 20, 29, 58
<i>C. felis</i>	4	16	Brasil e Peru	5, 6, 22, 28
<i>C. suis</i>	1	1	Peru	5

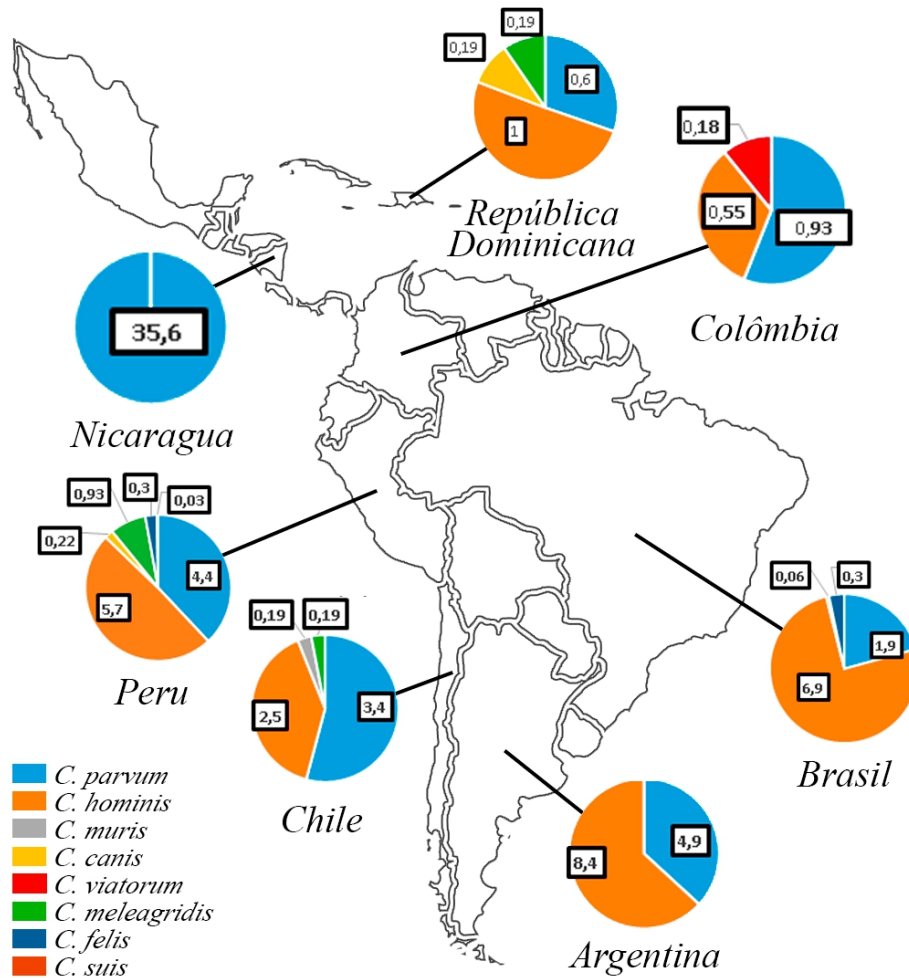


Figura 7 - Prevalência (%) das espécies do gênero *Cryptosporidium* por país da América Latina em humanos, a partir de revisão sistemática e metanálise no período de 1999 a 2019

Em outros animais, a espécie *Cryptosporidium parvum* apresentou maior positividade, com prevalência combinada de 0,7% (0,2%-2,4%) considerando o modelo aleatório, com elevada heterogeneidade ($I^2=94\%$) (Figura 8) e positividade global de 6,58%.

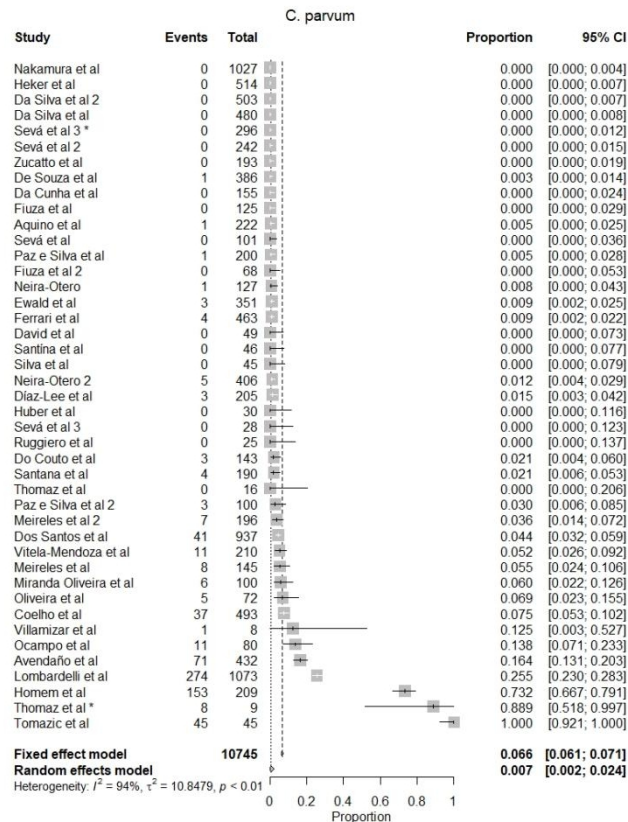


Figura 8 - Gráfico de floresta referente à prevalência de *Cryptosporidium parvum* em animais na América Latina

Outras espécies analisadas, como *C. felis* e *C. muris* não apresentaram prevalência expressiva pelo modelo de efeitos aleatórios, sendo identificadas no Brasil e na Colômbia. Considerando a heterogeneidade, seis espécies não apresentaram heterogeneidade, uma espécie apresentou heterogeneidade intermediária e três apresentaram heterogeneidade elevada (Tabela 6).

Tabela 6 - Prevalência global e prevalência combinada pelo modelo de efeitos aleatórios e pelo modelo de efeitos fixos para espécies do gênero *Cryptosporidium* em animais, excluindo humanos, na América Latina

Espécie	Prevalência			I ²
	Global (%)	Efeitos Aleatórios (%)	Efeitos Fixos (%)	
<i>C parvum</i>	6,58	0,7 (0,2% - 2,4%)	6,6 (6,1%-7,1%)	94%
<i>C muris</i>	0,12	0 (0% - 4,7%)	0,1 (0,1%-0,2%)	0%
<i>C canis</i>	0,13	0 (0% - 0,2%)	0,1 (0,1%-0,2%)	0%
<i>C meleagridis</i>	0,74	0 (0% - 4,9%)	0,7 (0,6% - 0,9%)	0%
<i>C felis</i>	0,14	0 (0% - 0,4%)	0,1 (0,1%-0,2%)	0%
<i>C bovis</i>	0,15	0 (0% - 0,3%)	0,1 (0,1%-0,2%)	0%
<i>C galli</i>	6,56	0 (0% - 0,1%)	6,6 (6,1%-7%)	88%
<i>C ubiquitousum</i>	0,22	*	*	*
<i>C andersoni</i>	0,60	0 (0% - 0,2%)	0,6 (0,5% - 0,8%)	49%
<i>C ryanae</i>	0,69	0 (0% - 0,2%)	0,7 (0,5% - 0,9%)	74%
<i>C xiaoi</i>	0,14	*	*	*
<i>C cuniculus</i>	0,07	*	*	*
<i>C baileyi</i>	0,47	0 (0% - 20,3%)	0,5 (0,4% - 0,6%)	0%
<i>C serpentis</i>	0,39	*	*	*
<i>C varanii</i>	0,11	*	*	*
<i>C tyzzeri</i>	0,09	*	*	*

*Metanálise não realizada pelo pequeno número de estudos

A distribuição geográfica das espécies do gênero *Cryptosporidium* em outros animais na América Latina está representada na Figura 9. *Cryptosporidium parvum* foi a espécie com maior dispersão geográfica, sendo encontrada nos cinco países da América Latina, dos quais se recuperou estudos e foi a espécie com maior frequência no México, na Colômbia, Chile e Argentina. No Brasil e na Colômbia foi identificada uma maior diversidade de espécies, sendo *Cryptosporidium galli* a espécie com maior frequência no Brasil e *Cryptosporidium parvum* na Colômbia.

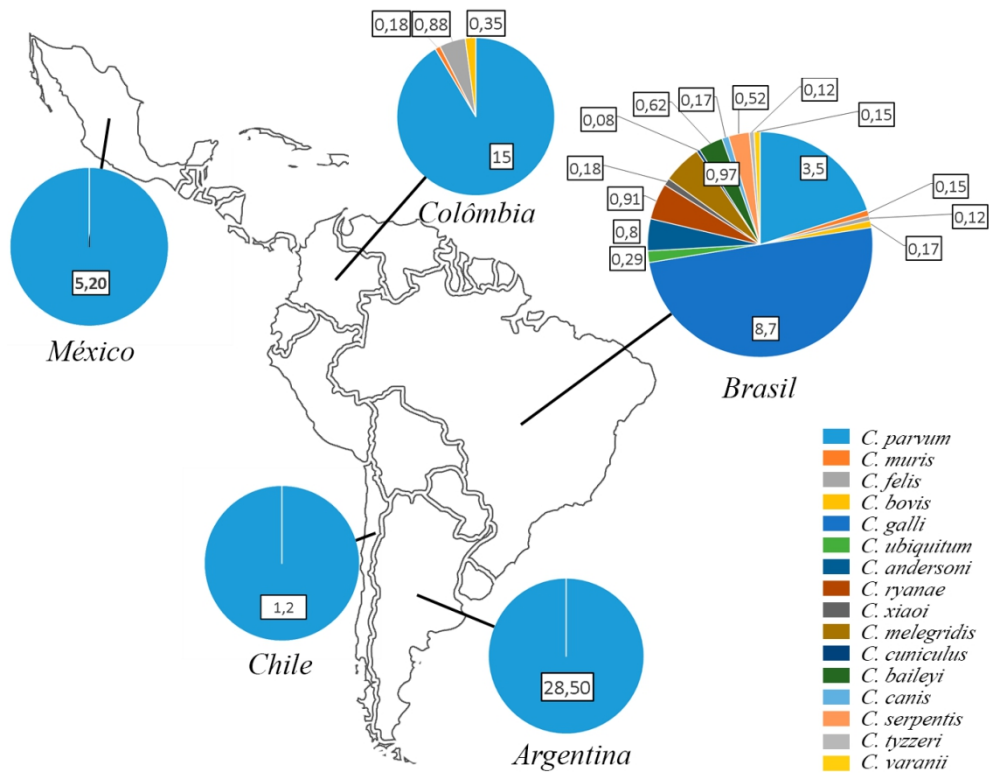


Figura 9 - Prevalência (%) por espécie de *Cryptosporidium* em outros animais, excluindo humanos, nos países da América Latina, a partir de revisão sistemática do período de 1999 a 2019

A espécie *Cryptosporidium parvum* foi a mais detectada em estudos da Colômbia, Chile, Argentina e México. *Cryptosporidium muris*, *Cryptosporidium felis* e *Cryptosporidium bovis* foram relatadas no Brasil e na Colômbia e outras 12 espécies somente no Brasil.

Nos animais de produção foram evidenciadas nove espécies de *Cryptosporidium*, quatro em animais de companhia e 10 em animais exóticos. As espécies com maior frequência foram *Cryptosporidium felis* (8,5%) em animais de estimação (gatos), *Cryptosporidium parvum* (10,3%) em animais de produção e *Cryptosporidium galli* (17,6%) em animais exóticos, exclusivamente em aves. A tabela 6 apresenta informações detalhadas sobre a positividade por espécie. Informações mais detalhadas sobre os hospedeiros animais estão ilustradas no Apêndice.

