



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**CRIPTOSPORIDIOSE HUMANA - PANORAMA EM PORTUGAL  
E NO MUNDO**

Trabalho submetido por  
**João Gonçalo Moreira Roxo**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**outubro de 2014**





**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**CRIPTOSPORIDIOSE HUMANA - PANORAMA EM PORTUGAL  
E NO MUNDO**

Trabalho submetido por  
**João Gonçalo Moreira Roxo**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutora M. Guilhermina Moutinho**

**outubro de 2014**



## **Dedicatória**

*Aos meus pais, irmã e avós,  
por me guiarem ao longo da vida, nunca me esqueço quem sou e de onde venho....*



## Agradecimentos

*Desejo expressar os meus sinceros agradecimentos:*

*À **Prof. Doutora Guilhermina Moutinho** pela constante disponibilidade, generosidade, compreensão, pelo saber e conhecimento que me transmitiu e pelas sugestões relevantes efetuadas durante a orientação.*

*Aos **meus professores** pela atenção, simpatia, disponibilidade, empenho e partilha de conhecimentos que evidenciaram durante o meu percurso académico.*

*Aos **meus amigos** pelo apoio incondicional, por estarem constantemente presentes, partilhando comigo bons e maus momentos, revelando um grande espírito de entreatajuda e disponibilidade. Sem querer ser injusto com todos os outros, agradeço especialmente à **Rita Fernandes**, ao **João Santana**, ao **João Pereira**, ao **David Baptista**, ao **Mickael Santos** e ao **Filipe Morgado**, que marcaram de forma particular, estes cinco anos da minha vida. Ainda, um agradecimento especial, mas não menos importante, ao **meus colegas e amigos da turma 1**, sem dúvida foram a melhor turma que poderia ter tido.*

*À **minha família** pelo apoio, carinho, compreensão, dedicação, amor incondicional e a constante confiança nas minhas capacidades. Obrigado por me concederem o privilégio de estar no Ensino Superior, e por serem um exemplo de coragem e perseverança, determinantes para a conclusão deste Mestrado. Um agradecimento especial à **minha mãe** e ao **meu pai**, por terem um papel essencial na minha educação. Estou onde estou e sou o que sou, devido a eles.*

*À **Mafalda** pelo amor, carinho, disponibilidade, paciência, confiança e motivação.*

*A todos, o meu Muito Obrigado!*



## Resumo

*Cryptosporidium* é um parasita do filo Apicomplexa, capaz de infectar as células epiteliais do hospedeiro. A sua capacidade de resistência a diferentes meios, permite-lhe sobreviver por longos períodos no meio ambiente, bem com contaminar novos hospedeiros. Este parasita é transmitido através da ingestão de ooquistos infetantes, por via fecal-oral. A via hídrica constitui uma das principais formas de transmissão de *Cryptosporidium*, contudo, não são excluídas outras formas de transmissão humana. A infecção por *Cryptosporidium* pode provocar no Homem doença: a Criptosporidiose. Esta manifesta-se, principalmente, através de sintomas gastrointestinais, como diarreia, náuseas e vômitos ou de forma menos frequente com sintomas extraintestinais.

Apesar de existir uma maior prevalência da infecção por *Cryptosporidium* em países mais carenciados, o parasita é ubíquo, pelo que é encontrado um pouco por todo o mundo.

O estado imunitário e nutricional dos doentes, está associado à severidade e evolução da doença. Deste modo, doentes imunodeprimidos, crianças e idosos, são considerados grupos de risco, apresentando sintomas mais severos. Contrariamente, em indivíduos saudáveis, a infecção apresenta-se de forma mais ligeira ou até assintomática. Nestes, nem sempre é preciso intervir a nível terapêutico, uma vez que os sintomas tendem a resolver-se espontaneamente. Por outro lado, doentes imunodeprimidos, crianças e idosos carecem, algumas vezes, de uma intervenção terapêutica e de medidas mais específicas para o controlo da doença. Lamentavelmente, na atualidade ainda não existe um tratamento específico completamente eficaz para a criptosporidiose, ainda que tenham sido testados ao longo dos últimos anos fármacos que demonstram alguma atividade contra *Cryptosporidium*.

**Palavras-chave:** Criptosporidiose, *Cryptosporidium*, infecção, diarreia.



## **Abstract**

*Cryptosporidium* is a parasite of the Apicomplexa phylum able to infect the host epithelial cells. Its resilience to different means allows the survival in the environment for long periods, infecting new hosts. This parasite is transmitted through ingestion of oocysts by fecal-oral route. The water route is one of the main forms of transmission of *Cryptosporidium*. However, are not excluded other forms of transmission to humans. Infection by *Cryptosporidium* can cause disease: the Cryptosporidiosis. This disease is mainly manifested by gastrointestinal symptoms such as diarrhoea, nausea and vomiting or, less frequently, with extra-intestinal manifestations.

Despite a higher prevalence of *Cryptosporidium* infection in poorer countries, the parasite is ubiquitous, and it is found all over the world.

The immune and nutritional status of patients is associated with the severity and progression of the disease. Thus, immunocompromised patients, the children and the elderly, are considered high-risk groups, and have more severe symptoms. On the other hand, in healthy individuals, the infection is presented in a slight form or even asymptomatic. Regarding this it is not always necessary to intervene on a therapeutic level, since the symptoms tend to settle spontaneously. Furthermore, immunocompromised patients, the children and the elderly, often lack a therapeutic intervention and more specific measures to control the disease. Unfortunately, at present, there is no specific and completely effective treatment for cryptosporidiosis even that, over the past few years, several drugs have been tested that demonstrated some activity against *Cryptosporidium*.

**Keywords:** Cryptosporidiosis, *Cryptosporidium*, infection, diarrhoea.



## Índice Geral

<b>Índice de Figuras .....</b>	<b>13</b>
<b>Índice de Tabelas .....</b>	<b>13</b>
<b>Lista de Abreviaturas.....</b>	<b>15</b>
<b>1 - Introdução.....</b>	<b>17</b>
<b>2 - Desenvolvimento.....</b>	<b>21</b>
2.1 - Parasita .....	21
2.1.1 - Perspetiva Histórica .....	21
2.1.2 - Taxonomia.....	22
2.1.3 - Morfologia.....	25
2.1.4 - Ciclo de Vida.....	26
2.1.5 - Transmissão da Criptosporidiose .....	29
2.1.6 - Epidemiologia / Distribuição Geográfica.....	32
2.1.6.1 - Epidemiologia em Portugal.....	34
2.1.6.2 - Epidemiologia no Mundo.....	38
2.2 - Patogénese.....	46
2.2.1 - Ligação do Parasita à célula Hospedeira.....	48
2.2.2 - Resposta da célula do hospedeiro à infeção .....	51
2.3 - Infeção Humana: Manifestações Clínicas .....	53
2.3.1 - Manifestações Clínicas em Indivíduos Saudáveis .....	54
2.3.2 - Manifestações Clínicas em Crianças.....	55
2.3.3 - Manifestações Clínicas em Grávidas .....	57
2.3.4 - Manifestações Clínicas em Idosos .....	58
2.3.5 - Manifestações Clínicas em Indivíduos Malnutridos .....	59
2.3.6 - Manifestações Clínicas em Indivíduos imunodeprimidos.....	59
2.4 - Métodos de Detecção e Diagnóstico .....	63
2.5 - Tratamento Farmacológico .....	67
2.6 - Prevenção .....	71
2.7 - Resistência de <i>Cryptosporidium</i> spp.....	75
2.8 - Alterações Climáticas: consequências na doença parasitária.....	78
<b>3 - Conclusão .....</b>	<b>83</b>
<b>Bibliografia.....</b>	<b>87</b>



## **Índice de Figuras**

<b>Figura 1</b> - Representação esquemática da taxonomia de <i>Cryptosporidium</i> .....	23
<b>Figura 2</b> - Fase exógena do ciclo de vida de <i>Cryptosporidium</i> .....	27
<b>Figura 3</b> - Fase endógena do ciclo de vida de <i>Cryptosporidium</i> .....	29
<b>Figura 4</b> - Representação esquemática da transmissão de criptosporidiose humana. ...	30
<b>Figura 5</b> - Localização das cinco bacias hidrográficas no norte de Portugal .....	35
<b>Figura 6</b> - Rácio de casos de criptosporidiose confirmados por idade e sexo em 2011.	43
<b>Figura 7</b> - Fatores de virulência descritos no ciclo de vida de <i>Cryptosporidium</i> .....	49
<b>Figura 8</b> - Esquema da prevenção e controlo da criptosporidiose.....	72

## **Índice de tabelas**

<b>Tabela 1</b> - Espécies de <i>Cryptosporidium</i> e principais hospedeiros .....	24
<b>Tabela 2</b> - Dados de um estudo de surtos transmitidos por água de <i>C. parvum</i> .....	41
<b>Tabela 3</b> - Medidas profiláticas gerais da criptosporidiose. ....	73
<b>Tabela 4</b> - Medidas profiláticas da criptosporidiose em imunodeprimidos.....	74



## Lista de Abreviaturas

**ASTM** - *American Society for Testing and Materials*

**$\alpha$ -defensina** - alfa defensina

**$\beta$ -defensina** - beta defensina

**CDC** - *Centers for Disease Control and Prevention*

**DNA** - *Deoxyribonucleic acid*

**ELISA** - *Enzyme-linked immunosorbent assay*

*et al.* - e outros, da locução latina *et alii*

**EUA** - Estados Unidos da América

**FDA** - *Food and Drug Administration*

**FISH** – *Fluorescence in situ hybridization*

**g** - grama

**Gp** - glicoproteína

**HAART** - *Highly active antiretroviral therapy*

**HIV** - *Human Immunodeficiency Vírus*

**ICZN** - *International Commission of Zoological Nomenclature*

**INSA** - Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

**L** - litro

**mm<sup>3</sup>** - Milímetro cúbico

**mg** - miligrama

**OMS** - Organização Mundial de Saúde

**PCR** - *Polimerase Chain Reaction*

**pH** - símbolo do logaritmo decimal do potencial de hidrogénio de uma solução aquosa

**RNA** - *Ribonucleic acid*

**SIDA** - Síndrome da imunodeficiência adquirida

**TRAP** - *Tartrate resistant acid phosphatase*

**UE** - União Europeia

**$\mu$ m** - Micrómetro

**UV**- luz ultravioleta

Nota de Esclarecimento: Este trabalho segue as Normas do Novo Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa vigente a partir de janeiro de 2009.