Tabela 7 - Positividade por espécie de *Cryptosporidium* em animais, excluindo humanos, de acordo com a categoria do animal: estimação, produção e exótico/cativeiro em países da América Latina, a partir de revisão sistemática do período de 1999 a 2019

Espécies	Animais de estimação (n=177)		Animais de produção (n=6573)			Animais exóticos (n=3995)					
	Total de positivos	Total de estudos	Total positivos (n=36)	País	Nº ref. dos estudos (Tabela 2)	Total positivos (n=1309)	País	Nº ref. dos estudos (Tabela 2)	Total positivos (n=954)	País	Nº ref. dos estudos (Tabela 2)
<i>C. parvum</i>	707	25	1	Colômbia	57	677	Argentina, Brasil, Chile, Colômbia e México	1, 3, 7, 8, 11, 12, 18, 21, 24, 25, 30, 32, 35, 36, 42, 52, 53, 54	29	Brasil e Chile	13, 23, 31, 33, 34, 51
<i>C. muris</i>	13	4	1	Colômbia	43				12	Brasil	48, 49, 51
<i>C. canis</i>	14	4	13	Brasil	10, 46, 52				1	Brasil	13
<i>C. meleagridis</i>	79	5				76	Brasil	9, 12, 42, 59	3	Brasil	33
<i>C. felis</i>	15	3	15	Brasil e Colômbia	19, 43, 52						
<i>C. bovis</i>	16	7				16	Brasil e Colômbia	3, 7, 18, 24, 35, 52, 53			
<i>C. galli</i>	705	4							705	Brasil	13, 27, 45, 47
<i>C. ubiquitum</i>	24	3				24	Brasil	14, 36, 59			
<i>C. andersoni</i>	64	9				57	Brasil	7, 8, 15, 18, 24, 35, 46, 53	7	Brasil	33
<i>C. ryanae</i>	74	6				74	Brasil	1, 7, 8, 18, 24, 53			
<i>C. xiaoi</i>	15	1				15	Brasil	59			
<i>C. cuniculus</i>	7	1				7	Brasil	17			
<i>C. baileyi</i>	50	5				38	Brasil	9, 12, 42	12	Brasil	27, 45
<i>C. serpentis</i>	42	3							42	Brasil	40, 44, 48
<i>C. varanii</i>	12	1							12	Brasil	48
<i>C. tyzzeri</i>	10	2							10	Brasil	48, 51

Considerando os 18 artigos que utilizaram amostras humanas, obteve-se um total de 7.375 indivíduos, dos quais 808 apresentaram positividade, resultando em prevalência global de 11%. O gráfico de floresta da prevalência combinada de criptosporidiose em humanos está demonstrado na figura 10. A análise quantitativa utilizando o modelo de efeito aleatório resultou em prevalência combinada de 12% (95% IC 7-22%) com heterogeneidade elevada ($I^2=98\%$). A prevalência de criptosporidiose por técnicas microscópicas e moleculares foi de 11,40% (841/7.375) e 10,71% (790/7.375), respectivamente.

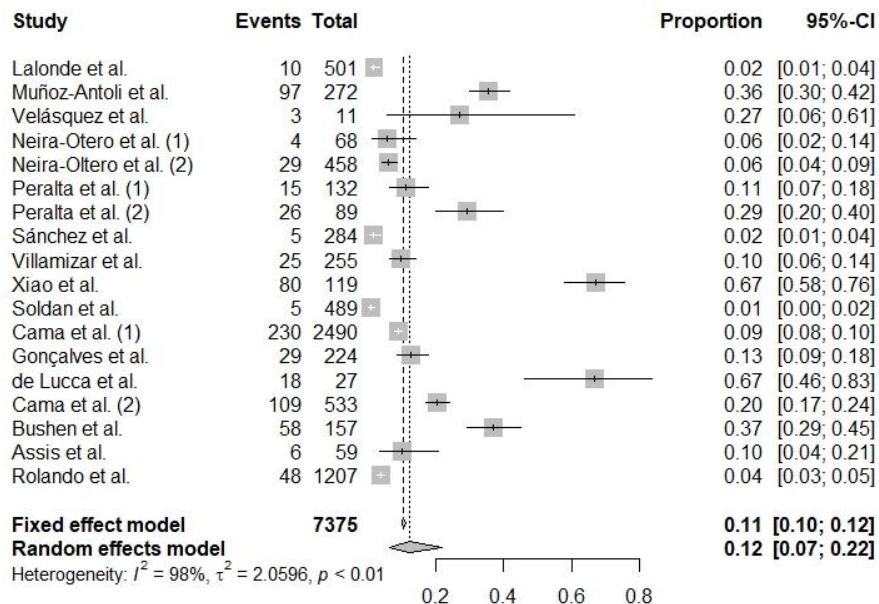


Figura 10 - Gráfico de floresta referente à prevalência de *Cryptosporidium* spp. na América Latina em humanos, 1999-2019

O país que obteve maior número de publicações em estudos com amostras humanas foi o Brasil ($n=6$), seguido pelo Peru ($n=4$). Dos 18 artigos, 10 realizaram categorização por gênero, sendo inseridos 2.525 indivíduos do sexo masculino e 1.419 do sexo feminino, com positividade em 100 (3,96%) e 89 (6,27%) respectivamente, com diferença estatística significativa ($p=0,0014$). Com relação à faixa etária, 12 estudos informaram a idade de seus participantes, sendo sete estudos exclusivamente com crianças, dois englobando várias faixas etárias e três

sendo apenas em adultos. A associação da criptosporidiose com infecção por HIV foi avaliada em sete estudos, totalizando 2.818 pacientes com positividade em 270 destes (9,6%).

Considerando os 41 estudos que utilizaram amostras de outros animais, obteve-se um total de 10.745 indivíduos com positividade em 2.299 com prevalência geral de 21,4%. O gráfico de floresta para a positividade de criptosporidiose para os animais está apresentado na figura 11, a prevalência combinada no modelo aleatório foi de 18% (95% IC 11-27%) com elevada heterogeneidade ($I^2=99\%$). A positividade encontrada por técnicas microscópicas foi de 6,91% (743/10.745), 0,13% pelo Ensaio imunoenzimático (ELISA) e 19,25% (2.069/10.745) por técnicas moleculares.

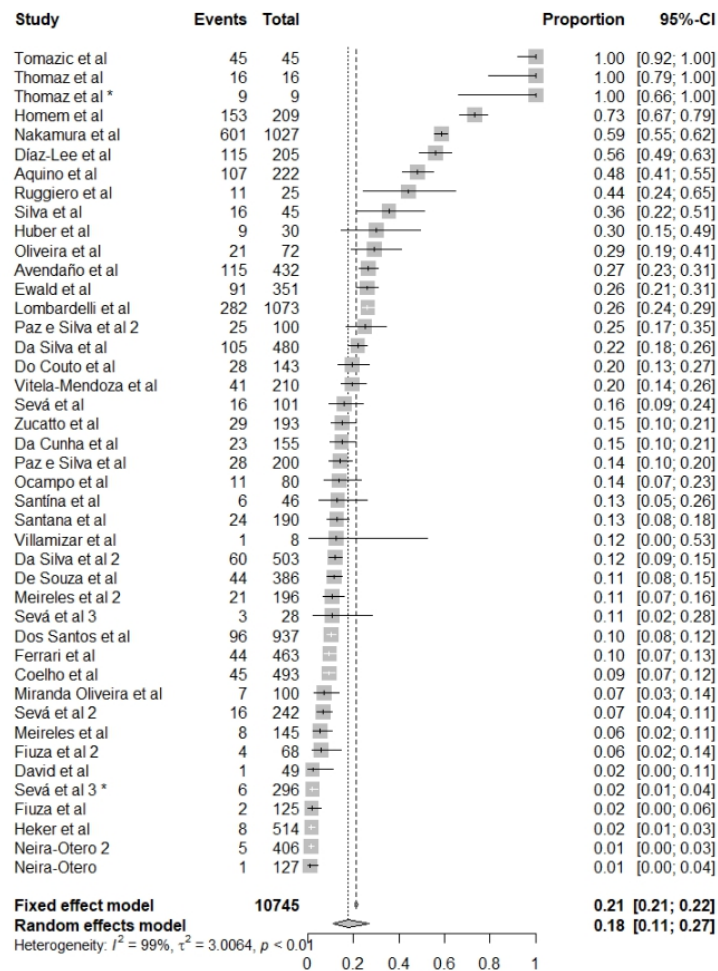


Figura 11 - Gráfico de floresta referente a prevalência de *Cryptosporidium spp.* em animais, excluindo humanos, na América Latina no período de 1999 a 2019

O Brasil (n=31) foi o país que obteve maior número de publicações, seguido pela Colômbia (n=4). Dos artigos, quatro estudaram exclusivamente animais de estimação, 22 animais de produção e 13 animais exóticos e dois associaram animais de produção e animais de estimação. Em três artigos foi feita a análise de amostras provenientes tanto de humanos quanto de outros animais. A prevalência geral de criptosporidiose nos animais de estimação foi de 20,33% (36/177), nos animais de produção foi de 19,91% (1.309/6.573) e de 23,9% (954/3.995) nos animais exóticos.

7- DISCUSSÃO

Na busca de informações sobre criptosporidiose na América Latina, o país que concentrou o maior número de estudos publicados nas bases de dados investigadas foi o Brasil, assim como também foi o país com o maior número de artigos analisados. Este fato pode ser justificado pelo maior investimento no Brasil, comparativamente aos outros países, em ciência e tecnologia desde a década de 90 (ERBER, 2009; SANTÍN, 2019). Durante o período de 2006 a 2015, na América Latina, houve uma concentração de 88% dos investimentos nessa área em três países: Brasil (64%), México (17%) e Argentina (7%). Além disso, o Brasil detém o maior número de pesquisadores, sendo esse número quatro vezes maior que o da Argentina, o qual é o segundo país com maior concentração de pesquisadores (SANTÍN, 2019). Esta questão reflete em um maior número de publicações, o que foi comprovado nesta revisão sistemática.

Observou-se que em 50,8% dos estudos houve apenas a utilização de técnicas moleculares para o diagnóstico da parasitose. O predomínio do uso de técnicas moleculares nos estudos recuperados pode ser justificado pelo objeto deste estudo que foi a identificação de espécies do gênero *Cryptosporidium* detectadas na América Latina, visto que as técnicas microscópicas e os testes imunológicos não possibilitam definir espécie ou genótipo (JEX *et al.*, 2008; CHALMERS; KATZER, 2013). A associação de técnicas microscópicas e moleculares utilizada em 29 estudos pode ter ocorrido para o aumento da sensibilidade do diagnóstico, uma vez que as técnicas tradicionais e o uso de uma única técnica reduzem a eficácia do diagnóstico. Outra justificativa para o uso de técnicas microscópicas pode ter sido a redução de custo no diagnóstico, sendo submetidas as técnicas moleculares, amostras sabidamente positivas pela microscopia.

Em alguns estudos inseridos nessa revisão foi identificada seleção de amostras para identificação de espécies, bem como relato de não amplificação de todas as amostras submetidas à análise molecular. Tais situações podem determinar um viés, reduzindo ainda mais o potencial de identificação de espécies do parasito, uma vez que diagnósticos baseados em PCR normalmente amplificam o alelo dominante de *Cryptosporidium*, potencialmente não conseguindo detectar infecções mistas (KHAN *et al.*, 2017).

Com relação à prevalência combinada, tanto neste estudo quanto no de Odeniran e Ademola (2019) na Nigéria, as espécies com maior frequência em humanos foram *Cryptosporidium hominis* e *Cryptosporidium parvum*. Este resultado já era esperado, pois essas duas espécies são responsáveis por 90% dos casos em humanos (CACCIÓ; POZIO, 2006). Berahmat *et al.* (2017) encontraram maior positividade para *Cryptosporidium parvum* em crianças, imunocompetentes e imunocomprometidos. A espécie *Cryptosporidium hominis* é considerada específica de humanos, porém há um aumento de relato de casos da infecção por esta espécie em animais como equinos (FENG *et al.*, 2018), embora no presente estudo sua presença tenha sido documentada exclusivamente em humanos

Das oito espécies evidenciadas em humanos na América Latina, seis foram detectadas por Odeniran e Ademola (2019) em humanos na Nigéria. Apesar desta similaridade, esses autores evidenciaram a circulação de duas outras espécies: *Cryptosporidium ubiquitum* e *Cryptosporidium cuniculus*, não identificadas na América Latina. De forma diferente, no presente estudo foi verificada a circulação de *Cryptosporidium muris* e *Cryptosporidium suis* em humanos. Cabe ressaltar que todas as espécies identificadas na América Latina, pela revisão sistemática e metanálise, são relatadas em países em desenvolvimento (Feng *et al.*, 2018). A diversidade de espécies e diferenças de circulação de espécies evidenciadas na América Latina, comparativamente a outros locais pode estar relacionada a maior ou menor capacidade adaptativa das diferentes espécies do gênero *Cryptosporidium* a diferentes hospedeiros, propiciando uma maior ou menor dispersão geográfica.

A espécie *Cryptosporidium parvum* foi a mais documentada, com positividade em humanos, em animais de produção, estimação e animais exóticos/cativeiro. Sugere-se que este resultado se justifica devido ao amplo espectro de hospedeiros de espécies diferentes, ou seja, eurixenia, e sua importância como espécie zoonótica (FENG *et al.*, 2018). Algumas espécies como *Cryptosporidium muris*, *Cryptosporidium felis* e *Cryptosporidium bovis* foram relatadas apenas no Brasil e na Colômbia, fato que pode ser atribuído ao maior número de estudos nesses dois países e por serem espécies com maior especificidade de hospedeiros.

A prevalência não expressiva de algumas espécies pelo modelo de efeitos aleatórios pode refletir uma menor circulação dessas espécies na América Latina, associada à ausência de heterogeneidade, a qual contribui para um maior grau de

confiabilidade nesses resultados (SANTOS; CUNHA, 2013). Além disso, o pequeno número de estudos que identificaram essas espécies, a concentração dos mesmos no Brasil e na Colômbia e a falta de direcionamento na busca por essas espécies podem ter contribuído para a pequena prevalência. A diversidade de espécie de hospedeiros entre os vários estudos também pode ter contribuído para diferença entre a diversidade de espécies do gênero *Cryptosporidium* evidenciadas.

Com relação à heterogeneidade, cinco espécies analisadas apresentaram índice de heterogeneidade elevado, o que pode ter ocorrido, como proposto por Galvão e Pereira (2015), por diferenças metodológicas entre os estudos agrupados.

A espécie com maior positividade em animais de estimação foi *Cryptosporidium felis* (8,5%), seguida por *Cryptosporidium canis*, o que já era esperado visto que essas espécies causam a maioria das infecções em gatos e cachorros, respectivamente, sendo um achado semelhante ao obtido por De Lucio *et al.* (2017). Os autores identificaram ambas espécies em cães e gatos. *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium muris* também já foram documentadas infectando animais de estimação (LUCIO-FOSTER *et al.*, 2010; RYAN; POWER, 2012), sendo também identificadas neste grupo de animais na América Latina.

Hatam-Nahavandi *et al.* (2019) obtiveram positividade superior em animais de produção por *Cryptosporidium parvum* (39,4%) em uma revisão mundial, enquanto neste estudo essa espécie ocorreu em 10,3% dos animais deste grupo. As espécies encontradas por Zahedi *et al.* (2018) na Austrália são semelhantes às desse estudo com *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium bovis* em gado bovino, *Cryptosporidium ubiquitum* em ovelhas, *Cryptosporidium cuniculus* em coelhos. No entanto, esses autores evidenciaram *Cryptosporidium suis* em porcos, sendo que na presente metanálise esta espécie só foi evidenciada em humano.

Em animais exóticos, a espécie com maior frequência foi *Cryptosporidium galli* (17,6%) em aves, o que condiz com o relatado por Nakamura e Mereiles (2015), sendo essa espécie diagnosticada em diferentes ordens de aves. Zahedi *et al.* (2018) relataram infecção de aves por *Cryptosporidium galli* e *Cryptosporidium meleagridis*. Além disso, esses autores obtiveram uma diversidade maior de espécies de *Cryptosporidium*, relatando a identificação de *Cryptosporidium fayeri*, *Cryptosporidium macropodum* e *Cryptosporidium hominis* em cangurus.

Na América Latina, *Cryptosporidium meleagridis* foi identificado em moluscos de vida livre, juntamente com as espécies *Cryptosporidium andersoni* e *Cryptosporidium parvum*. Os autores atribuíram este resultado como indicativo de contaminação ambiental (OLIVEIRA *et al.*, 2016). *Cryptosporidium tyzzeri* e *Cryptosporidium muris*, espécies típicas de roedores, foram diagnosticadas tanto em roedores de estimação quanto em serpentes em estudos da América Latina. A presença de espécies de *Cryptosporidium* típicas de roedores em serpentes pode ser justificada como apontado por SILVA *et al.* (2014) e FENG *et al.* (2018) pelo uso destes animais na alimentação de serpentes.

Foi possível observar a identificação de 19 espécies do gênero *Cryptosporidium* em humanos em 7/20 países da América Latina e em outros animais em 5/20 países demonstrando a necessidade de ampliar os estudos sobre este parasito, uma vez que a não identificação de espécies do gênero *Cryptosporidium* nos outros países da América Latina, pode não significar ausência das mesmas. Foi verificada maior diversidade de espécies do parasito entre outros animais, excluindo humanos, em especial no Brasil, fato associado ao maior número de estudos concentrados nesse país e a especificidade de algumas espécies de *Cryptosporidium* spp.. De forma similar ao apontado por Mahmoudi *et al.* (2017) em uma revisão, pensa-se que a maior frequência de relatos sobre a descoberta de várias espécies de *Cryptosporidium* em vários hospedeiros animais na América Latina, parece retratar a intenção dos estudos em fazer esta caracterização, em vez de diferenças reais na distribuição geográfica do parasito. A hegemonia da espécie *Cryptosporidium parvum*, entre humanos e outros animais, torna essa espécie a de maior dispersão na América Latina.

A prevalência combinada para criptosporidiose obtida pela análise quantitativa em humanos na América Latina foi de 12% com $I^2=99\%$, valor inferior ao de Odeniran e Ademola (2019) de 15% com heterogeneidade de $I^2=98,4\%$ na Nigéria e valor superior ao de Berahmat *et al.* (2017) de 1,29% a 4,54% no Irã. Embora sejam regiões geográficas distintas, tanto os países pertencentes à América Latina quanto os países comparados são regiões em desenvolvimento, onde geralmente a prevalência da criptosporidiose é maior, visto que uma parte expressiva da população ainda carece de saneamento básico (GERACE *et al.*, 2019). A prevalência combinada para criptosporidiose na América Latina está dentro

do intervalo de 0%-25,1% encontrado por Dong *et al.* (2020) através de uma revisão sistemática e metanálise nessa região.

Apesar da heterogeneidade das informações recuperadas reduzirem a confiabilidade da prevalência combinada, a maior prevalência pode ser associada a condições socioeconômicas e demográficas presentes na América Latina que contribuem para a dispersão desta parasitose entre humanos. Em alguns países latino-americanos, o rápido processo de urbanização dificultou o acesso à moradia digna e uma parcela da população ainda habita em domicílios sem infraestrutura básica e com superlotação, o que caracteriza um déficit habitacional e conseqüentemente, favorece a exposição a fatores de risco para a infecção por *Cryptosporidium* sp. (ONU-Habitat, 2015; BOUZID *et al.*, 2018; DE MATTOS VIANA *et al.*, 2019). No Brasil, em 2019, segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, apenas 54,1% da população brasileira possui atendimento com rede de esgoto. De acordo com Borja (2014), a garantia do acesso universal e de qualidade ao saneamento básico no Brasil ainda é um grande desafio, pois baseado em informações do IBGE referente ao ano de 2010,

“... cerca de 1.915.292 domicílios do País ainda não dispunham de abastecimento de água adequado. Cerca de 1.514.992 domicílios não tinham banheiros nem sanitários e 7.218.079 lançavam seus resíduos sólidos diretamente no ambiente de forma inadequada” (BORJA, 2014, p.434).

A positividade em indivíduos do sexo masculino foi inferior à encontrada por Odeniran e Ademola. (2019) com 17,7% e superior à taxa de 3,2% encontrada por Berhe *et. al* (2018). A positividade da criptosporidiose nesse estudo foi maior em homens do que em mulheres, o que é consistente com o relatado por Hawash *et al.* (2014) na Arábia Saudita, Osman *et al.* (2016) no Líbano e Odeniran e Ademola (2019) na Nigéria. Esse fato pode ser justificado pela execução de atividades com maior risco de infecção, como lidar com animais de fazenda ou acesso a alimentos e água contaminados com material fecal de origem animal. Na América Latina esta situação pode ocorrer com frequência, visto que a pecuária é uma atividade com grande expressividade econômica na região (DÍAZ, 2014; BERHE *et al.*, 2018).

A alta taxa de mortalidade em imunocomprometidos, o impacto da criptosporidiose no desenvolvimento infantil e elevado número de casos em países em desenvolvimento justifica a realização de grande parte dos estudos nessas populações (PUMIPUNTU; PIRATAE, 2018; BOUZID *et al.*, 2018). A prevalência geral da criptosporidiose em indivíduos HIV positivos na América Latina, baseada na revisão sistemática e metanálise, foi inferior à de 13% encontrada por Wang *et al.* (2018) na América Latina e no Caribe. A menor prevalência do presente estudo pode estar associada aos critérios de inclusão na seleção dos artigos, que obrigatoriamente precisavam explicitar a positividade e espécie do parasito e não apenas a positividade pelo gênero.

A prevalência combinada em outros animais, obtida neste estudo pela análise quantitativa, foi de 18%, valor semelhante ao obtido por Zahedi *et al.* (2018) de 18,3% em um estudo conduzido na Austrália com diversos hospedeiros, incluindo animais de produção e animais exóticos. Neste trabalho, 24 artigos foram realizados em animais de produção, o que pode ser justificado pelo fato da criptosporidiose ser causa de diarreia aguda em ruminantes, afetando principalmente animais mais jovens, podendo acarretar em perdas econômicas (SANTÍN, 2013; THOMSON *et al.*, 2017). Outro fator importante na realização dos estudos seria o risco de infecção humana por contato direto com estes animais infectados e a contaminação ambiental gerada pela liberação maciça de oocistos, podendo favorecer a infecção de hospedeiros suscetíveis (THOMSON *et al.*, 2017; PUMIPUNTU; PIRATAE, 2018).

Não foi possível nessa revisão sistemática analisar a possibilidade de transmissão zoonótica de espécies de *Cryptosporidium* spp. pelo tema só ter sido contemplado em três estudos, com pequeno número de indivíduos, o que não possibilitou robustez na análise.

A prevalência combinada de 20,33% calculada para animais de estimação encontra-se na faixa obtida por Lucio-Foster *et al.* (2010) que verificaram prevalência mundial de criptosporidiose em cães e gatos variando de 0,5% a 44,1%. A taxa encontrada no presente estudo foi superior às de De Lucio *et al.* (2017) com 5,5% para cães e 8,8% em gatos na Espanha.