## **1- Introdução**

As parasitoses intestinais constituem um importante problema de saúde pública a nível mundial. A sua ocorrência reflete desigualdades no desenvolvimento socioeconómico das regiões e das diferentes condições de vida da população. As precárias condições de vida associadas à ausência de saneamento básico favorecem as infeções parasitárias (Uecker, Copetti, Poleze e Flores, 2007). Muito embora as parasitoses estejam geralmente relacionadas a regiões sócio geográficas específicas, num mundo cada vez mais globalizado que é o nosso nos dias de hoje, a rotatividade de pessoas e bens favorece e potencializa a deslocação deste e de outros agentes infecciosos, retirando assim a “imunidade” a sociedades e a regiões geográficas particulares.

Esta disseminação parasitária facilitada, que põe em causa a saúde das populações, torna demasiado pertinente o estudo e o controlo destes movimentos e destas infeções (Uecker *et al.*, 2007).

Sendo *Cryptosporidium* considerado um parasita, cuja prevalência tem vindo a emergir significativamente ao longo dos últimos 30 anos em seres humanos e animais, pondo em causa a saúde pública, o seu estudo específico justifica a atenção da comunidade científica (Smith e Nichols, 2010).

*Cryptosporidium*, inicialmente descrito por Tyzzer em 1907, é um parasita do filo Apicomplexa que pertence ao grupo dos protozoários intracelulares com capacidade de causar infeção nas células epiteliais (Fraser, Gomes Dias, Hrubá e Albu, 2013). Uma das principais características deste parasita é a sua resistência a diferentes meios e ambientes, conseguindo sobreviver por longos períodos num ambiente específico, dificultando a sua vigilância e controlo (Rose, Huffman e Gennaccaro, 2002).

A ingestão de ooquistos infetantes provoca infeção por *Cryptosporidium* e a consequente doença: a Criptosporidiose (Abubakar *et al.*, 2007). O seu período de incubação depende da combinação de fatores entre o parasita e o hospedeiro, podendo normalmente variar entre três a 12 dias (Chalmers e Katzer, 2013).

A infeção por *Cryptosporidium* pode afetar tanto animais como humanos. Contudo, o objeto deste trabalho está apenas direcionado para a infeção humana, razão pela qual será dada maior relevância às principais vias de transmissão no ser humano, bem como às principais espécies causadoras de criptosporidiose no Homem.

Verifica-se que a infeção por *Cryptosporidium* pode ser transmitida por diversas vias, entre as quais a transmissão zoonótica, a transmissão por vetores, a transmissão

antroponótica, a transmissão por via hídrica e a transmissão alimentar (Smith e Nichols, 2010).

A criptosporidiose é uma infeção humana maioritariamente causada pelas espécies *C. parvum* e *C. hominis* (Alves *et al.*, 2003). É caracterizada por influenciar, preferencialmente, o sistema gastrointestinal e por se manifestar através de gastroenterites, diarreia, náuseas e vômitos. Embora menos comuns, esta parasitose também pode apresentar sintomas como febre baixa, mialgias, cefaleias e anorexia, prevalecendo a sintomatologia entre três a 14 dias ainda que possa, excecionalmente, perdurar mais tempo (Leav, Mackay e Ward, 2003).

A seriedade e a evolução desta doença relaciona-se diretamente com o estado imunitário e nutricional do hospedeiro e ainda, com o tipo de espécie infetante em causa (Chalmers e Davies, 2010; Fraser e Spiteri, 2011). Desta forma, afeta sobretudo crianças, idosos, doentes imunodeprimidos, em particular seropositivos, ou outros doentes crónicos, não estando excluídos contudo, os indivíduos imunocompetentes.

Relativamente aos doentes com HIV e infetados por *Cryptosporidium*, estes podem apresentar diarreias aquosas, por vezes acompanhadas, em casos mais graves, de cólicas, perda de peso, anorexia, mal-estar e febre baixa (Kurniawan *et al.*, 2013).

A criptosporidiose é uma doença ubiqüitária, estando descrita em mais de 90 países por todo o mundo (Silveira, 2009; Xiao, 2010; Utaaker e Robertson, 2014). No entanto, existe uma maior prevalência da doença em países tropicais e em desenvolvimento (Lal, Baker, Hales e French, 2013). Apesar desta doença afetar todo o tipo de pessoas e estar espalhada pelos quatro continentes já há vários anos, ainda não existe um tratamento totalmente eficaz para combater esta parasitose. A terapêutica específica com medicação nem sempre é necessária, uma vez que em doentes saudáveis, os sintomas tendem a ser autolimitados. Por outro lado, em doentes onde a doença se manifesta de forma mais severa, pode ser necessário recorrer à administração de antidiarreicos em simultâneo com terapia de suporte, hidratando e repondo os níveis de fluídos e eletrólitos (Benson, E.K., Masur, Pau, e Holmes, 2004).

Ao longo dos últimos anos, certos fármacos têm demonstrado alguma atividade contra *Cryptosporidium*, destacando-se: a Nitazoxanida, a Paromicina, a HAART, entre outros (Ramirez, Ward, e Sreevatsan, 2004).

Relativamente ao objetivo desta monografia, tal como o seu título indica, pretende-se aferir o panorama global da epidemiologia da criptosporidiose humana em Portugal e no resto do Mundo.

Constata-se pois que *Cryptosporidium*, está presente em 80 a 97% das águas superficiais e em 26 a 54% das águas tratadas, reforçando tratar-se de um problema de saúde a nível mundial (Pereira *et al.*, 2009; Silveira, 2009).

A metodologia usada na pesquisa de informação para a realização da monografia consistiu na utilização de bancos de dados bibliográficos, como por exemplo o PubMed. A pesquisa foi realizada em, aproximadamente, 100 artigos datados entre 1986 e 2014.



## **2- Desenvolvimento**

### **2.1- Parasita**

#### **2.1.1- Perspetiva Histórica**

A história deste parasita, *Cryptosporidium* spp., começa a contar-se desde o início do século XX. A sua primeira referência foi conhecida em 1907, quando o médico especialista em parasitologia Ernest Tyzzer reportou o parasita numa experiência laboratorial de um murganho. A par desta primeira descoberta, Tyzzer identificou igualmente a espécie *Cryptosporidium muris* em células gástricas do mesmo animal. Mais tarde, publicou de forma detalhada e descritiva o ciclo biológico do parasita e a sua fixação ao intestino delgado (Ramirez *et al.*, 2004; Xiao, Fayer, Ryan, e Upton, 2004; Pereira *et al.*, 2009).

Em 1912, este especialista em parasitologia, durante um estudo no intestino de um murganho, observou as diferentes formas parasitárias de *Cryptosporidium*, denominando-o então de *C. parvum* (Fayer, 2010). Apesar da identificação precoce desta espécie, só posteriormente é considerada como um agente com potencial patogénico para o ser humano (O'Hara e Chen, 2011).

A relação etiológica parasita-doença foi descrita por Slavin em 1955, quando este identificou sintomas gastrointestinais em perús causados por *Cryptosporidium* (Ramirez *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2009).

Em 1976, foram relatados os primeiros casos de infeção por *Cryptosporidium* no ser humano, em doentes que manifestavam diarreia severa (Bouzig, Hunter, Chalmers e Tyler, 2013).

A importância e valorização da criptosporidiose deu-se com o aparecimento da SIDA nos anos 80 e, desde então que *Cryptosporidium* é considerado por muitos como um agente patogénico para o ser humano (Maura e Franco, 2007). Consequentemente, o parasita foi incluído na lista de organismos a serem pesquisados em água potável, pela Agência de Proteção Ambiental Americana.

Em 1984, foi evidenciado o primeiro surto de criptosporidiose em humanos. Este surgiu no Texas, EUA, por contaminação da água de um poço que abastecia a comunidade local, sendo reportados 2.006 casos de gastroenterite (Maura e Franco, 2007).

Apesar da entrada deste protozoário na lista suprarreferida, nos anos 80, somente na década seguinte, mais especificamente em 1993, é que a saúde pública norte-americana despertou para esta doença, na sequência de uma grande epidemia em Milwaukee. Foram contaminados por ingestão de água potável com ooquistos de *Cryptosporidium*, cerca de 403.000 indivíduos (Hoxie, Davis, Vergeront, Nashold e Blair, 1997).

Após esta epidemia nos EUA, ficou comprovada a distribuição e o potencial zoonótico de *Cryptosporidium*, tornando-o reconhecido mundialmente como um parasita a ser encarado e investigado de forma séria, assim como dos mais difíceis patogénicos de controlar na água (Ramirez *et al.*, 2004; O'Hara e Chen, 2011).

É deste modo que a criptosporidiose passa a ser considerada como uma parasitose emergente, incluída na lista de doenças negligenciadas da OMS (Lal *et al.*, 2013). É atualmente observada como uma questão séria para a saúde pública, sendo fundamental conhecer e abordar os temas, fatores e aspetos inerentes ao parasita, bem como saber qual a sua relação com o hospedeiro e quais as manifestações que pode provocar no ser humano (Chalmers e Davies, 2010).

### **2.1.2 - Taxonomia**

A classificação parasitária tem em conta regras precisas e rigorosas, sendo o cumprimento de determinados requisitos mínimos, uma exigência para a inclusão de novas espécies do género *Cryptosporidium*. Assim, as normas que regem a aplicação de nomes científicos para todos os organismos que são considerados animais, bem como a família a que pertencem, onde se inclui as espécies de *Cryptosporidium*, são publicados no ICZN. As “guidelines”, juntamente com os dados publicados no ICZN, ajudarão a dar nome às espécies de *Cryptosporidium* (Fayer, 2010).

De acordo com Fayer (2010), o rigor e a exigência do cumprimento destas normas permitem assegurar corretamente a taxonomia das espécies de *Cryptosporidium*. Por outro lado, esta objetividade revela-se igualmente bastante vantajosa do ponto de vista científico, assim como numa perspetiva de segurança e higiene para a saúde pública e para o ambiente.

Não obstante o cumprimento das regras internacionais, a tecnologia “caminha” em paralelo com a ciência, sendo por isso natural e frequente que a comunidade científica altere e aplique novos requisitos e critérios ao longo do tempo (Microbiologia

Médica, 2014). Um bom exemplo a considerar é a área da biologia molecular que tem contribuído para novos avanços sobre a taxonomia de *Cryptosporidium* (Kourenti, Karanis, e Smith, 2007).

As características frequentemente usadas na identificação do nome das espécies do filo Apicomplexa, têm sido baseadas na especificidade do hospedeiro e na morfologia dos ooquistos nas várias etapas, sejam estas endógenas ou exógenas (Fayer, 2010).

Relativamente ao género *Cryptosporidium*, inclui parasitas que estão agrupados no Reino Protozoa, como tal, são seres unicelulares com uma dimensão variável (Microbiologia Médica, 2014).