A prevalência combinada em animais de produção na América Latina (19,9%) foi semelhante à evidenciada por Hatam-Nahavandi *et al.* (2019) em uma revisão

mundial sobre criptosporidiose em ungulados, sendo a maior prevalência em bovinos. Esta taxa insere-se no intervalo reportado por Ryan e Power (2012) em bovinos na Austrália (2-58,8%). Hatam-Nahavandi *et al.* (2019) analisaram a positividade da criptosporidiose por continente, a qual foi de 26% para o continente americano. A maior taxa de positividade pode ter sido pela inclusão dos Estados Unidos da América e do Canadá na revisão dos referidos autores, além de terem utilizado estudos que diagnosticaram a parasitose apenas com métodos microscópicos, sem identificação de espécie.

A prevalência em animais exóticos (23,9%) foi superior à obtida por Ryan e Power (2012) em marsupiais na Austrália em uma revisão, onde houve variação de 5,6% a 11,3%, assim como às de Ng *et al.* (2011) com 22,7% em cães selvagens e 10,5% para raposas. Essas diferenças podem ter ocorrido, pois nos estudos citados os animais eram de vida livre, enquanto os animais inseridos nessa revisão eram a maioria de cativeiro, o que pode ter facilitado a coleta amostral ou a exposição à infecção pelo parasito. Mahmoudi *et al.* (2017) sugeriram que a variação da prevalência da criptosporidiose em diversas espécies animais parece estar mais relacionada às condições ecológicas na qual vivem do que a características específicas, pois a coexistência entre os animais favorece maiores taxas de troca de patógenos entre esses diferentes organismos.

Esta revisão sistemática e metanálise consolida não apenas a identificação de 19 espécies do gênero *Cryptosporidium* e a prevalência combinada dessa parasitose na América Latina, como também ressalta a importância da criptosporidiose como parasitose negligenciada, emergente e zoonótica, visto que a mesma tem um impacto tanto econômico quanto na saúde pública. Há a necessidade de incentivos a ampliação de estudos nesta região, com o propósito de expandir o arcabouço teórico sobre a criptosporidiose, assim como de monitorar a prevalência da mesma na população e subsidiar medidas de controle efetivas com enfoque na Saúde Única.

8 – CONCLUSÕES

- Foram identificadas 19 espécies do gênero *Cryptosporidium* entre animais, incluindo humanos, na América Latina
- A prevalência combinada de infecção por *Cryptosporidium* spp. em humanos, considerando identificação de espécies, na América Latina foi de 12%.
- A prevalência combinada por espécie do gênero *Cryptosporidium* em humanos foi de 3,1% para *Cryptosporidium hominis* e 2,8% para *Cryptosporidium parvum*, sendo evidenciadas também as espécies: *C. canis*, *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. viatorum*, *C. suis*, *C. muris*.
- Considerando humanos, espécies do parasito foram identificadas em sete países da América Latina, sendo cinco espécies no Peru; quatro no Brasil, Republica Dominicana e Chile; três na Colômbia; duas na Argentina e uma na Nicarágua.
- Entre animais, excluindo humanos, *Cryptosporidium parvum* foi a espécie mais frequente com prevalência combinada de 0,7%.
- Considerando outros animais, espécies de *Cryptosporidium* spp. foram identificadas em cinco países da América Latina, sendo 16 espécies no Brasil; quatro na Colômbia; uma no Chile; uma na Argentina e uma no México.
- Considerando animais de produção, estimação e exóticos a prevalência combinada de infecção por espécies de *Cryptosporidium* spp., na América Latina foi de 18%.
- A espécie com maior frequência entre animais de produção foi *Cryptosporidium parvum*, entre animais de estimação foi *Cryptosporidium felis* e entre animais exótico foi *Cryptosporidium galli*.

9 - REFERÊNCIAS

- Adeyemo, F. E., Singh, G., Reddy, P., Stenström, T. A. Methods for the detection of *Cryptosporidium* and *Giardia*: from microscopy to nucleic acid based tools in clinical and environmental regimes. *Acta Tropica*. 2018; 184: 15-28.4
- Ahmed, S. A., Karanis, P. An overview of methods/techniques for the detection of *Cryptosporidium* in food samples. *Parasitology Research*. 2018; 117(3): 629-653.
- Aldeyarbi, H. M., Karanis, P. The Ultra-Structural Similarities between *Cryptosporidium parvum* and the Gregarines. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2016; 63(1): 79-85.
- Aniesona, A. T., Bamaiyi, P. H. Retrospective Study of Cryptosporidiosis Among Diarrhoeic Children in the Arid Region of North-Eastern Nigeria. *Zoonoses and Public Health*. 2014; 61(6): 420-426.
- Aquino, M. C., Widmer, G., Zucatto, A. S., Viol, M. A., Inácio, S. V., Nakamura, A. A. *et al.* First molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. infecting buffalo calves in Brazil. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2015; 62(5): 657-661.
- Arango, M., Rodríguez, D. A., Prada, N. E. .Frecuencia de *Cryptosporidium* spp en materia fecal de niños entre un mes y trece años en un hospital local colombiano. *Colombia Médica*. 2006; 37(2): 121-125.
- Assis, D. C., Resende, D. V., Cabrine-Santos, M., Correia, D., Oliveira-Silva, M. B. Prevalence and genetic characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Cystoisospora belli* in HIV-infected patients. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2013; 55(3): 149-154.
- Avendaño, C., Ramo, A., Vergara-Castiblanco, C., Sánchez-Acedo, C., Quílez, J. Genetic uniqueness of *Cryptosporidium parvum* from dairy calves in Colombia. *Parasitology Research*. 2018; 117(5): 1317-1323.
- Baldursson, S., Karanis, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks—an update 2004–2010. *Water Research*. 2011; 45(20): 6603-6614.
- Bamaiyi, P. H., Redhuan, N. E. M. Prevalence and risk factors for cryptosporidiosis: a global, emerging, neglected zoonosis. *Asian Biomedicine*. 2016; 10(4): 309-325.
- Bamaiyi, P. H., Umoh, J. U., Abdu, P. A., Lawal, I. A. L. The prevalence of *Cryptosporidium* oocysts in birds in Zaria, Nigeria. *Borneo Journal of Resource Science and Technology*. 2013; 2(2): 52-59.
- Baxby, D., Blundell, N., Hart, C. A. The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. *Epidemiology & Infection*. 1984; 93(2): 317-323.

- Berahmat, R., Spotin, A., Ahmadpour, E., Mahami-Oskouei, M., Rezamand, A., Aminisani, N. *et al.* Human cryptosporidiosis in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Parasitology research*. 2017; 116(4): 1111-1128.
- Berhe, B., Bugssa, G., Bayisa, S., Alemu, M. Foodborne intestinal protozoan infection and associated factors among patients with watery diarrhea in Northern Ethiopia; a cross-sectional study. *Journal of Health, Population and Nutrition*. 2018; 37(1): 5.
- Bomfim, T. C. B., Huber, F., Gomes, R. S., Alves, L. L. Natural infection by *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. in dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties. *Veterinary Parasitology*. 2005; 134(1-2): 9-13.
- Borja, P. C. Política pública de saneamento básico: uma análise da recente experiência brasileira. *Saúde e Sociedade*, 2014; 23: 432-447.
- Botero, J. H., Castaño, A., Montoya, M. N., Ocampo, N. E., Hurtado, M. I., Lopera, M. M. A preliminary study of the prevalence of intestinal parasites in immunocompromised patients with and without gastrointestinal manifestations. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2003; 45(4): 197-200.
- Boulter-Bitzer, J. I., Lee, H., Trevors, J. T. Molecular targets for detection and immunotherapy in *Cryptosporidium parvum*. *Biotechnology Advances*. 2007; 25(1): 13-44.
- Bouzig, M., Hunter, P. R., Chalmers, R. M., Tyler, K. M. *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. *Clinical Microbiology Reviews*. 2013; 26(1): 115-134.
- Bouzig, M., Kintz, E., Hunter, P. R. Risk factors for *Cryptosporidium* infection in low and middle income countries: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2018; 12(6): e0006553.
- BRASIL. Lei Nº10.741 de 1º de outubro de 2003. Dispões sobre o Estatuto do Idoso. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/l10.741.htm. Acesso em: 9 set. 2020.
- BRASIL. Lei Nº 8.069, de 13 de julho de 1990. Dispõe sobre o Estatuto da Criança e do Adolescente. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8069.htm. Acesso em: 9 set. 2020.
- Bushen, O. Y., Kohli, A., Pinkerton, R. C., Dupnik, K., Newman, R. D., Sears *et al.* Heavy cryptosporidial infections in children in northeast Brazil: comparison of *Cryptosporidium hominis* and *Cryptosporidium parvum*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2007; 101(4): 378-384.
- Cacciò, S. M., Pozio, E. Advances in the epidemiology, diagnosis and treatment of cryptosporidiosis. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2006; 4(3): 429-443.
- Cama, V. A., Bern, C., Roberts, J., Cabrera, L., Sterling, C. R., Ortega, Y. *et al.* *Cryptosporidium* species and subtypes and clinical manifestations in children, Peru. *Emerging Infectious Diseases*. 2008; 14(10): 1567.

- Cama, V. A., Ross, J. M., Crawford, S., Kawai, V., Chavez-Valdez, R., Vargas, D. *et al.* Differences in clinical manifestations among *Cryptosporidium* species and subtypes in HIV-infected persons. *The Journal of Infectious Diseases*. 2007; 196(5): 684-691.
- Carey, C. M., Lee, H., Trevors, J. T. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Research*. 2004; 38(4): 818-862.
- Casemore, D. P. Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. *Epidemiology & Infection*. 1990; 104(1): 1-28.
- Casemore, D. P., Sands, R. L., Curry, A. *Cryptosporidium* species a "new" human pathogen. *Journal of Clinical Pathology*. 1985; 38(12): 1321-1336.
- Certad, G., Viscogliosi, E., Chabé, M., Cacciò, S. M. Pathogenic mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Trends in Parasitology*. 2017; 33(7): 561-576.
- Chacín-Bonilla, L., Barrios, F., Sanchez, Y. Environmental risk factors for *Cryptosporidium* infection in an island from Western Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2008; 103(1): 45-49.
- Chalmers, R. M., Katzer, F. Looking for *Cryptosporidium*: the application of advances in detection and diagnosis. *Trends in Parasitology*. 2013; 29(5): 237-251.
- Chalmers, R. M., Davies, A. P. Minireview: clinical cryptosporidiosis. *Experimental Parasitology*. 2010; 124(1): 138-146.
- Chalmers, R. M., Elwin, K., Hadfield, S. J., Robinson, G. Sporadic human cryptosporidiosis caused by *Cryptosporidium cuniculus*, United Kingdom, 2007–2008. *Emerging Infectious Diseases*. 2011; 17(3): 536.
- Chen, X. M., Keithly, J. S., Paya, C. V., LaRusso, N. F. Cryptosporidiosis. *New England Journal of Medicine*. 2002; 346(22): 1723-1731.
- Choudhry, N., Korbel, D. S., Edwards, L. A., Bajaj-Elliott, M., McDonald, V. Dysregulation of interferon- γ -mediated signalling pathway in intestinal epithelial cells by *Cryptosporidium parvum* infection. *Cellular Microbiology*. 2009; 11(9): 1354-1364.
- Clode, P. L., Koh, W. H., Thompson, R. A. Life without a host cell: what is *Cryptosporidium*? *Trends in Parasitology*. 2015; 31(12): 614-624.
- Coelho, W. M. D., Widmer, G., de Oliveira, F. P., do Amarante, A. F. T., Bresciani, K. D. S. NATURAL INFECTION BY *Cryptosporidium* SPP. IN PRODUCTION ANIMALS: FIRST DESCRIPTION OF SUBTYPE Ila15G2R1 IN GOAT KIDS AND PIGLETS IN BRAZIL. *Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology*. 2016; 45(4): 361-368.
- Cook, D. J., Mulrow, C. D., Haynes, R. B. Systematic reviews: synthesis of best evidence for clinical decisions. *Annals of Internal Medicine*. 1997; 126(5): 376-380.