*Cryptosporidium* é um protozoário que pertence ao filo Apicomplexa, o único Coccidium da família Cryptosporidiidae. Este parasita pertence à classe Sporozoea e subclasse Coccidia, da ordem Eucoccidiida e subordem Eimeriina, como se pode observar na figura seguinte (Chalmers e Katzer, 2013).

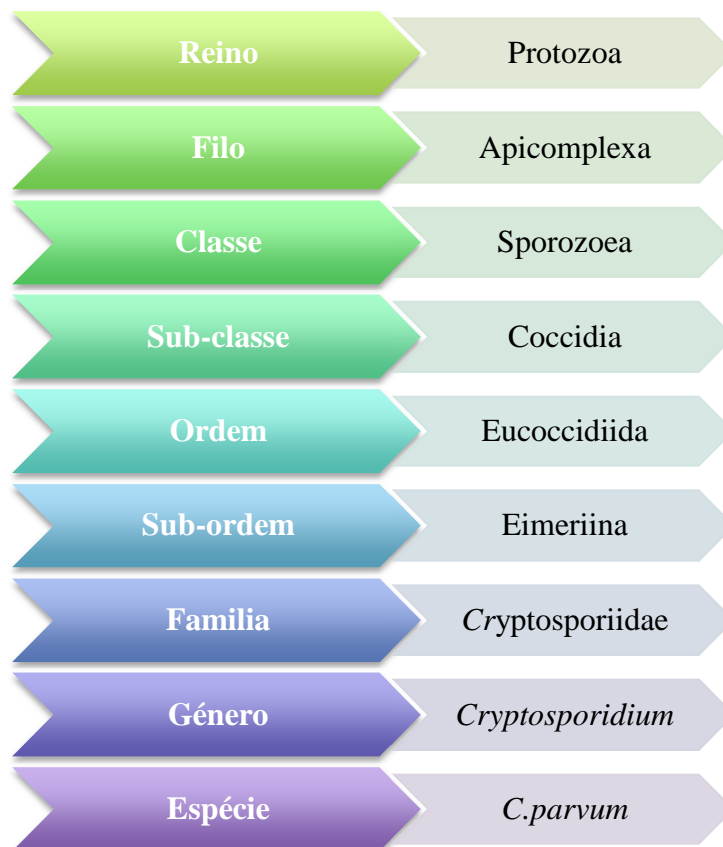


Figura 1 - Representação esquemática da taxonomia de *Cryptosporidium*. (Adaptado de Chalmers e Katzer, 2013; Microbiologia Médica, 2014)

De acordo com Pereira *et al.* (2009), o género *Cryptosporidium* tem 21 espécies e cerca de 40 genótipos associados. A variabilidade de hospedeiros que usa, demonstra a sua capacidade de sobrevivência e resistência a diferentes meios e ambientes.

Na tabela seguinte podem observar-se algumas destas espécies, bem como os seus respetivos hospedeiros.

Tabela 1 - Espécies de *Cryptosporidium* e principais hospedeiros. (Adaptado de Pereira *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2014)

<b>Espécies de <i>Cryptosporidium</i></b>	<b>Principais Hospedeiros</b>
<i>Cryptosporidium andersoni</i>	Bovinos, camelos
<i>Cryptosporidium baileyi</i>	Aves
<i>Cryptosporidium bovis</i>	Bovinos
<i>Cryptosporidium canis</i>	Cães
<i>Cryptosporidium fragile</i>	Anfíbios
<i>Cryptosporidium felis</i>	Gatos
<i>Cryptosporidium gali</i>	Aves
<b><i>Cryptosporidium hominis</i></b>	<b>Humanos</b> , macacos
<b><i>Cryptosporidium meleagridis</i></b>	<b>Humanos</b> , perus
<i>Cryptosporidium molnari</i>	Peixes
<i>Cryptosporidium muris</i>	Roedores
<b><i>Cryptosporidium parvum</i></b>	<b>Humanos</b> , bovinos, outros ruminantes
<i>Cryptosporidium suis</i>	Suínos
<i>Cryptosporidium ubiquitum</i>	<b>Humanos</b> , ovelhas, cabras, esquilos

Como se pode observar acima, os parasitas do género *Cryptosporidium* utilizam o ser humano como hospedeiro, em particular as espécies *C. parvum* e *C. hominis*, sendo esta última, a primeira espécie identificada como sendo patogénica para o Homem. Para além destas duas espécies, também outras têm sido identificadas em humanos, entre as quais: *Cryptosporidium meleagridis*, *C. felis* e *C. canis* (Maura e Franco, 2007; Júlio e Oleastro, 2014).

As técnicas moleculares, juntamente com uma adequada identificação morfológica e biológica de *Cryptosporidium*, permitiram também evidenciar cerca de 12 espécies que utilizam os mamíferos como hospedeiros: *C. muris*, *C. parvum*, *C.*

wrairi, *C. felis*, *C. andersoni*, *C. canis*, *C. bovis*, *C. hominis*, *C. fayeri*, *C. ryanae*, *C. macropodum* e *C. suis* (André Almeida *et al.*, 2010; Fayer, 2010).

Em suma, para a ciência proceder à identificação de novas espécies, é necessário reconhecer e cumprir os seguintes requisitos:

- As características morfológicas do ooquisto;
- A caracterização biológica do parasita;
- O tipo de hospedeiro natural e experimental;
- O diagnóstico diferencial;
- A caracterização genética;
- A conformidade com o ICZN.

Só assim se conseguirão introduzir novas espécies de *Cryptosporidium* (Chalmers e Katzer, 2013).

### 2.1.3- Morfologia

*Cryptosporidium* spp. é um organismo unicelular eucariota, característica inerente aos microrganismos pertencentes ao Reino Protozoa, sendo o seu tamanho variável consoante a espécie.

Este protozoário tem no seu citoplasma um conjunto de organitos celulares, como o retículo endoplasmático, o aparelho de golgi, os ribossomas, o vacúolo e as mitocôndrias, estando o citoplasma envolvido por uma membrana (Microbiologia Médica, 2014; Utaaker e Robertson, 2014).

A fase do ciclo biológico determina a sua forma parasitária, podendo esta adquirir diferentes formas consoante a fase em que se encontra, de que são exemplo, as formas de resistência que infetam e contaminam o hospedeiro, como os ooquistos, e as formas vegetativas, denominadas de trofozoítos, com apenas um núcleo (Pereira *et al.*, 2009; Microbiologia Médica, 2014).

Morfologicamente, as formas de resistência podem conter um ou mais núcleos. Estas podem ser elípticas ou esféricas, com uma parede celular lisa ou dupla e com um diâmetro variável, alternando dos 4-6µm nas formas elípticas e dos 5-7µm nas formas esféricas, segundo apontam alguns estudos (Chalmers e Katzer, 2013).

Para além das formas de resistência, o parasita pode ter dois tipos de ooquistos: os de parede fina (20%) e os de parede grossa (80%). Os últimos são excretados nas fezes do hospedeiro, representando o estágio infetante do parasita.

No que diz respeito aos ooquistos de parede fina, estes têm a capacidade de enquistar endogenamente provocando auto-infeção. É este processo que contribui, frequentemente, para a elevada persistência da infeção em doentes imunodeprimidos, cuja infeção se verifica mesmo sem exposição a ooquistos exógenos (Ramirez *et al.*, 2004).

No interior dos ooquistos, existem quatro esporozoítos e um corpo residual. Os ooquistos, uma vez no hospedeiro libertam os esporozoítos que invadem as células intestinais onde se dividem ativamente dando origem aos merontes (com merozoítos). Quando o meronte rebenta, os merozoítos infetam novas células intestinais. Por vezes, estes merozoítos sofrem algumas alterações morfológicas e funcionais e originam os gametócitos (gâmetas masculinos e femininos) (Pereira *et al.*, 2009).

*Cryptosporidium*, como Apicomplexa que é, não possui órgãos de locomoção, em vez disso tem organitos celulares que produzem substâncias que o auxiliam o parasita a penetrar na célula hospedeira (Microbiologia Média, 2014). Quando na forma de esporozoítos, possuem um complexo apical formado por organitos secretores (roptrias, mionemas e grânulos densos), com função importante na fixação e aderência às células epiteliais do intestino (Kothavade, 2011).

A resistência natural dos ooquistos é uma característica essencial à sua sobrevivência no meio ambiente. Esta aptidão para a sobrevivência a diferentes meios, está relacionada com a barreira protetora que reveste os ooquistos. Esta barreira de proteção bastante complexa e resistente, é composta por uma matriz de proteína, lípidos e hidratos de carbono (O'Hara e Chen, 2011).

#### **2.1.4- Ciclo de Vida**

O ciclo de vida do parasita *Cryptosporidium* tem sido descrito e ilustrado detalhadamente por alguns autores (Chalmers e Davies, 2010), sendo este considerado monoxénico, pois ocorre completamente no trato gastrointestinal de um único hospedeiro (Chiuchetta, 2010).

Segundo Bouzid *et al.* (2013), o ciclo de vida deste parasita é definido por algumas etapas principais como a desenquistação, a merogonia, a gametogonia, a fecundação e por fim esporogonia. Na fecundação, inclui-se a reprodução assexuada e sexuada nos enterócitos da mucosa intestinal da célula hospedeira (André Almeida *et al.*, 2010).

O tempo do ciclo biológico de *Cryptosporidium* varia de acordo com o hospedeiro e espécie mas, normalmente, completa-se entre as 12 e as 14 horas (Pereira *et al.*, 2009; Chalmers e Davies, 2010; O’Hara e Chen, 2011).

O ciclo inicia-se quando um novo hospedeiro ingere ooquistos infantantes, como se pode observar na figura abaixo. Após a sua ingestão, estes desenquistam maioritariamente no trato gastrointestinal, libertando, então, quatro esporozoítos infantantes através de uma sutura na parede do ooquisto.