Cook, D. J., Sackett, D. L., Spitzer, W. O. Methodologic guidelines for systematic reviews of randomized control trials in health care from the Potsdam Consultation on Meta-Analysis. *Journal of Clinical Epidemiology*. 1995; 48(1): 167-171.

Couto, M. C. M., de Freitas Lima, M., do Bomfim, T. C. B. (2014). New *Cryptosporidium parvum* subtypes of Ila subfamily in dairy calves from Brazil. *Acta Tropica*. 2014; 130: 117-122.

Cruvinel, L. B., Ayres, H., Zapa, D. M. B., Nicaretta, J. E., Couto, L. F. M., Heller, L. M. *et al.* Prevalence and risk factors for agents causing diarrhea (Coronavirus, Rotavirus, *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp., and nematodes helminthes) according to age in dairy calves from Brazil. *Tropical Animal Health and Production*. 2020; 52(2): 777-791.

Cunha, F. S., Peralta, R. H. S., Peralta, J. M. New insights into the detection and molecular characterization of *Cryptosporidium* with emphasis in Brazilian studies: a review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2019; 61: e28.

Cunha, M. J. R., Cury, M. C., Santín, M. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in poultry from Brazil. *Research in Veterinary Science*. 2018; 118: 331-335.

David, É. B., Guimarães, S., de Oliveira, A. P., de Oliveira-Sequeira, T. C. G., Bittencourt, G. N., Nardi, A. R. M. *et al.* Molecular characterization of intestinal protozoa in two poor communities in the State of São Paulo, Brazil. *Parasites & Vectors*. 2015; 8(1): 103.

De Felice, L. A., Moré, G., Cappuccio, J., Venturini, M. C., Unzaga, J. M. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from domestic pigs in Argentina. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2020; 100473.

De Lucio, A., Bailo, B., Aguilera, M., Cardona, G. A., Fernández-Crespo, J. C., Carmena, D. No molecular epidemiological evidence supporting household transmission of zoonotic *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. from pet dogs and cats in the province of Álava, Northern Spain. *Acta Tropica*. 2017; 170: 48-56.

De Mattos Viana, R., de Souza, C. C. A., Franco, M. P. V., de Marilac Souza, L., de Miranda-Ribeiro, A. Carências Habitacionais no Brasil e na América Latina: o papel do ônus excessivo com aluguel urbano/Housing needs in Brazil and Latin America: the role of the urban rental affordability stress. *Caderno de Geografia*. 2019; 29(56), 287-305.

de Quadros, R. M., de Lima Miguel, R. *Cryptosporidium* spp. em idosos residentes em instituições de longa permanência no sul do Brasil. *Clinical & Biomedical Research*. 2018; 38(3).

De Sousa, M. R., Ribeiro, A. L. P. Revisão sistemática e meta-análise de estudos de Diagnóstico e Prognóstico: um tutorial. *Arq Bras Cardiol*. 2009; 92(3): 241-251.

Del Coco, V. F., Córdoba, M. A., Basualdo, J. A. Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. *Revista Argentina de Microbiología*. 2009; 41(3): 185-196.

Delahoy, M. J., Omore, R., Ayers, T. L., Schilling, K. A., Blackstock, A. J., Ochieng, J. *et al.* Clinical, environmental, and behavioral characteristics associated with *Cryptosporidium* infection among children with moderate-to-severe diarrhea in rural western Kenya, 2008–2012: The Global Enteric Multicenter Study (GEMS). *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2018; 12(7): e0006640.

Deng, M., Rutherford, M. S., Abrahamsen, M. S. Host intestinal epithelial response to *Cryptosporidium parvum*. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2004; 56(6): 869-884.

Dessi, G., Tamponi, C., Varcasia, A., Sanna, G., Pipia, A. P., Carta, S. *et al.* *Cryptosporidium* infections in sheep farms from Italy. *Parasitology Research*. 2020; 119(12): 4211-4218.

Diaz, T. Contribución de la producción pecuaria a la seguridad alimentaria y nutricional ya la reducción de la pobreza en América Latina y el Caribe. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 2014; 48(1): 3-4.

Díaz-Lee, A., Mercado, R., Onuoha, E. O., Ozaki, L. S., Muñoz, P., Muñoz, V. *et al.* *Cryptosporidium parvum* in diarrheic calves detected by microscopy and identified by immunochromatographic and molecular methods. *Veterinary Parasitology*. 2011; 176(2-3): 139-144.

Dong, S., Yang, Y., Wang, Y., Yang, D., Yang, Y., Shi, Y. *et al.* (2020). Prevalence of *Cryptosporidium* infection in the global population: a systematic review and meta-analysis. *Acta Parasitologica*. 2020; 65: 882-889.

Dos Santos, E. J. F., Cunha, M. Interpretação crítica dos resultados estatísticos de uma meta-análise: estratégias metodológicas. *Millenium*. 2013; (44): 85-89.

Efstratiou, A., Ongerth, J. E., Karanis, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks-an update 2011–2016. *Water Research*. 2017; 114: 14-22.

Ehsan, A. M., Geurden, T., Casaert, S., Parvin, S. M., Islam, T. M., Ahmed, U. M. *et al.* Assessment of zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium* between cattle and humans in rural villages in Bangladesh. *PloS One*. 2015; 10(2): e0118239.

El-Alfy, E. S., Nishikawa, Y. *Cryptosporidium* species and cryptosporidiosis in Japan: a literature review and insights into the role played by animals in its transmission. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2020; 82(8):1051-1067.

Erber, F. S. Perspectivas da América Latina em ciência e tecnologia. *Parcerias Estratégicas*. 2009; 5(8): 181-200.

Ewald, M. P. D. C., Martins, F. D. C., Caldart, E. T., Vieira, F. E. G., Yamamura, M. H., Sasse, J. P. *et al.* The first study of molecular prevalence and species characterization of *Cryptosporidium* in free-range chicken (*Gallus gallus domesticus*) from Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2017; 26(4): 472-478.

Fall, A., Thompson, R. C. A., Hobbs, R. P., Morgan-Ryan, U. Morphology is not a reliable tool for delineating species within *Cryptosporidium*. *Journal of Parasitology*. 2003; 89(2): 399-402.

- Fayer, R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology*. 2004; 126(1-2): 37-56.
- Fayer, R., Morgan, U., Upton, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*. 2000; 30(12-13): 1305-1322.
- Feng, Y., Ryan, U. M., Xiao, L. Genetic diversity and population structure of *Cryptosporidium*. *Trends in Parasitology*. 2018; 34(11): 997-1011.
- Feng, Y., Xiao, L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis in China. *Frontiers in Microbiology*. 2017; 8: 1701.
- Ferrari, E. D., Nakamura, A. A., Nardi, A. R. M., Santana, B. N., da Silva Camargo, V., Nagata, W. B. *et al.* *Cryptosporidium* spp. in caged exotic psittacines from Brazil: Evaluation of diagnostic methods and molecular characterization. *Experimental Parasitology*. 2018; 184: 109-114.
- Figueiredo, H. C. P., Pereira Júnior, D. J., Nogueira, R. B., Costa, P. R. D. S. Excreção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em cães saudáveis das cidades de Lavras e Viçosa, Estado de Minas Gerais, Brasil. *Ciência Rural*. 2004; 34(5): 1625-1627.
- Fiuza, V. R. S., Almeida, A. J., Frazão-Teixeira, E., Santín, M., Fayer, R., Oliveira, F. C. R. Occurrence of *Cryptosporidium andersoni* in Brazilian cattle. *Journal of Parasitology*. 2011; 97(5): 952-953.
- Fiuza, V. R. S., Cosendey, R. I. J., Frazão-Teixeira, E., Santín, M., Fayer, R., de Oliveira, F. C. R. Molecular characterization of *Cryptosporidium* in Brazilian sheep. *Veterinary Parasitology*. 2010; 175(3-4): 360-362.
- Galvão, T. F., Pereira, M. G. Rating the quality of evidence of systematic reviews. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2015; 24(1): 173-175.
- Gerace, E., Presti, V. D. M. L., Biondo, C. *Cryptosporidium* infection: Epidemiology, pathogenesis, and differential diagnosis. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 2019; 9(4), 119-123.
- Gharpure, R., Perez, A., Miller, A. D., Wikswo, M. E., Silver, R., Hlavsa, M. C. Cryptosporidiosis Outbreaks—United States, 2009–2017. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2019; 68(25): 568.
- Gómez-Couso, H., Ortega-Mora, L. M., Aguado-Martínez, A., Rosadio-Alcántara, R., Maturrano-Hernández, L., Luna-Espinoza, L. *et al.* Presence and molecular characterisation of *Giardia* and *Cryptosporidium* in alpacas (*Vicugna pacos*) from Peru. *Veterinary Parasitology*. 2012; 187(3-4): 414-420.
- Gonçalves, E. M. D. N., Silva, A. J. D., Eduardo, M. B. D. P., Uemura, I. H., Moura, I. N., Castilho, V. L. P. *et al.* Multilocus genotyping of *Cryptosporidium hominis* associated with diarrhea outbreak in a day care unit in São Paulo. *Clinics*. 2006; 61(2): 119-126..

- Guerrant, R. L. Cryptosporidiosis: an emerging, highly infectious threat. *Emerging Infectious Diseases*. 1997; 3(1): 51.
- Guy, R. A., Yanta, C. A., Muchaal, P. K., Rankin, M. A., Thivierge, K., Lau, R., Boggild, A. K. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from humans in Ontario, Canada. *Parasites & Vectors*. 2021; 14(1): 1-14.
- Haghi, M. M., Khorshidvand, Z., Khazaei, S., Foroughi-Parvar, F., Sarmadian, H., Barati, N. *et al.* *Cryptosporidium* animal species in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Tropical Medicine and Health*. 2020; 48(1): 1-15.
- Hatam-Nahavandi, K., Ahmadpour, E., Carmena, D., Spotin, A., Bangoura, B., Xiao, L. *Cryptosporidium* infections in terrestrial ungulates with focus on livestock: a systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*. 2019; 12(1): 453.
- Hawash Y., L. S., Dorgham, A. S., Mohammed, S. Prevalence of *Cryptosporidium*-associated diarrhea in a high altitude-community of Saudi Arabia detected by conventional and molecular methods. *The Korean Journal of Parasitology*. 2014; 52(5): 479.
- Heker, M. M., Nakamura, A. A., Meireles, M. V. Caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. em criações comerciais brasileiras de coelhos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2016; 68(4): 977-982.
- Henriksen, S. A., Pohlenz, J. F. L. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 1981.
- Higgins, J. P., Thompson, S. G., Deeks, J. J., Altman, D. G. . Measuring inconsistency in meta-analyses. *Bmj*. 2003; 327(7414): 557-560.
- Hijjawi, N. S., Meloni, B. P., Ng'Anzo, M., Ryan, U. M., Olson, M. E., Cox, P. T. *et al.* Complete development of *Cryptosporidium parvum* in host cell-free culture. *International Journal for Parasitology*. 2004; 34(7): 769-777.
- Hijjawi, N. S., Meloni, B. P., Ryan, U. M., Olson, M. E., Thompson, R. C. A. Successful in vitro cultivation of *Cryptosporidium andersoni*: evidence for the existence of novel extracellular stages in the life cycle and implications for the classification of *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*. 2002; 32(14): 1719-1726.
- Holubolová, N., Sak, B. Horcicková, M., Hlášková, L., Kvetonová, D., Menchaca *et al.* *Cryptosporidium avium* n. sp.(Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in birds. *Parasitology Research*. 2016; 115 (6): 2243-2251.
- Homem, C. G., Nakamura, A. A., Silva, D. C., Teixeira, W. F., Coelho, W. M., Meireles, M. V. Real-time PCR assay targeting the actin gene for the detection of *Cryptosporidium parvum* in calf fecal samples. *Parasitology Research*. 2012; 110(5): 1741-1745.
- Hoppen, N., Lapointe, L., & Moreau, E. Um guia para avaliação de artigos de pesquisas em sistemas de informação. *Read: revista eletrônica de administração*. 1996; 3, 2 (2), documento eletrônico.