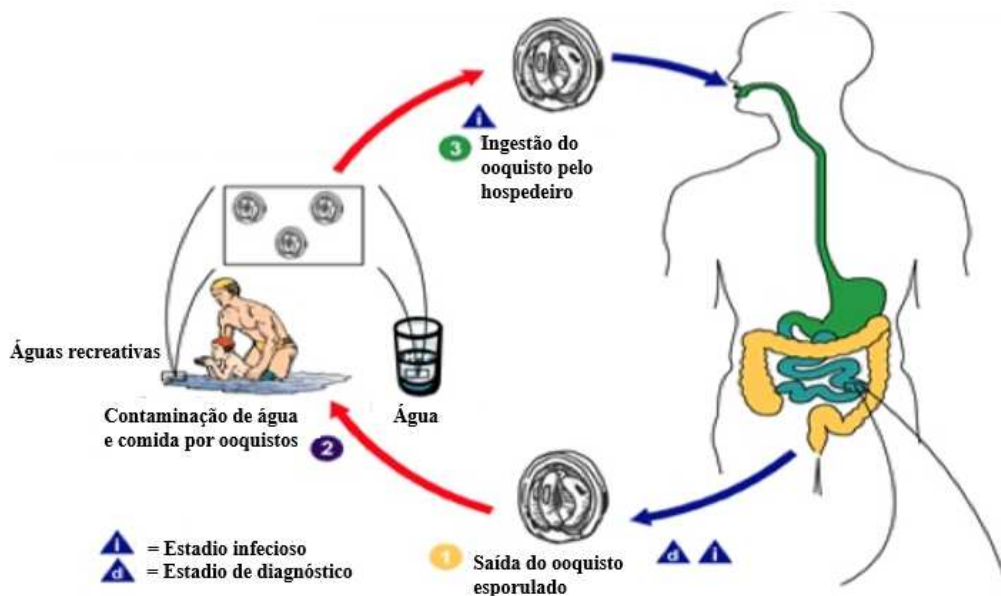


Figura 2 - Fase exógena do ciclo de vida de *Cryptosporidium*. (Adaptado de Centers for Disease Prevention and Control, 2010)

Influenciam neste processo de desenquitação, fatores como o pH e a temperatura. Existem, também, outros estímulos capazes de provocar o mesmo efeito tais como os sais biliares, as enzimas pancreáticas, o dióxido de carbono e a tripsina (Pereira *et al.*, 2009; Chalmers e Davies, 2010; O’Hara e Chen, 2011).

De facto, a desenquitação depende muito dos fatores suprarreferidos, no entanto, uma outra possível variável neste processo poderão ser as moléculas que se associam aos esporozoítos, como é o caso das proteases, serina e cistina, ou da aminopeptidase (O’Hara e Chen, 2011).

Após a desenquitação, os esporozoítos ao penetrarem nas microvilosidades intestinais, normalmente no jejuno ou no íleo, são envolvidos por uma membrana celular do hospedeiro, formando um vacúolo parasitóforo. Este vacúolo é uma estrutura comum dos microrganismos do filo Apicomplexa (Pereira *et al.*, 2009; Chalmers e

Davies, 2010; O'Hara e Chen, 2011), que protege o parasita do ambiente intestinal e, simultaneamente, fornece nutrientes e energia ao mesmo (Bouزيد *et al.*, 2013).

O vacúolo confere ao parasita uma posição intracelular mas extracitoplasmática, passando a designar-se trofozoíto. Dentro do vacúolo parasitóforo, os trofozoítos dividir-se-ão assexuadamente por merogonia, gerando o meronte tipo I. A divisão celular resulta conseqüentemente na formação de células filhas. Dois tipos de merontes são desenvolvidos, os tipo I e os tipo II, sendo que ambos produzem merozoítos, que são morfológicamente semelhantes aos esporozoítos.

Os merontes tipo I uma vez maduros, libertam oito merozoítos que, por sua vez, invadem as células epiteliais e as células vizinhas, infetando-as. Os merozoítos tipo I podem formar outro meronte tipo I ou podem prosseguir o processo evolutivo da infeção e originar os merontes tipo II.

Os merontes tipo II contêm quatro merozoítos tipo II. Estes, iniciam a gametogonia, originando assim micro e macrogametócitos, gâmetas masculinos e femininos, respetivamente. Podem desenvolver até 16 microgâmetas no interior do microgametócito. Os microgametócitos tornam-se multinucleados e vão libertar microgâmetas livres para o lúmen que, ao penetrarem no vacúolo (fecundação), originam um zigoto, a única fase diplóide de desenvolvimento (Pereira *et al.*, 2009; Chalmers e Davies, 2010; O'Hara e Chen, 2011).

Após a fecundação, o zigoto diplóide sofre divisão meiótica (esporogonia), resultando duas divisões, dando assim origem a quatro esporozoítos dentro de um ooquisto esporulado. A formação da parede de proteção do ooquisto, é concluída quando o parasita está dentro do vacúolo parasitóforo. Os ooquistos resultantes deste processo, como já foi referido, podem ser de parede grossa ou fina (Borges, Alves, e Faustino, 2007). Estes últimos, enquistam no intestino num processo de auto infeção, contrariamente aos ooquistos de parede espessa que são eliminados nas fezes, aguardando nestas a ingestão por outro hospedeiro.

Desta forma, o ciclo de vida termina num único hospedeiro, ainda que o parasita esteja presente e de forma infeciosa nas fezes, pronto para ser transmitido a novo hospedeiro (Pereira *et al.*, 2009; Chalmers e Davies, 2010; O'Hara e Chen, 2011).

Na seguinte figura é possível observar, de forma esquemática, a fase endógena do ciclo biológico de *Cryptosporidium* spp.

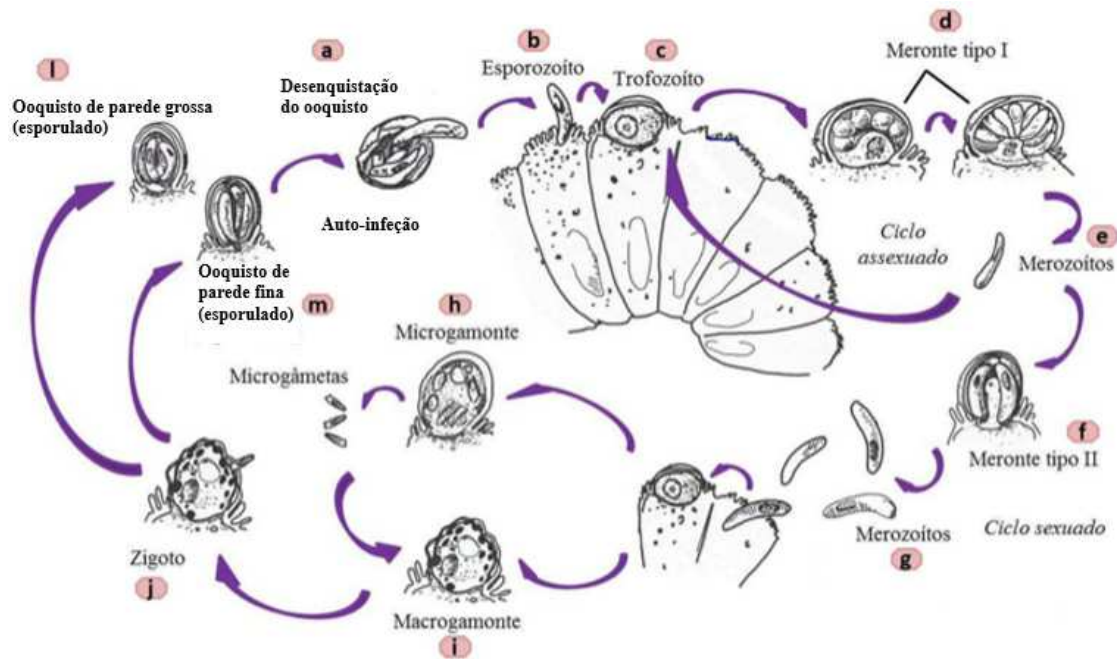


Figura 3 - Fase endógena do ciclo de vida de *Cryptosporidium*. Representação esquemática do ciclo de vida de *Cryptosporidium* com três etapas: Auto-infecção; Reprodução assexuada; Reprodução sexuada. (Adaptado de CDC, 2010)

### 2.1.5- Transmissão da Criptosporidiose

A infecção por *Cryptosporidium* é transmitida por via fecal-oral, quando há ingestão de ooquistos infetantes pelo hospedeiro. Assim, a transmissão acontece ciclicamente quando um hospedeiro infetado excreta ooquistos, que por sua vez serão ingeridos pelo próprio ou por outro indivíduo, passando este também a ser hospedeiro. De referir que, a contaminação pode ocorrer pela ingestão de ooquistos infetantes, mesmo que a dose ingerida seja muito baixa, quando comparada com outros microrganismos patogênicos (Weir *et al.*, 2011).

A transmissão pode ocorrer de forma direta ou indireta (Ramirez *et al.*, 2004). O contacto direto engloba a transmissão de pessoa para pessoa (transmissão antroponótica) ou por animal-pessoa (zoonótica). Contrariamente ao contacto indireto, que pode ser transmitido através de águas contaminadas (transmissão hídrica), através de alimentos contaminados (transmissão alimentar) ou por transporte de vetores (Xiao, 2009, 2010). Estas diferentes formas de transmissão estão esquematizadas na figura seguinte.

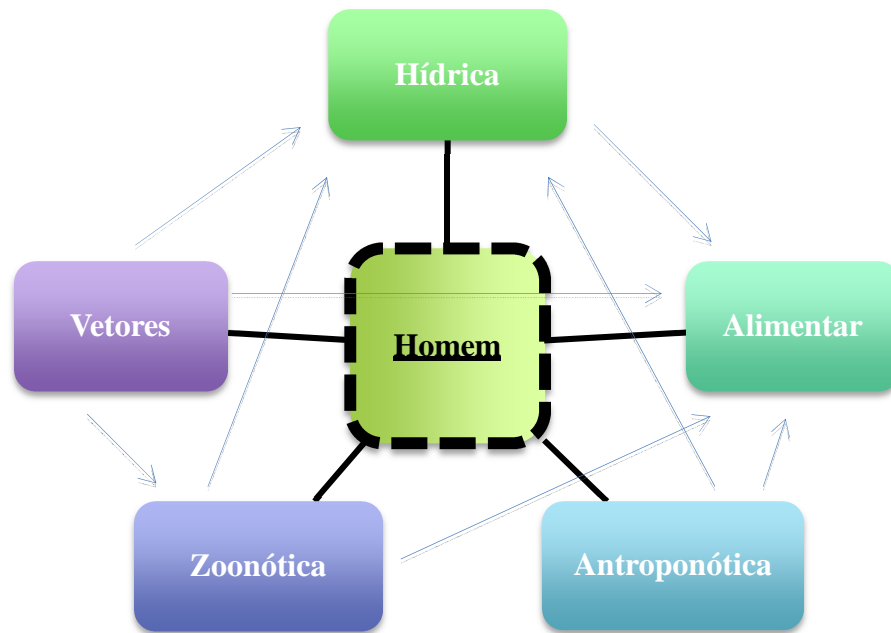


Figura 4 - Representação esquemática da transmissão de criptosporidiose humana.

No que diz respeito à transmissão hídrica, esta é considerada uma das principais vias de transmissão de *Cryptosporidium*, sendo o hospedeiro infetado através da ingestão de água contaminada com ooquistos infetantes.

O consumo de água contaminada pode ter várias origens, sendo as mais frequentes as águas de lagos, das piscinas, de lagoas, dos rios ou dos sistemas de abastecimento de água público e privado (Smith e Nichols, 2010). Tendo em conta que esta é uma das principais vias de transmissão de criptosporidiose humana, verificou-se que (Robertson e Chalmers, 2013):

- Os surtos de criptosporidiose por via hídrica, aumentaram cerca de 40% em relação aos que tinham sido notificados até 2010, nos EUA e Canadá;
- Dos 111 surtos notificados da Europa, 77% foram do Reino Unido.

A transmissão alimentar tem sido, igualmente, considerada como uma importante via de contágio de *Cryptosporidium*, sendo associada a casos de consumo de alimentos contaminados como o leite não pasteurizado, o marisco, os legumes, os vegetais, as águas com gelo e as frutas contaminadas (Hlavsa *et al.*, 2006; Smith e Nichols, 2010). Este tipo de contaminação acontece, principalmente, porque muitos destes alimentos são consumidos crus e mal lavados ou mesmo lavados com águas já contaminadas com ooquistos (Fayer, Morgan e Upton, 2000).

Por exemplo, num estudo realizado em outubro de 2003 em Ohio, foram investigados 12 indivíduos com criptosporidiose. Foi evidenciado que 11 tinham

ingerido um sumo de maçã de cidra não pasteurizado, duas semanas antes de aparecerem os sintomas. Assim, é expectável que os doentes tenham sido contaminados ao ingerir esta bebida. Sugere-se que o fracasso do desinfetante ozono possa ter estado na origem deste surto (Hlavsa *et al.*, 2006).

Também em Portugal, foi feito um estudo com várias espécies de bivalves, onde foi demonstrada a existência de ooquistos de *Cryptosporidium* spp., concluindo deste modo os autores, que estas espécies marinhas poderão ser um instrumento revelador da contaminação das águas (Melo *et al.*, 2006). Outros casos exemplificativos desta forma de transmissão, aconteceram na Costa Rica, onde o consumo de vegetais e frutas contaminadas provocaram criptosporidiose. Igualmente nos EUA e na UE verificou-se a infeção por consumo de marisco contaminado. Já na Índia, foi reportada infeção por *Cryptosporidium* devido ao consumo de carne. Deste modo, verifica-se a correlação entre alimentos contaminados por ooquistos e a criptosporidiose (Smith e Nichols, 2010).

Os vetores, também podem conduzir à infeção humana por *Cryptosporidium*, pois “transportam” os ooquistos facilitando a sua propagação no meio ambiente, ainda que de forma menos frequente. Exemplos de vetores protagonistas nesta disseminação, são entre outros as moscas, as baratas, os escaravelhos e os besouros (Graczyk, Knight e Tamang, 2005; Xiao, 2009). Os ooquistos de *C. parvum* presentes em fezes de bovinos ou em zonas pouco higiénicas, que podem ser transportados pelas moscas ilustram esta forma de transmissão (Graczyk *et al.*, 2005).

A infeção por *Cryptosporidium* em humanos, pode também resultar de uma transmissão zoonótica, proveniente de um contacto direto do Homem com animais infetados. Desta forma, os animais domésticos, bem como o gado bovino constituem uma das principais formas de transmissão. São também reportados, esporadicamente, alguns episódios deste tipo de transmissão nos cuidados veterinários (Ramirez *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2009; Chalmers e Davies, 2010).

Um dos mais recentes casos de transmissão zoonótica para os humanos, está relacionado com a espécie *C. ubiquitum*, que tem vindo a emergir nos últimos anos. De acordo com Li *et al.* (2014), *C. ubiquitum* é um parasita bastante ubíquo. Assim, devido à sua ampla distribuição, bem como à variedade de hospedeiros que utiliza, a infeção por *C. ubiquitum* é considerada uma preocupação para a saúde pública. Esta espécie tem sido frequentemente encontrada em ruminantes domésticos e selvagens, em ovelhas, esquilos, cabras (Li *et al.*, 2014).

No que diz respeito à transmissão antroponótica, esta ocorre diretamente de pessoa para pessoa. Este tipo de transmissão entre humanos, pode ocorrer por via fecal-oral ou sexual. Este é um tipo de transmissão, frequentemente encontrado em zonas urbanas como as escolas, as creches, os lares de idosos ou os hospitais. Um exemplo frequente, são os surtos ocorridos em creches, onde há contágio através das fraldas das crianças (Xiao *et al.*, 2004). A transmissão antroponótica, também ocorre com frequência em ambientes hospitalares, particularmente em casos de infeções nosocomiais ou entre profissionais de saúde e doentes (Graczyk *et al.*, 2005; Feng *et al.*, 2012).

Contudo, esta forma de transmissão também é característica em certos países menos desenvolvidos e mais carenciados, dado que nestes existem ambientes e zonas com deficientes cuidados de higiene e onde muitas vezes a criptosporidiose é endémica (Xiao, 2010). Também os indivíduos infetados através do consumo de água e alimentos contaminados ou por animais parasitados são considerados hospedeiros de uma transmissão antroponótica (Current e Garcia, 1991).

Alguns estudos apontam o comportamento sexual como um fator de risco associado à transmissão de criptosporidiose, nomeadamente entre indivíduos homossexuais do sexo masculino com HIV. De forma a evitar possíveis contaminações, foram apontadas, formas preventivas como a redução da prática de sexo anal desprotegida e a diminuição do número de parceiros sexuais (Wd *et al.*, 2008).

Ao longo do trabalho, as formas de transmissão da infeção por *Cryptosporidium* irão ser abordadas em associação com os vários estudos epidemiológicos.

### **2.1.6 - Epidemiologia / Distribuição Geográfica**

A epidemiologia define-se como “*o estudo da ocorrência, da distribuição dos acontecimentos, problemas e estados de saúde, em populações específicas e dos fatores determinantes, bem como a aplicação destes estudos ao controlo dos problemas de saúde*” (Microbiologia Médica, 2014).

*Cryptosporidium* spp. inclui parasitas que podem ser encontrados um pouco por todo o mundo, estando presente tanto nos países mais carenciados como nos países mais desenvolvidos (Microbiologia Médica, 2014).

De acordo com Lale *et al.* (2013) evidências como o parasita: concluir o ciclo de vida no hospedeiro, poder ser infetante mesmo em dose baixa, ter resistência

prolongada a diferentes meios e ambientes e ser transmitido através de água, alimentos ou fezes contaminadas, tornam a criptosporidiose uma verdadeira ameaça para a saúde pública.

Apesar de estarem identificadas várias espécies no ser humano, 90% dos casos de criptosporidiose são provocados essencialmente pelas espécies *C. parvum* e *C. hominis* (Bouzid *et al.*, 2013). Ambas têm a capacidade de infectar indivíduos saudáveis ou que tenham o sistema imunitário comprometido, sendo por isso as principais causadoras de surtos de veiculação hídrica de criptosporidiose dos últimos 30 anos (Maura e Franco, 2007).

Atualmente, a infecção por *Cryptosporidium* representa um problema emergente para a saúde pública, muito devido à sua resistência aos desinfetantes tradicionais como o cloro mas, também, devido à elevada presença e concentração de atividade humana em clubes recreativos, piscinas, lagos, ou a utilização de poços ou outras águas de abastecimento privado. Constata-se pois, que *Cryptosporidium* spp. está presente em 80-97% das águas superficiais e em 26-54% das águas tratadas, reforçando tratar-se de um problema de saúde a nível mundial (Pereira *et al.*, 2009; Silveira, 2009). Para além das águas contaminadas, o estrume muito usado na agricultura como fertilizante dos solos, pode constituir uma fonte de infecção humana após a ingestão de alimentos agrícolas contaminados com ooquistos (Ramirez *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2009; Chalmers e Davies, 2010).

De acordo com Kourenti *et al.* (2007), esta parasitose é muito associada aos turistas que viajam para o estrangeiro, sendo *Cryptosporidium* spp. um causador comum de diarreias em viajantes. Os indivíduos que viajam com regularidade, bem como os turistas, devem pois ter em conta o destino da viagem, o ponto de origem da mesma e a exposição a alimentos e águas contaminadas. O mesmo autor defende que a transmissão de microrganismos patogénicos é muito frequente através dos sistemas hídricos, considerando os fluxos de água como possíveis fontes potenciais de doença, para um elevado número de pessoas. Como tal e segundo Lobo *et al.* (2009), nos países desenvolvidos onde os sistemas de veiculação hídrica são altamente extensos e complexos, parasitas como *Cryptosporidium* têm um papel preponderante na influência de infeções humanas por transmissão de água contaminada. Deste modo e corroborando o autor anterior, muitos dos surtos de veiculação hídrica notificados estão associados a doenças transmitidas pela água, quer durante viagens ao estrangeiro, quer em períodos

de residência em áreas endémicas, onde a contaminação ambiental é abundante (Kourenti *et al.*, 2007).

A criptosporidiose causa sobretudo infeção em populações com um nível social e económico mais desfavorecido e em indivíduos com o sistema imunitário comprometido (Lal *et al.*, 2013). O panorama desta infeção em humanos, tem assim sido descrito a nível global, bem como no nosso país, que seguidamente será referido de uma forma mais concreta.

#### **2.1.6.1- Epidemiologia em Portugal**

Segundo Silveira (2009), em Portugal a criptosporidiose não é de notificação obrigatória, dificultando em muito o registo de surtos causados por *Cryptosporidium* spp. A ausência de notificação de casos desta parasitose em Portugal, constitui um obstáculo à quantificação e análise da ameaça do mesmo para a população portuguesa.

O primeiro surto de criptosporidiose descrito no nosso país, reporta-se a um infantário no Hospital de Santa Maria, no qual 27% das crianças e uma educadora de infância foram infetadas (Cristino, Isabel, Carvalho, e José Salgado, 1988).

Num estudo realizado no norte do nosso país, pretendeu-se avaliar o risco de infeção humana associada ao consumo de água, bem como, a prevalência e os níveis de concentração das formas ambientais de *Cryptosporidium* spp. em amostras de água potável. Um fator tido em conta, prendia-se com o facto de na zona geográfica em questão, existirem cinco grandes bacias hidrográficas que formam alguns dos recursos hídricos mais importantes do país, como se pode observar na figura seguinte (Andre Almeida, Joao, Soares, Delgado, e Figueiredo, 2010).