Horčíčková, M., Čondlová, Š., Holubová, N., Sak, B., Květoňová, D., Hlásková, L. *et al.* Diversity of *Cryptosporidium* in common voles and description of *Cryptosporidium alticolis* sp. n. and *Cryptosporidium microti* sp. n. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae). *Parasitology*. 2019; 146(2): 220-233.

Huber, F., Da Silva, S., Bomfim, T. C. B., Teixeira, K. R. S., Bello, A. R. Genotypic characterization and phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* sp. from domestic animals in Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2007; 150(1-2): 65-74.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Municipal Livestock Production. IBGE, 2018. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/en/statistics/economic/agriculture-forestry-and-fishing/17353-municipal-livestock-production.html?=&t=sobre>>. Acesso em: 12 out. 2020.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Domiciliar sobre Cães e Gatos - Humanização e Padrões de Consumo. Rio de Janeiro, 2007.

Ignatius, R., Klemm, T., Zander, S., Gahutu, J. B., Kimmig, P., Mockenhaupt, F. P. *et al.* Highly specific detection of *Cryptosporidium* spp. oocysts in human stool samples by undemanding and inexpensive phase contrast microscopy. *Parasitology Research*. 2016; 115(3): 1229-1234.

Jex, A. R., Smith, H. V., Monis, P. T., Campbell, B. E., Gasser, R. B. *Cryptosporidium*—biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotechnology Advances*. 2008; 26(4): 304-317.

Johnston, S. P., Ballard, M. M., Beach, M. J., Causer, L., Wilkins, P. P. Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003; 41(2): 623-626.

Karshima, S. N., Karshima, M. N. Epidemiology of *Cryptosporidium* Infections among People Living with HIV/AIDS in Nigeria: Results of Systematic Review and Meta-analysis. *Acta Parasitologica*. 2021; 66(1): 60-74.

Khan, A., Shaik, J. S., Grigg, M. E. Genomics and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* species. *Acta Tropica*. 2017; 184: 1-14.

Khezri, M., Khezri, O. The prevalence of *Cryptosporidium* spp. in lambs and goat kids in Kurdistan, Iran. *Veterinary World*. 2013; 6(12): 974.

Kvác, M., Havrdová, N., Hlásková, L., Danková, T., Kandra, J., Jezková, J. *et al.* *Cryptosporidium proliferans* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae): molecular and biological evidence of cryptic species within gastric *Cryptosporidium* of mammals. *PloS One*. 2016; 11 (1): e0147090.

Lalonde, L. F., Reyes, J., Gajadhar, A. A. Application of a qPCR assay with melting curve analysis for detection and differentiation of protozoan oocysts in human fecal samples from Dominican Republic. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2013; 89(5): 892-898.

Laubach, H. E., Bentley, C. Z., Ginter, E. L., Spalter, J. S., Jensen, L. A. A study of risk factors associated with the prevalence of *Cryptosporidium* in villages around

Lake Atitlan, Guatemala. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2004; 8(4): 319-323.

Leach, C. T., Koo, F. C., Kuhls, T. L., Hilsenbeck, S. G., Jenson, H. B. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in children along the Texas-Mexico border and associated risk factors. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2000; 62(5): 656-661.

Leander, B. S. Marine gregarines: evolutionary prelude to the apicomplexan radiation?. *Trends in Parasitology*. 2008; 24(2): 60-67.

Leander, B. S., Kuvardina, O. N., Aleshin, V. V., Mylnikov, A. P., Keeling, P. J. Molecular phylogeny and surface morphology of *Colpodella edax* (Alveolata): insights into the phagotrophic ancestry of apicomplexans. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2003; 50(5): 334-340.

Leles, D., Frías, L., Araújo, A., Brener, B., Sudré, A., Chame, M., Laurentino, V. Are immunoenzymatic tests for intestinal protozoans reliable when used on archaeological material?. *Experimental Parasitology*. 2019; 205: 107739.

Lewis, S., Clarke, M. Forest plots: trying to see the wood and the trees. *Bmj*. 2001; 322 (7300): 1479-1480.

Li, X., Nguyen, T., Xiao, C., Levy, A., Akagi, Y., Silkie, S., Atwill, E. R. (2020). Prevalence and Genotypes of *Cryptosporidium* in Wildlife Populations Co-Located in a Protected Watershed in the Pacific Northwest, 2013 to 2016. *Microorganisms*. 2020; 8(6): 914.

Lim, Y. A., Mahdy, M. A., Surin, J. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* in Southeast Asia. In *Parasites and Their Vectors*. Springer, Vienna. 2013; 77-102.

Lindsay, D. S., Upton, S. J., Owens, D. S., Morgan, U. M., Mead, J. R., Blagburn, B. L. *Cryptosporidium andersoni* n. sp.(Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2000; 47(1), 91-95.

Lombardelli, J. A., Tomazic, M. L., Schnittger, L., Tiranti, K. I. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* in dairy calves and GP60 subtyping of diarrheic calves in central Argentina. *Parasitology Research*. 2019; 118(7):2079-2086.

López-Urbina, M. T., González, A. E., Gomez-Puerta, L. A., Romero-Arbizu, M. A., Perales-Camacho, R. A., Rojo-Vázquez, F. A. Prevalence of neonatal cryptosporidiosis in Andean alpacas (*Vicugna pacos*) in Peru. *The Open Parasitology Journal*. 2011; 3: 9-13.

Lucca, P. D., De Gaspari, E. N., Bozzoli, L. M., Funada, M. R., Silva, S. O. D. S., Iuliano, W., Soares, R. M. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from HIV infected patients from an urban area of Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2009; 51(6):341-343.

Lucio-Forster, A., Griffiths, J. K., Cama, V. A., Xiao, L., Bowman, D. D. Minimal zoonotic risk of cryptosporidiosis from pet dogs and cats. *Trends in Parasitology*. 2010; 26(4): 174-179.

Ma, P., Soave, R. Three-step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea. *Journal of Infectious Diseases*. 1983; 147(5): 824-828.

Mackenzie, W. R., Hoxie, N. J., Proctor, M. E., Gradus, M. S., Blair, K. A., Peterson, D. E. *et al.* A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *New England Journal of Medicine*. 1994; 331(3): 161-167.

Mahmoudi, M. R., Ongerth, J. E., Karanis, P. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis: the Asian perspective. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2017; 220(7): 1098-1109.

Meinhardt, P. L., Casemore, D. P., Miller, K. B. Epidemiologic aspects of human cryptosporidiosis and the role of waterborne transmission. *Epidemiologic Reviews*. 1996; 18(2): 118-136.

Meireles, M. V., de Oliveira, F. P., Teixeira, W. F. P., Coelho, W. M., Mendes, L. C. N. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in dairy calves from the state of São Paulo, Brazil. *Parasitology research*. 2011; 109(3): 949-951.

Meireles, M. V., Soares, R. M., Bonello, F., Gennari, S. M. Natural infection with zoonotic subtype of *Cryptosporidium parvum* in Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2007; 147(1-2): 166-170.

Meisel, J. L., Perera, D. R., Meligro, C., Rubin, C. E. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology*. 1976; 70(6): 1156-1160.

Mendoza, I. V., Guillen Lorenzo, V., Cruz-Vázquez, C., Medina-Esparza, L., Ramos Parra, M. Frecuencia de casos e identificación molecular de *Cryptosporidium* spp. en corderos lactantes mantenidos en pastoreo en el estado de Veracruz, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 2018; 9(3): 420-434.

Mmbaga, B. T., Houpt, E. R. *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in children: a review. *Pediatric Clinics*. 2017; 64(4): 837-850.

Mor, S. M., Tumwine, J. K., Ndeezi, G., Srinivasan, M. G., Kaddu-Mulindwa, D. H., Tzipori, S. *et al.* Respiratory cryptosporidiosis in HIV-seronegative children in Uganda: potential for respiratory transmission. *Clinical Infectious Diseases*. 2010; 50(10): 1366-1372.

Morgan, F. U., Pallant, L., Dwyer, B. W., Forbes, D. A., Rich, G., Thompson, R. C. A. Comparison of PCR and microscopy for detection of *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens: clinical trial. *Journal of Clinical Microbiology*. 1998; 36(4): 995-998.

Morris, A., Robinson, G., Swain, M. T., Chalmers, R. M. Direct sequencing of *Cryptosporidium* in stool samples for public health. *Frontiers in Public Health*. 2019; 7.

Morrow, J. J., Reinhard, K. J. *Cryptosporidium parvum* among coprolites from la Cueva de los muertos Chiquitos (600–800 CE), Rio zape Valley, Durango, Mexico. *The Journal of Parasitology*. 2016; 102(4): 429-435.

Mulrow, C. D. The medical review article: state of the science. *Annals of Internal Medicine*. 1987; 106(3): 485-488.

Muñoz A, P., Mercado P, R., Morales T, G., Bravo O, V., Raffo C, E. *Cryptosporidium* spp., comparative diagnosis and geospatial distribution in diarrheic calves from dairy farms, Valdivia, Chile. *Revista MVZ Córdoba*. 2014; 19(1): 3954-3961.

Muñoz, C., A. Pavón, A., Marcilla, A., Toledo, R., Esteban, J. G. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* in schoolchildren from department of Rio San Juan (Nicaragua). *Trop Biomed*. 2011; 28(1): 40-47.

Nakamura, A. A., Homem, C. G., da Silva, A. M., Meireles, M. V. Diagnosis of gastric cryptosporidiosis in birds using a duplex real-time PCR assay. *Veterinary Parasitology*. 2014; 205(1-2): 7-13.

Nakamura, A. A., Meireles, M. V. *Cryptosporidium* infections in birds-a review. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2015; 24(3): 253-267.

Neira, O. P. , Muñoz-Saldías, N., Sanchez-Moreno, M., Rosales-Lombardo, M. J. . Molecular characterization of *Cryptosporidium* species and genotypes in Chile. *Parasitology Research*. 2005; 97(1): 63-67.

Neira, O. P., Muñoz, S. N., Stanley, V. B., Gosh, C. M., Rosales, L. M. *Cryptosporidium parvum* in wild gastropods as bioindicators of fecal contamination in terrestrial ecosystems. *Revista Chilena de Infectología: organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*. 2010; 27(3): 211-218.

Neira, O. P., Muñoz, S. N., Wilson, L. G., Barthel, M. M., Rosales, L. M., Henríquez, R. C. *Cryptosporidium* species in immunodeficient and immunocompetent patients of Valparaíso: a descriptive study. *Revista Chilena de Infectología: Organo Oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*. 2012; 29(1): 63-71.