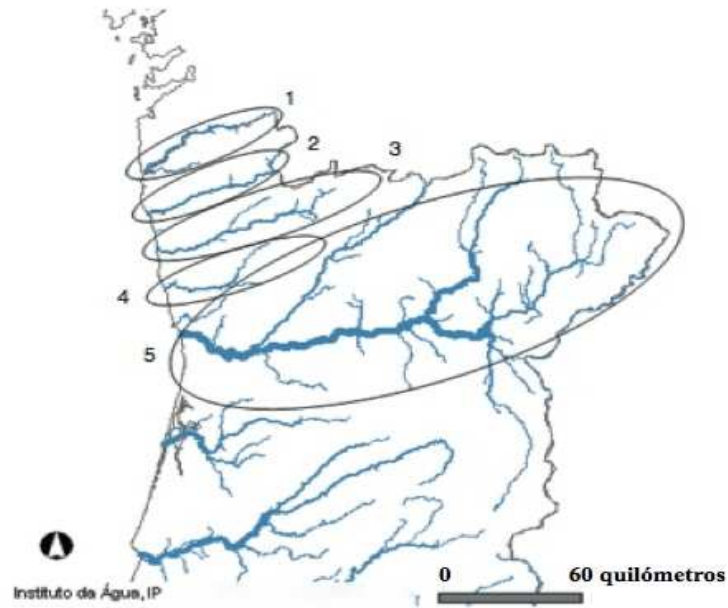


Figura 5 - Localização das cinco bacias hidrográficas no norte de Portugal: 1-Minho; 2- Lima; 3- Cávado; 4- Ave; 5- Lima. (Adaptado de André Almeida *et al.*, 2010)

De acordo com André Almeida *et al.* (2010), verificou-se neste estudo que cerca de 84% da população do norte têm acesso ao sistema de abastecimento de água e que esta comunidade nortenha e os seus habitantes usufruem com muita frequência de piscinas e praias fluviais. Como procedimento, foi realizada uma recolha, duas vezes por ano de amostras de água potável, entre janeiro de 2004 e Dezembro de 2006, em 43 pontos de amostragem nas estações de tratamento de água potável de todas as cinco bacias hidrográficas. Verificou-se nesta investigação que:

- 25,7% das amostras de água potável estavam contaminadas;
- 10,2% das amostras contaminadas estavam infetadas com ooquistos de *Cryptosporidium*;
- 7,2% das amostras contaminadas estavam infetadas com *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp.

Com estes resultados, pode afirmar-se e corroborando o autor, que os ooquistos de *Cryptosporidium* encontram-se distribuídos pelos rios do norte de Portugal em concentrações significativas (André Almeida *et al.*, 2010).

Apesar da grande maioria da população portuguesa ter acesso ao sistema de distribuição de água, existe ainda uma parte que é abastecida por água através de hábitos mais tradicionais, como os poços. Este tipo de captação de água e o preço

praticado pela rede pública são fatores que contribuem para que um terço da população nortenha possa estar exposta ao parasita (Andre Almeida *et al.*, 2010).

Num outro estudo realizado durante o verão e o inverno, em que foram recolhidas 19 amostras de água de praias fluviais, constatou-se a presença de ooquistos de *Cryptosporidium* em 70-74% das amostras. Os resultados deste estudo reforçam o anterior, demonstrando igualmente que as formas infetantes do parasita estão amplamente distribuídas nas praias fluviais de Portugal (Júlio *et al.*, 2010).

Foi estudado, também, um conjunto de doentes que apresentava sintomas gastrointestinais. Os resultados da análise das amostras fecais destes doentes evidenciaram que:

- 88,7% dos indivíduos estavam infetados por um parasita;
- 27% dos indivíduos estavam infetados por *Cryptosporidium* spp.;
- Houve uma incidência de criptosporidiose na região da grande Lisboa de 20,6% dos 88,7%;
- Houve maior frequência de *Cryptosporidium* spp em crianças (22,2%) do que em adultos (4,8%).

Com este estudo, torna-se evidente que a infeção por *Cryptosporidium* em Portugal é uma realidade, requerendo especial atenção em crianças (Júlio e Oleastro, 2014).

A gastroenterite é um dos principais efeitos de criptosporidiose em humanos, sendo motivo para investigação em crianças internadas na área de Lisboa (Escobar *et al.*, 2012). Verificaram-se igualmente algumas complicações em doentes infetados por *Cryptosporidium* spp. Nesta investigação, analisaram-se um total de 140 amostras de crianças com gastroenterite aguda verificando-se que:

- 27,9% das crianças estavam infetadas por parasitas;
- 5% das crianças com infeção parasitária, estavam contaminadas por *Cryptosporidium* spp.;
- Existiram complicações, como desidratação grave com insuficiência renal em três casos;
- Nenhuma criança era imunodeprimida pelo que os sintomas diarreicos foram autolimitados com baixa taxa de desidratação, à exceção dos três casos referidos.

Segundo Escobar *et al.* (2012) estas parasitoses em Portugal podem resultar de surtos decorrentes da ingestão de água, de alimentos contaminados ou ainda, devido à transmissão de ooquistos às crianças em creches escolares.

Foi realizado um estudo com o objetivo de verificar a presença de *Cryptosporidium* em águas superficiais e subterrâneas tratadas e não tratadas em Portugal. Foram analisadas 175 amostras sendo que (Lobo *et al.*, 2009):

- 46,3% estavam contaminadas com *Cryptosporidium*;
- Nas águas tratadas, a percentagem de ooquistos viáveis detetados foi de 26,4%;
- Nas águas não tratadas a percentagem de ooquistos viáveis foi 34,8%;
- 29,7% dos ooquistos totais detetados de *Cryptosporidium* eram viáveis.

Salientam-se algumas das espécies detetadas em grande número:

- *C. parvum*, *C. hominis*;
- Subtipo IdA15 de *C. hominis*, identificado em muitas amostras de água e que já havia sido descrito em Portugal em doentes com SIDA;
- *C. muris*, em amostras de água, sugerindo contaminação animal por roedores;
- *C. andersoni*, em amostra de água, sugerindo contaminação animal pelo gado.

Segundo Lobo *et al.* (2009), a presença de parasitas nas águas subterrâneas pode, efetivamente, dever-se a contaminações no abastecimento de água através de chuvas, resíduos, poluição humana, agrícola e industrial. A forte atividade industrial, aproximadamente 45 fábricas de curtumes na região em estudo, pode ter contribuído para a contaminação deste tipo de águas, já que é uma das principais fontes de poluição dos rios da região.

Noutro estudo realizado, verificou-se que os bivalves presentes nas bacias do rio Tejo e Guadiana, podem constituir uma fonte de infeção humana. Assim, têm sido evidenciados moluscos contaminados com ooquistos de *Cryptosporidium* nas águas doces destes rios (Melo *et al.*, 2006).

Outros casos de criptosporidiose no norte de Portugal têm suscitado interesse, como a presença de *C. parvum* em bovinos e em indivíduos com o sistema imunitário deprimido. Relativamente à espécie *C. hominis*, existem relatos que dão conta da sua deteção em amostras de água e fezes humanas (André Almeida *et al.*, 2010).

A criptosporidiose também já foi descrita em indivíduos com HIV. Num estudo realizado no Hospital de Santa Maria, entre 1988 e 1997, verificou-se que em 465 pessoas com diarreia e infetadas por HIV, 8% apresentavam igualmente infeção por *Cryptosporidium* (Delgado *et al.*, 2003). Ainda neste tipo de doentes, de acordo com Cama *et al.* (2007) o subtipo Ib foi predominante em Portugal em doentes com HIV.

Desta forma, afigura-se importante começar a “olhar” para a criptosporidiose como um problema que afeta a saúde pública portuguesa, em particular a do norte e que é emergente a nível mundial (Lobo *et al.*, 2009; Andre Almeida *et al.*, 2010).

A monitorização de água potável, o controlo e a notificação dos casos de criptosporidiose são essenciais para se conseguir avaliar corretamente o risco da doença em Portugal. Como tal, a implementação de normas, notificações e a existência de um programa nacional de monitorização da qualidade microbiológica da água potável, seriam passos fundamentais a serem tomados, permitindo aumentar o nível de informação epidemiológica disponível, assim como, também possibilitaria a implementação de modelos de análise de risco (André Almeida *et al.*, 2010).

De um modo geral, o panorama em Portugal da infeção por *Cryptosporidium* spp., demonstra que este está amplamente distribuído nas águas do país, evidenciando-se a presença de estágios infecciosos com concentrações significativas nos rios no norte de Portugal (Lobo *et al.*, 2009; Andre Almeida *et al.*, 2010). De acordo com Lobo *et al.* (2009) a água potável é considerada um veículo a ter em conta na transmissão deste parasita em animais e em humanos, como tal a presença destes parasitas patogénicos constitui uma ameaça e um risco sobretudo para crianças, idosos, grávidas e indivíduos imunodeprimidos.

#### **2.1.6.2 - Epidemiologia no Mundo**

A criptosporidiose humana ocorre em todo o mundo. Os estudos publicados fornecem-nos indicações de que a criptosporidiose se encontra presente em cerca de 90 países e em todos os continentes, exceto na Antártida (Silveira, 2009; Utaaker e Robertson, 2014).

Embora seja uma parasitose largamente distribuída a nível global, tem tendência a estar mais associada a países onde o clima é temperado e tropical (Lal *et al.*, 2013).

Sendo a criptosporidiose uma doença maioritariamente com efeitos gastrointestinais, é importante referir que, por ano, morrem 1.8 milhões de pessoas por doença gastrointestinal e que são essencialmente crianças (Sampaio, 2011).

A resistência natural de *Cryptosporidium*, associada a baixas condições sanitárias, assim como, a relação próxima do ser humano com animais, torna mais elevada a prevalência e incidência de criptosporidiose nos países em desenvolvimento (Delgado *et al.*, 2003). Nestes países mais carenciados, 20% dos casos de diarreia infantil são causados por *Cryptosporidium* (Nynke Hofstra, Bouwman, Beusen e Medema, 2013).

Por outro lado, a prevalência e a incidência da criptosporidiose, nos países desenvolvidos, não é tão acentuada, em muito devido às boas condições higiénicas e sanitárias, ainda que, seja igualmente difícil evitar a contaminação por via hídrica (Delgado *et al.*, 2003).

Como foi referido anteriormente, as espécies *C. hominis* e *C. parvum* são as principais responsáveis por criptosporidiose humana, sendo a primeira mais prevalente em países em desenvolvimento do que *C. parvum* (Feng, Li, Duan, e Xiao, 2009). No entanto, a última tem sido considerada como um dos maiores contaminantes de água de consumo humano do mundo (Regina, Pereira e Ferreira, 2010).

A transmissão de ooquistos de *Cryptosporidium*, pelos sistemas de abastecimento de água público, representa um sério risco para a saúde pública, essencialmente para indivíduos imunodeprimidos, crianças e idosos (Sampaio, 2011). Refira-se que a maioria dos surtos de criptosporidiose que ocorreram entre 1986 e 2002, foram devido, precisamente, à contaminação de águas de piscina, sendo o parasita transmitido através das fezes de crianças que as frequentavam (Maura e Franco, 2007).

No que diz respeito aos casos existentes e notificados nos EUA, as estatísticas dos surtos relacionados com águas contaminadas estão disponíveis desde muito cedo, devido à cooperação de instituições como a CDC ou a ESEPA, no sentido de haver um maior e mais rigoroso controlo e vigilância da ocorrência e da causa deste tipo de doenças (Kourenti *et al.*, 2007).

Um dos maiores surtos provocados por este parasita ocorreu em Milwaukee em 1993, após as chuvas de primavera, em que cerca de 403 mil pessoas sofreram de manifestações diarreicas e, mais de 100 indivíduos acabaram por falecer (Nynke Hofstra *et al.*, 2013). Já o segundo maior surto registado, ocorreu em 1987 na Geórgia, quando o parasita afetou cerca de 13.000 indivíduos (Maura e Franco, 2007).

A distribuição de *Cryptosporidium* nos EUA tem-se verificado em 80-97% das águas superficiais, incluindo rios, lagoas e lagos segundo Ramirez *et al.* (2004). Já a sua prevalência, situa-se entre 1-3% na população, bem menor comparativamente aos países menos desenvolvidos onde esta prevalência é de 5-10%, equivalente à ocorrência de cerca de 750 mil casos por ano, segundo alguns estudos (Vadlamudi, Maclin, Dimmitt, e Thame, 2013).

Lale *et al.* (2013), refere que no Texas, fatores como o envelhecimento, a pobreza e o difícil acesso aos serviços de saúde, mais característicos nesta região norte americana, têm influência na infeção por *Cryptosporidium*, aumentando o risco de contrair a doença.

De acordo com Lobo *et al.* (2009), têm sido identificados alguns génotipos do parasita em Nova Iorque. Pensa-se que esta diversidade possa estar relacionada com as chuvas intensas ocorridas semanas antes de terem sido recolhidas as amostras. Mas apesar do surgimento destes génotipos, verificou-se que os mesmos não eram considerados patogénicos para o ser humano.

Por outro lado, e segundo o mesmo autor, foi evidenciada a presença frequente das espécies patogénicas *C. parvum*, *C. hominis* e *C. andersoni*, em amostras recolhidas em água de rios dos EUA, assim como da Europa.

De acordo com Kourenti *et al.* (2007), *Cryptosporidium* é considerado uma das grandes ameaças para a indústria que está envolvida com a água, pois a sua elevada resistência e sobrevivência neste ambiente, desafia os tradicionais processos do seu tratamento, sendo o seu aperfeiçoamento uma pertinente necessidade.

Neste sentido, países como o Reino Unido, onde o número de casos de criptosporidiose antes de 2000 era significativo, adotaram novas medidas cujo objetivo foi otimizar e remover partículas dos sistemas de tratamento de águas, diminuindo, deste modo, a presença do parasita na água potável. A diminuição significativa da prevalência da criptosporidiose nestes países nos últimos anos, foi também uma consequência das alterações regulamentares introduzidas e da qualidade de água potável (Bezirtzoglou, Dekas e Charvalos, 2011; Semenza *et al.*, 2012a).

Num estudo epidemiológico, pretendeu-se averiguar os surtos de *C. parvum* transmitidos por água, registando-se 325 surtos associados a protozoários patogénicos. Foi possível concluir que 52,6% dos surtos ocorreram nos EUA e 32,6% na UE (Kourenti *et al.*, 2007). Na tabela seguinte estão evidenciados alguns dados do mesmo

estudo, nos quais se pode observar as possíveis fontes de transmissão de água por parte de *C. parvum*.

Tabela 2 - Dados de um estudo de surtos transmitidos por água de *C. parvum*. (Adaptado de Kourenti, Karanis e Smith, 2007)

<b>Causa suspeita</b>	<b><i>Cryptosporidium parvum</i></b>
Piscinas de natação	50,3%
Várias causas	10,9%
Ingestão de água contaminada	10,9%
Água contaminada (rios, lagos)	10,3%
Sistemas de tratamento e distribuição de águas deficientes	6,1%
Sistemas de água contaminadas (privados, comunitários)	3,6%
Causas desconhecidas	3,6%
Associações de residência com viajantes	3%
Uso de água superficial não tratada	0,6%
Uso de água subterrânea não tratada	0,6%

Como se pode verificar, a principal causa de surtos foi a água contaminada das piscinas. Esta elevada percentagem pode sugerir a contaminação de ooquistos provenientes das muitas dejeções acidentais de crianças ou de um tratamento da água ineficaz e desadequado. Assim, é importante que os tratamentos de água funcionem de forma íntegra, isto é, que seja construído um sistema de filtragem e usados desinfetantes adequados de acordo com os microrganismos em questão, evitando a presença de parasitas como *C. parvum* e, conseqüentemente, possíveis contaminações (Kourenti *et al.*, 2007).

Relativamente à UE, segundo Silveira (2009), os casos de criptosporidiose têm sido uma constante. Segundo um estudo entre 2004 e 2009, ocorreram dois casos por cada 100.000 pessoas e no ano de 2009 a prevalência da infeção por *Cryptosporidium* na população europeia foi de 15% (Júlio e Oleastro, 2014).

Reforçando e corroborando a informação disponibilizada pelo INSA, Kourenti *et al.* (2007) defende que as últimas décadas na Europa têm sido caracterizadas por um aumento do número de infeções por protozoários patogénicos ao ser humano, aumento este, relacionado com a transmissão de ooquistos pela água.

Segundo o Relatório Epidemiológico Anual de 2013, dos 21 países da UE que disponibilizaram dados sobre esta doença parasitária (Fraser *et al.*, 2013; Júlio e Oleastro, 2014):

- Sete não tiveram qualquer caso;
- Três apenas confirmaram um caso;
- Cerca de nove não comunicaram os dados epidemiológicos referentes ao seu país;
- Crianças com idade inferior aos cinco anos constituem um risco elevado de contrair a doença (Fraser *et al.*, 2013; Júlio e Oleastro, 2014).

Ainda de acordo com o mesmo relatório, em 2011 foram confirmados 5.697 casos de criptosporidiose em 21 países da UE, com destaque para os países onde o rácio de casos confirmado foi mais elevado. Observou-se, por exemplo:

- No Reino Unido, cinco casos por cada 100.000 habitantes;
- Na Suécia, quatro por cada 100.000 habitantes;
- Na Irlanda, nove por cada 100.000 habitantes.

Apesar destes valores, a média nos países da UE foi de 1.95 casos por cada 100.000 pessoas (Silveira, 2009; Fraser *et al.*, 2013).

A incidência de criptosporidiose na Europa, tem o seu pico entre o final do verão e o final do outono, seguindo o padrão sazonal normal. Este aumento, particularmente no verão, poderá estar relacionado com o período onde há mais frequência de pessoas em parques aquáticos, piscinas públicas ou contacto com animais (Semenza *et al.*, 2012a; Fraser *et al.*, 2013).

Relativamente à faixa etária e ao sexo, destaque para a prevalência de criptosporidiose em crianças do sexo masculino, com idade compreendida entre os zero e os quatro anos, ou seja, 13,8 casos por cada 100.000 habitantes e, do sexo feminino, na mesma idade, com 10,5 casos por cada 100.000 habitantes.

Estes resultados sugerem e confirmam a maior tendência da infeção por *Cryptosporidium* em crianças com idade inferior aos dois anos, resultante maioritariamente da sua imaturidade imunitária. Estes dados podem ser comprovados na próxima figura (Fraser *et al.*, 2013).

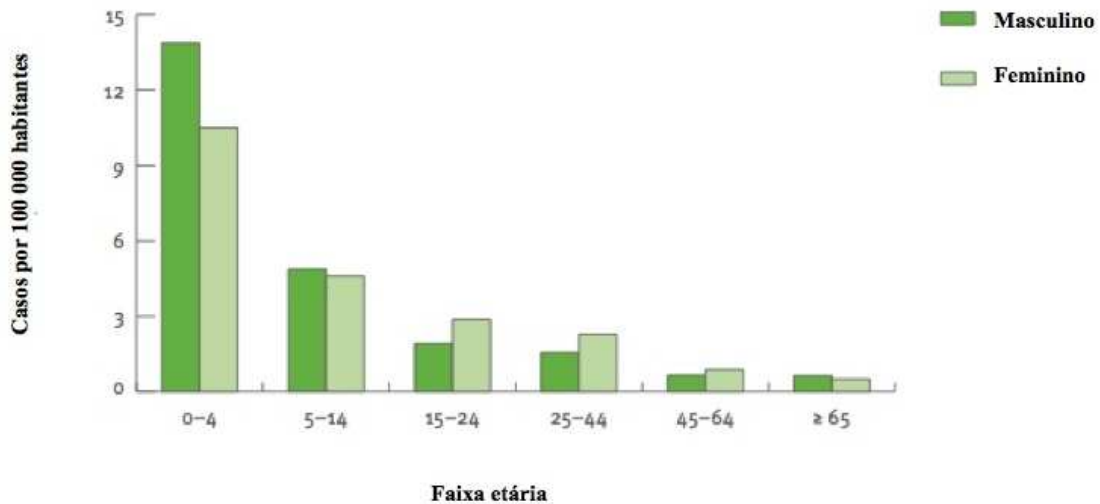


Figura 6 - Rácio de casos de criptosporidiose confirmados por idade e sexo em 2011. (Adaptado de Fraser *et al.*, 2013)

Ainda na Europa, mais propriamente na Holanda, Alemanha e Reino Unido foi evidenciado, em agosto de 2012, um aumento da incidência sem precedentes de criptosporidiose (Fraser *et al.*, 2013; Júlio e Oleastro, 2014). Este aumento sem causa aparente, em localizações geográficas diferentes, mas no mesmo período temporal, não revela evidente explicação, pelo que é encarado como uma grande preocupação para a saúde pública (Fournet *et al.*, 2013). Na Holanda e no Reino Unido, foi identificado o subtipo gp60 hominis IbA10G2, espécie bastante característica destes dois países. Ainda relativamente à Holanda, é expectável pensar que as chuvas intensas em julho e agosto de 2012, seguidas por um período extremamente quente, possam estar na origem da contaminação de águas superficiais, o que aumenta, assim, o pico de criptosporidiose.

Situações como esta, reforçam ainda mais a necessidade de uma maior vigilância a nível europeu, bem como o desenvolvimento de novos métodos de controlo da infeção, prevenindo o risco de futuras infeções por *Cryptosporidium* (Fournet *et al.*, 2013).

Para além da vigilância, a notificação pode ser outra medida a considerar para combater estes inesperados picos. Por exemplo, se por um lado no Reino Unido e na Alemanha, é obrigatório haver notificação, já na Holanda esta infeção não é de notificação obrigatória. A ausência de obrigatoriedade em certos países, como é o caso da Holanda e mesmo de Portugal, dificulta o estudo da criptosporidiose e a sua prevenção.