Neto, L. S., Widmer, G., de Lima, V. M. F., Meireles, M. V., Inácio, S. V., Marques *et al.* Prevalence of *Cryptosporidium* infection in domestic cats from an urban area in Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*. 2020; 41(6): 2677-2686.

Ng, J., Yang, R., Whiffin, V., Cox, P., Ryan, U. Identification of zoonotic *Cryptosporidium* and *Giardia* genotypes infecting animals in Sydney's water catchments. *Experimental Parasitology*. 2011; 128(2): 138-144.

Nime, F. A., Burek, J. D., Page, D. L., Holscher, M. A., Yardley, J. H. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*. 1976; 70(4): 592-598.

Normand, S. L. T. Meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Statistics in Medicine*. 1999; 18(3): 321-359.

Novaes, R. S., Pires, M. S., Sudré, A. P., do Bomfim, T. C. B. Captive-bred neotropical birds diagnosed with *Cryptosporidium* Avian genotype III. *Acta tropica*. 2018; 178: 297-302.

Ocampo, R. J., Rivera, F. A., López, G. A., Álvarez, M. E., Cardozo, L. A., Pérez, J. E. FIRST REPORT OF *Cryptosporidium parvum* IN HOLSTEIN CALVES (Bos taurus) FROM MANIZALES, CALDAS, COLOMBIA. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 2012; 59(3): 159-164.

Odeniran, P. O., Ademola, I. O. Epidemiology of *Cryptosporidium* infection in different hosts in Nigeria: A meta-analysis. *Parasitology International*. 2019; 71, 194-206.

O'Donoghue, P. J. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *International Journal for Parasitology*. 1995; 25(2): 139-195.

Oliveira, B. C. M., Ferrari, E. D., da Cruz Panegossi, M. F., Nakamura, A. A., Corbucci, F. S., Nagata, W. B. *et al.* First description of *Cryptosporidium parvum* in carrier pigeons (*Columba livia*). *Veterinary Parasitology*. 2017; 243: 148-150.

Oliveira, G. F. M., do Couto, M. C. M., de Freitas Lima, M., do Bomfim, T. C. B. Mussels (*Perna perna*) as bioindicator of environmental contamination by *Cryptosporidium* species with zoonotic potential. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 2016; 5(1): 28-33.

Oliveira-Silva, M. B. D., Oliveira, L. R. D., Resende, J. C. P., Peghini, B. C., Ramirez, L. E., Lages-Silva, E. *et al.* Seasonal profile and level of CD4+ lymphocytes in the occurrence of cryptosporidiosis and cystoisosporidiosis in HIV/AIDS patients in the Triângulo Mineiro region, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2007; 40(5): 512-515.

Organização das Nações Unidas – Assentamentos Humanos (ONU-Habitat), 2015. Déficit Habitacional en América Latina y el Caribe: Una herramienta para el diagnóstico y el desarrollo de políticas efectivas en vivienda y hábitat. Disponível em <<https://unhabitat.org/books/deficit-habitacional-en-america-latina-y-el-caribe/>> Acesso em 4 de abril de 2021.

Osman, M., El Safadi, D., Cian, A., Benamrouz, S., Nourrisson, C., Poirier, P. *et al.* Prevalence and risk factors for intestinal protozoan infections with *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Blastocystis* and *Dientamoeba* among schoolchildren in Tripoli, Lebanon. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2016; 10(3): e0004496.

Pacheco A., T., Martins, F. D. C., de Almeida, S. L. H., Semedo, T. B. F., Watanabe, M. I., Dutra, V. *et al.* Molecular survey of *Cryptosporidium* spp. in calves from the state of Mato Grosso, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*. 2020; 41(5supl1): 2437-2444.

Pancieria, R. J., Thomassen, R. W., Garner, F. M. Cryptosporidial infection in a calf. *Veterinary Pathology*. 1971; 8(5-6): 479-484.

- Pathak, M., Dwivedi, S. N., Thakur, B., & Vishnubhatla, S. Methods of estimating the pooled effect size under meta-analysis: A comparative appraisal. *Clinical Epidemiology and Global Health*. 2019; 8(1): 105-112.
- Paz e Silva, F. M., Lopes, R. S., Araújo-Junior, J. P. Identification of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy cattle in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2013; 22(1): 22-28.
- Paz e Silva, F. M., Lopes, R., Bresciani, K., Amarante, A., Araujo, J. High occurrence of *Cryptosporidium ubiquitum* and *Giardia duodenalis* genotype E in sheep from Brazil. *Acta Parasitologica*. 2014; 59(1), 193-196.
- Peralta, R. H. S., Velásquez, J. N., Cunha, F. D. S., Pantano, M. L., Sodr e, F. C., Silva, S. D. *et al.* Genetic diversity of *Cryptosporidium* identified in clinical samples from cities in Brazil and Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2016; 111(1): 30-36.
- Petry, F. Laboratory diagnosis of *Cryptosporidium parvum* infection. *Contributions to Microbiology*. 2000; 6: 33-49.
- Petry, F. Structural analysis of *Cryptosporidium parvum*. *Microscopy and Microanalysis*. 2004; 10(5): 586.
- Pulido-Medellín, M. O., Andrade-Becerra, R. J., Rodríguez-Vivas, R. I., Garcia-Corredor, D. J. Prevalencia y posibles factores de riesgo en la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en bovinos de Boyacá, Colombia. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 2014; 5(3): 357-364.
- Pumipuntu, N., Piratae, S. Cryptosporidiosis: A zoonotic disease concern. *Veterinary World*. 2018; 11(5): 681.
- Quihui-Cota, L., Morales-Figueroa, G. G., Javalera-Duarte, A., Ponce-Martínez, J. A., Valbuena-Gregorio, E., López-Mata, M. A. Prevalence and associated risk factors for *Giardia* and *Cryptosporidium* infections among children of northwest Mexico: a cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2017; 17(1): 852.
- Quilez, J., Sanchez-Acedo, C., Del Cacho, E., Clavel, A., Causape, A. C. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragon (northeastern Spain). *Veterinary Parasitology*. 1996; 66(3-4): 139-146.
- Reduker, D. W., Speer, C. A., Blixt, J. A. Ultrastructure of *Cryptosporidium parvum* oocysts and excysting sporozoites as revealed by high resolution scanning electron microscopy 1. *The Journal of Protozoology*. 1985; 32(4): 708-711.
- Richardson, W. S., Wilson, M. C., Nishikawa, J., Hayward, R. S. The well-built clinical question: a key to evidence-based decisions. *Acp Journal Club*. 1995; 123(3): A12-3.
- Rolando, R. F. R., Silva, S. D., Peralta, R. H. S., Silva, A. J. D., Cunha, F. D. S., Bello, A. R. *et al.* Detection and differentiation of *Cryptosporidium* by real-time polymerase chain reaction in stool samples from patients in Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2012; 107(4): 476-479.

- Rosales, M. J., Cordón, G. P., Moreno, M. S., Sánchez, C. M., Mascaró, C. Extracellular like-gregarine stages of *Cryptosporidium parvum*. *Acta Tropica*. 2005; 95(1): 74-78.
- Ruggiero, P. C., Zacariotti, R. L., Bondan, E. F., & Lallo, M. A. Prevalência de *Cryptosporidium serpentis* em serpentes de cativeiro. *Ciência Rural*. 2011; 41(11): 1975-1978.
- Ryan, U., Paparini, A., Monis, P., Hijjawi, N. It's official—*Cryptosporidium* is a gregarine: What are the implications for the water industry? *Water Research*. 2016; 105: 305-313.
- Ryan, U., Power, M. *Cryptosporidium* species in Australian wildlife and domestic animals. *Parasitology*. 2012; 139(13): 1673-1688.
- Ryan, U., Zahedi, A., Paparini, A. *Cryptosporidium* in humans and animals—a one health approach to prophylaxis. *Parasite Immunology*. 2016; 38(9): 535-547.
- Samra, A. N., Thompson, P. N., Jori, F., Freaan, J., Poonsamy, B., Du Plessis, D. *et al.* Genetic characterization of *Cryptosporidium* spp. in diarrhoeic children from four provinces in South Africa. *Zoonoses and Public Health*. 2013; 60(2): 154-159.
- Sánchez, A., Munoz, M., Gómez, N., Tabares, J., Segura, L., Salazar, Á. *et al.* Molecular epidemiology of *Giardia*, *Blastocystis* and *Cryptosporidium* among indigenous children from the Colombian Amazon Basin. *Frontiers in Microbiology*. 2017; 8: 248.
- Santana, B. N., Kurahara, B., Nakamura, A. A., da Silva Camargo, V., Ferrari, E. D., da Silva, G. S. *et al.* Detection and characterization of *Cryptosporidium* species and genotypes in three chicken production systems in Brazil using different molecular diagnosis protocols. *Preventive Veterinary Medicine*. 2018; 151: 73-78.
- Santin, D. M. The trajectories of science in Latin America and the Caribbean at the beginning of the twenty-first century. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos*. 2019; 26(1): 350-352.
- Santin, M. Clinical and subclinical infections with *Cryptosporidium* in animals. *New Zealand Veterinary Journal*. 2013; 61(1): 1-10.
- Santín, M., Trout, J. M., Vecino, J. A. C., Dubey, J. P., Fayer, R. *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Enterocytozoon bieneusi* in cats from Bogota (Colombia) and genotyping of isolates. *Veterinary Parasitology*. 2006; 141(3-4): 334-339.
- Schnack, F. J., Fontana, L. D. M., Barbosa, P. R., Silva, L. S. M. D., Baillargeon, C. M. M., Barichello, T. *et al.* Enteropatógenos associados com diarreia infantil (< 5 anos de idade) em amostra da população da área metropolitana de Criciúma, Santa Catarina, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*. 2003; 19(4): 1205-1208.
- Sevá, A. D. P., Funada, M. R., Souza, S. D. O., Nava, A., Richtzenhain, L. J., Soares, R. M. Occurrence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. isolated from domestic animals in a rural area surrounding Atlantic dry forest

fragments in Teodoro Sampaio municipality, State of São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2010; 19(4): 249-253.

Sevá, A. P., Funada, M. R., Richtzenhain, L., Guimarães, M. B., de Oliveira Souza, S., Allegretti, L. *et al.* Genotyping of *Cryptosporidium* spp. from free-living wild birds from Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2011; 175(1-2): 27-32.

Sevá, A. P., Sercundes, M. K., Martins, J., De Souza, S. O., Da Cruz, J. B., Lisboa, C. S. *et al.* Occurrence and molecular diagnosis of *Cryptosporidium serpentis* in captive snakes in Sao Paulo, Brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2011; 42(2): 326-329.

Sibley, L. D. Intracellular parasite invasion strategies. *Science*. 2004; 304(5668): 248-253.

Silva, D. C., Homem, C. G., Nakamura, A. A., Teixeira, W. F. P., Perri, S. H. V., Meireles, M. V. Physical, epidemiological, and molecular evaluation of infection by *Cryptosporidium galli* in Passeriformes. *Parasitology Research*. 2010; 107(2): 271-277.

Silva, D. C., Paiva, P. R. S., Nakamura, A. A., Homem, C. G., de Souza, M. S., Grego, K. F. *et al.* The detection of *Cryptosporidium serpentis* in snake fecal samples by real-time PCR. *Veterinary Parasitology*. 2014; 204(3-4): 134-138.

Silva, S. D., Silva, S. P. D., Gouveia, Y. D. S., Silva, N. D. O. D., Melo, M. E. R. M. D., Moura, H. *et al.* Ocorrência de *Cryptosporidium* sp em amostras fecais de crianças, menores de 10 anos de idade, com indicação clínica de Rotavírus. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2003; 36(3): 421-423.

Silva, S. O., Richtzenhain, L. J., Barros, I. N., Gomes, A. M., Silva, A. V., Kozerski, N. D. *et al.* A new set of primers directed to 18S rRNA gene for molecular identification of *Cryptosporidium* spp. and their performance in the detection and differentiation of oocysts shed by synanthropic rodents. *Experimental Parasitology*. 2013; 135(3): 551-557.

Silva-Díaz, H., Campos-Flores, H., Llagas-Linares, J. P., LLatas-Cancino, D. Coccidiosis intestinal en niños admitidos en un hospital de Perú y comparación de dos métodos para la detección del *Cryptosporidium* spp. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2016; 33: 739-744.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO - 2019 (SNIS). Disponível em <<http://snis.gov.br/painel-informacoes-saneamento-brasil/web/painel-setor-saneamento>>. Acesso em 1 de abril de 2021.

Šlapeta, J. Cryptosporidiosis and *Cryptosporidium* species in animals and humans: a thirty colourrainbow?. *International Journal for Parasitology*. 2013; 43 (12-13):957-970.

Smith, H. V., Caccio, S. M., Cook, N., Nichols, R. A. B., Tait, A. *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. *Veterinary Parasitology*. 2007; 149(1-2): 29-40.

- Soldan, O. C. P., Vasquez, F. V., Varas, A. G., Cordon, G. P., Soto, J. V., Sanchez-Moreno, M. *et al.* Intestinal parasitism in Peruvian children and molecular characterization of *Cryptosporidium* species. *Parasitology Research*. 2006; 98(6): 576-581.
- Souza, M. S., Vieira, B. R., Riva, H. G., Homem, C. G., Da Silva, D. C., Nakamura, A. A. *et al.* Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em animais exóticos de companhia no Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2015; 67(5): 1321-1326.
- Squire, S. A., Ryan, U. *Cryptosporidium* and *Giardia* in Africa: current and future challenges. *Parasites & Vectors*. 2017; 10(1): 195.
- Taghipour, A., Olfatifar, M., Bahadory, S., Godfrey, S. S., Abdoli, A., Khatami, A., Shahrivar, F. The global prevalence of *Cryptosporidium* infection in dogs: A systematic review and meta-analysis. *Veterinary parasitology*. 2020; 281: 109093.
- Thomaz, A., Meireles, M. V., Soares, R. M., Pena, H. F., Gennari, S. M. Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. from fecal samples of felines, canines and bovines in the state of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2007; 150(4): 291-296.
- Thomson, S., Hamilton, C. A., Hope, J. C., Katzer, F., Mabbott, N. A., Morrison, L. J *et al.* Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. *Veterinary Research*. 2017; 48(1): 1-16.
- Toledo, R. D. S., Martins, F. D. C., Ferreira, F. P., de Almeida, J. C., Ogawa, L., dos Santos, H. L. E. P. L. *et al.* *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in feces and water and the associated exposure factors on dairy farms. *PloS One*. 2017; 12(4): e0175311.
- Tomazic, M. L., Maidana, J., Dominguez, M., Uriarte, E. L., Galarza, R., Garro, C. *et al.* Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from calves in Argentina. *Veterinary Parasitology*. 2013; 198(3-4): 382-386.
- Tyzzar, E. E. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1907; 5(1): 12-13.
- Tyzzar, E. E. An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.), of the gastric glands of the common mouse. *The Journal of Medical Research*. 1910; 23(3): 487.
- Tyzzar, E. E. *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch. Protistenkd*. 1912; 26: 394-412.
- Valigurová, A. Sophisticated adaptations of *Gregarina cuneata* (Apicomplexa) feeding stages for epicellular parasitism. *PLoS One*. 2012; 7(8): e42606.
- Velasquez, J. N., Marta, E., di Risio, C. A., Etchart, C., Gancedo, E., Chertcoff, A. V. *et al.* Molecular identification of protozoa causing AIDS-associated cholangiopathy in Buenos Aires, Argentina. *Acta Gastroenterologica Latinoamericana*. 2012; 42(4): 301-308.

- Villamizar, X., Higuera, A., Herrera, G., Vasquez-A, L. R., Buitron, L., Muñoz, L. M. *et al.* Molecular and descriptive epidemiology of intestinal protozoan parasites of children and their pets in Cauca, Colombia: a cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*. 2019; 19(1): 1-11.
- Wang, W., Gong, Q. L., Zeng, A., Li, M. H., Zhao, Q., Ni, H. B. Prevalence of *Cryptosporidium* in pigs in China: A systematic review and meta-analysis. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2020; 1-14.
- Wang, Z. D., Liu, Q., Liu, H. H., Li, S., Zhang, L., Zhao, Y. K. *et al.* Prevalence of *Cryptosporidium*, *microsporidia* and *Isospora* infection in HIV-infected people: a global systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*. 2018; 11(1): 28.
- Weber, R., Bryan, R. T., Bishop, H. S., Wahlquist, S. P., Sullivan, J. J., Juranek, D. D. Threshold of detection of *Cryptosporidium* oocysts in human stool specimens: evidence for low sensitivity of current diagnostic methods. *Journal of Clinical Microbiology*. 1991; 29(7): 1323-1327.
- Wetzel, D. M., Schmidt, J., Kuhlenschmidt, M. S., Dubey, J. P., Sibley, L. D. Gliding motility leads to active cellular invasion by *Cryptosporidium parvum* sporozoites. *Infection and Immunity*. 2005; 73(9): 5379-5387.
- Widerström, M., Schönning, C., Lilja, M., Lebbad, M., Ljung, T., Allestam, G., Lindh, J. Large outbreak of *Cryptosporidium hominis* infection transmitted through the public water supply, Sweden. *Emerging infectious diseases*, 2014; 20(4): 581.
- Xiao, L., Bern, C., Limor, J., Sulaiman, I., Roberts, J., Checkley, W. *et al.* Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. *The Journal of Infectious Diseases*. 2001; 183(3): 492-497.
- Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U. *Cryptosporidium* spp. taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clinical Microbiology Reviews*. 2004; 17(1): 72-97.
- Yap, N. J., Koehler, A. V., Ebner, J., Tan, T. K., Lim, Y. A., Gasser, R. B. Molecular analysis of *Cryptosporidium* from cattle from five states of Peninsular Malaysia. *Molecular and Cellular Probes*. 2016; 30(1): 39-43.
- Zahedi, A., Durmic, Z., Gofton, A. W., Kueh, S., Austen, J., Lawson, M. *et al.* *Cryptosporidium homai* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporididae) from the guinea pig (*Cavia porcellus*). *Veterinary Parasitology*. 2017; 245: 92-101.
- Zahedi, A., Monis, P., Gofton, A. W., Oskam, C. L., Ball, A., Bath, A. *et al.* *Cryptosporidium* species and subtypes in animals inhabiting drinking water catchments in three states across Australia. *Water research*. 2018; 134: 327-340.
- Zahedi, A., Papparini, A., Jian, F., Robertson, I., Ryan, U. Public health significance of zoonotic *Cryptosporidium* species in wildlife: critical insights into better drinking water management. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 2016; 5(1): 88-109.
- Zucatto, A. S., Aquino, M. C. C., Inácio, S. V., Figueiredo, R. N., Pierucci, J. C., Perri, S. H. V. *et al.* Molecular characterisation of *Cryptosporidium* spp. in lambs in the

South Central region of the State of São Paulo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2015; 67(2): 441-446.

APÊNDICE- Informações sobre origem amostral e os hospedeiros animais.

Autor	Ano	País	Origem amostral	Hospedeiros
Aquino <i>et al.</i>	2015	Brasil	Animais de produção	Bezerros de búfalos
Avendaño <i>et al.</i>	2018	Colômbia	Animais de produção	Bezerros
Coelho <i>et al.</i>	2016	Brasil	Animais de produção	Bezerros, leitões, cordeiros e potros
Couto <i>et al.</i>	2014	Brasil	Animais de produção	Bezerros leiteiros
Cunha <i>et al.</i>	2018	Brasil	Animais de produção	Codorna, faisão, peru, galinhas, avestruz e emu
David <i>et al.</i>	2015	Brasil	Animais de estimação	Cães
Díaz-Lee <i>et al.</i>	2011	Chile	Animais de produção	Bezerros
Ewald <i>et al.</i>	2017	Brasil	Animais de produção	Galinhas caipiras
Ferrari <i>et al.</i>	2018	Brasil	Animais exóticos	Psitacídeos
Fiuza <i>et al.</i>	2010	Brasil	Animais de produção	Ovelhas
Fiuza <i>et al.</i>	2011	Brasil	Animais de produção	Gado leiteiro
Heker <i>et al.</i>	2016	Brasil	Animais de produção	Coelhos
Homem <i>et al.</i>	2012	Brasil	Animais de produção	Bezerros
Huber <i>et al.</i>	2007	Brasil	Animais de estimação	Gatos
Lombardelli <i>et al.</i>	2019	Argentina	Animais de produção	Bezerros leiteiros
Meireles <i>et al.</i>	2007	Brasil	Animais exóticos	Capivaras
Meireles <i>et al.</i>	2011	Brasil	Animais de produção	Bezerros leiteiros
Mendonza <i>et al.</i>	2018	México	Animais de produção	Cordeiros
Nakamura <i>et al.</i>	2014	Brasil	Animais exóticos	Passeriformes e Psittaciformes

APÊNDICE - Informações sobre origem amostral e os hospedeiros animais (continuação).

Autor	Ano	País	Origem amostral	Hospedeiros
Neira <i>et al.</i>	2005	Chile	Animais de produção	Gado
Neira <i>et al.</i>	2010	Chile	Animais exóticos	Gastrópodes
Ocampo <i>et al.</i>	2012	Colômbia	Animais de produção	Bezerros
Oliveira <i>et al.</i>	2016	Brasil	Animais exóticos	Mexilhão
Oliveira <i>et al.</i>	2017	Brasil	Animais exóticos	Pombo
Paz e Silva <i>et al.</i>	2013	Brasil	Animais de produção	Bovinos leiteiros
Paz e Silva <i>et al.</i>	2014	Brasil	Animais de produção	Ovelhas
Ruggiero <i>et al.</i>	2011	Brasil	Animais exóticos	Serpentes
Santana <i>et al.</i>	2018	Brasil	Animais de produção	Galinhas
Santín <i>et al.</i>	2006	Colômbia	Animais de estimação	Gatos
Sevá <i>et al.</i>	2011	Brasil	Animais exóticos	Serpentes
Sevá <i>et al.</i>	2011	Brasil	Animais exóticos	Pássaros
Sevá <i>et al.</i>	2010	Brasil	Animais de estimação e de produção	Cães, bovinos, suínos, equinos e ovinos
Silva <i>et al.</i>	2010	Brasil	Animais exóticos	Passeriformes
Silva <i>et al.</i>	2014	Brasil	Animais exóticos	Serpentes
Silva <i>et al.</i>	2013	Brasil	Animais exóticos	Roedores sinantrópicos
Souza <i>et al.</i>	2015	Brasil	Animais exóticos	Hamster, chinchila, coelhos, porquinho-da-índia, camundongo e furões
Thomaz <i>et al.</i>	2007	Brasil	Animais de estimação e de produção	Cães, gatos e bovinos
Toledo <i>et al.</i>	2017	Brasil	Animais de produção	Bovinos
Tomazic <i>et al.</i>	2013	Argentina	Animais de produção	Bezerros
Villamizar <i>et al.</i>	2019	Colômbia	Animais de estimação	Cães
Zuccato <i>et al.</i>	2015	Brasil	Animais de produção	Cordeiros