Segundo o mesmo estudo, e apesar deste aumento inesperado, países como a França, Dinamarca, Hungria, Irlanda, Lituânia, Noruega não foram afetados, nem sofreram qualquer aumento no número de casos (Fournet *et al.*, 2013).

De acordo com Hunter *et al.* (2007), na Inglaterra e no País de Gales são notificados cerca de 5.000 casos por ano, enquanto que Finlândia, por exemplo, registaram-se apenas dois surtos em 2012.

Por outro lado, a Estónia é considerada como sendo um país onde são raros os casos desta parasitose, não obstante, a elevada taxa de indivíduos infetados com HIV no país, constitui uma preocupação acrescida. Torna-se assim essencial, a adoção de um papel mais ativo na sensibilização e consciencialização para a criptosporidiose neste país (Lassen, Stahl e Enemark, 2014).

Segundo Ramirez *et al.* (2004), anualmente ocorrem aproximadamente entre 250 a 500 milhões de casos de infeção por *Cryptosporidium* spp. na América latina, Ásia e África muito devido às fracas condições sanitárias e à existência de um elevado número de doentes com HIV. Assim, regiões com elevada prevalência em HIV, com populações mal nutridas e com crianças com diarreia por infeções associadas a criptosporidiose, são igualmente regiões com maior incidência para o risco de morbidade e mortalidade consequentes desta doença (Peletz, Mahin, Elliott, Montgomery, e Clasen, 2013). As características, acima referidas, identificam-se totalmente com os países em desenvolvimento, onde a evidência desta parasitose em crianças e em adultos infetados com HIV é de 24% (Uppal, Singh, Chadha, e Jha, 2014). No entanto, segundo Kothavade (2011), a infeção por *C. parvum* em doentes com HIV é mais prevalente na Europa.

A prevalência de doentes infetados com HIV na infeção por *Cryptosporidium*, justifica a apresentação de alguns estudos com indivíduos pertencentes a este grupo de risco.

Na Indonésia, um grupo de doentes com HIV e infetados com *C. hominis*, sugeriu transmissão antroponótica, com a possibilidade de ter como fonte de infeção gatos ou aves. Este estudo corrobora a ideia de que as espécies de *C. hominis*, *C. parvum*, *C. felis* e *C. meleagridis* desenvolvem infeção humana (Kurniawan *et al.*, 2013).

Pode-se então considerar que a presença de animais domésticos, e a criação de galinhas ou outro tipo de aves, deva ser acautelada e encarada como um risco para

indivíduos com HIV. Este tipo de prevenção evitaria uma possível transmissão zoonótica (Kurniawan *et al.*, 2013).

Na Índia, o parasita tem sido reportado entre 2 a 60% em indivíduos infectados com HIV e crianças (Uppal *et al.*, 2014).

A poluição e a falta de higiene nas águas marinhas podem, também, ter repercussões ao nível da criptosporidiose. Assim, as águas poluídas com produtos provenientes de descargas residuais são consideradas uma fonte de infeção para a transmissão de *Cryptosporidium* através do contacto do ser humano com estas águas (Betancourt, Duarte, Vásquez e Gurian, 2014).

Nas Caraíbas, a estreita proximidade de grandes áreas comerciais, zonas hoteleiras e residências com o oceano, assim como, a maior exploração costeira pelo homem, aumentam a probabilidade de introdução de resíduos poluentes na água costeira e, conseqüentemente, o risco de transmissão de *Cryptosporidium*. Acresce a estes fatos, a maior exposição do homem nestas águas, assim como o provável desadequado saneamento (Betancourt *et al.*, 2014).

Na Venezuela, país que também pertence às Caraíbas e, igualmente devido à excessiva exploração costeira, verificou-se que o risco de transmissão de oocistos para as crianças é elevado, tendo em conta que estas ingerem bastante água do mar ao praticarem natação. Verificou-se que 14% das amostras recolhidas continham oocistos de *Cryptosporidium*, evidenciando a presença de *C. parvum* e *C. hominis* (Betancourt *et al.*, 2014).

Outros estudos têm sido realizados no sentido de perceber a dimensão da distribuição do parasita no mundo. Por exemplo, na Austrália, relatos recentes apontam para a possibilidade de uma nova espécie ter a capacidade de infectar o Homem e ser considerada como um possível patógeno humano emergente, a espécie *C. cuniculus* (Ng-Hublin, Combs, Mackenzie e Ryan, 2013). De referir, que os casos mais frequentes de infeção humana neste país, não variam tanto como nos restantes, uma vez que os principais agentes causadores de infeção são as espécies *C. hominis* e *C. parvum* e, *C. meleagridis* com menor frequência (Ng-Hublin *et al.*, 2013). No Reino Unido, foi evidenciado um surto de criptosporidiose provocado por esta espécie menos comum (Robinson *et al.*, 2011).

No Brasil, também tem sido demonstrada a presença de *Cryptosporidium* spp. em águas superficiais, águas tratadas e águas subterrâneas (Maura e Franco, 2007). Refira-se que, no Rio de Janeiro em 2000, foi elaborado um estudo com 485 crianças

que apresentavam diarreia, sendo que, 3,3% destas estavam infetadas por *Cryptosporidium*. Contudo, em São Paulo, e também num outro estudo, com crianças com idade inferior a cinco anos, verificou-se uma maior prevalência desta infeção, de 17,4% (Silva *et al.*, 2003).

Na China, foi igualmente evidenciada a presença do parasita em amostras de água de esgotos. Vários estudos na mesma região, Xangai, identificaram a presença de *C. hominis* em amostras de água recolhidas, confirmando a forte prevalência e incidência desta espécie nesta cidade (Feng *et al.*, 2009).

*C. ubiquitum* é uma espécie que raramente infeta seres humanos. No entanto, nos últimos anos têm surgido alguns relatos que contrariam esta ideia, tendo sido já identificada no Canadá, em Nova Iorque, no Reino Unido, na Eslovénia, no Peru e na Nova Zelândia. Pensa-se que o aumento do número de infetados por *C. ubiquitum* possa, eventualmente, estar relacionado com o facto de esta espécie usar muito os mamíferos como hospedeiros, podendo sugerir uma transmissão por via zoonótica (Fayer, Santín e Macarisin, 2010).

No Canadá, também tem sido evidenciada a presença de ooquistos de *Cryptosporidium* spp., particularmente na altura do outono (Wilker *et al.*, 2009).

Se a todas as evidências suprarreferidas, considerarmos a cada vez maior e mais frequente rotação das populações pelas várias regiões geográficas do mundo, parece ser imperioso haver uma rigorosa investigação e uma obrigatoriedade na notificação de surtos de criptosporidiose, ao longo dos anos, no mundo inteiro. Apenas assim será possível conseguir apurar a eficácia dos tratamentos de água e, de forma mais eficaz os surtos da infeção por *Cryptosporidium* (Kourenti *et al.*, 2007).

## **2.2 - Patogénese**

A patogénese de *Cryptosporidium* ainda não está totalmente esclarecida. Os estudos realizados têm sido centrados no envolvimento de processos inflamatórios osmóticos e de secreção, inerentes aos sintomas provocados pela criptosporidiose, nomeadamente, a diarreia (Chalmers e Davies, 2010).

De acordo com Chalmers e Davies (2010), os efeitos provocados na camada epitelial desencadeiam respostas imunológicas e inflamatórias por parte do hospedeiro. O efeito do parasita no epitélio compromete a absorção a nível intestinal, aumentando a secreção. Para além do parasita ter a capacidade de comprometer o normal

funcionamento do intestino, estudos evidenciam que *Cryptosporidium* danifica as células epiteliais, causando apoptose.

De acordo com Nynke Hofstra *et al.* (2013), *Cryptosporidium* afeta maioritariamente o trato gastrointestinal, em especial o intestino delgado. No entanto, em doentes imunodeprimidos o parasita para além de colonizar o íleo, pode espalhar-se ao longo do trato gastrointestinal, sendo cada vez mais frequente o seu envolvimento na parte superior do mesmo (Clemente *et al.*, 2000).

A dose infetante varia de espécie para espécie, sendo que uma pequena dose pode ser suficiente para causar infeção a uma pessoa ou a um animal. Kothvade (2011) refere que em média entre nove a 2066 ooquistos são necessários para causar infeção em 50% dos indivíduos, sendo que (Chalmers e Davies, 2010):

- A dose mínima necessária de *C. hominis* situa-se entre os 10 e os 83 ooquistos;
- A dose mínima necessária de *C. parvum* é 132 ooquistos.

As células T, de que são exemplo os linfócitos TCD4<sup>+</sup>, estão envolvidas diretamente na resposta imunitária, desempenhando um papel preponderante na imunidade da célula hospedeira.

Também o estado imunológico do hospedeiro influencia o desenvolvimento da criptosporidiose. Assim, segundo Kurniawan *et al.* (2013), a severidade desta infeção está correlacionada com a contagem de TCD4<sup>+</sup> inferior a 180 células por mm<sup>3</sup>. Desta forma, verifica-se que a severidade da mesma é proporcional ao número de células TCD4<sup>+</sup>. Doentes com contagens inferiores a 150 células por mm<sup>3</sup> têm tendência a desenvolver infeção severa e persistente (Maura e Franco, 2007). É o caso de doentes imunodeprimidos ou com HIV, cujas contagens de células T, muitas vezes se verificam inferiores a 50 (Bouzid *et al.*, 2013), atingindo a doença o seu grau máximo. Nestes doentes, a cronicidade das diarreias pode ser uma realidade, nomeadamente, em populações carenciadas, segundo Pelez *et al.* (2013).

De acordo com Charlmers e Davies (2010) a invasão da célula hospedeira está restringida ao lúmen dos enterócitos, causando deslocamento das microvilosidades e perda da superfície epitelial. Assim, a infeção provocará a morte das células epiteliais, conduzindo à atrofia das vilosidades.

Os efeitos, causados por *Cryptosporidium* spp., influenciam significativamente a absorção intestinal. Verifica-se pois, o aumento da permeabilidade e inflamação da

lâmina própria, contribuindo para diarreia aquosa e desencadeando uma resposta inflamatória, verificando-se um recrutamento de citocinas para o local da infeção.

De salientar que este tipo de alterações, nas vilosidades e na permeabilidade, são bastante semelhantes às que ocorrem em doenças inflamatórias intestinais, como por exemplo, a doença de Crohn ou a colite ulcerosa. Deste modo, os autores referidos sugerem que embora em fases estáveis, doenças como as anteriormente referenciadas podem ser facilmente reativadas por infeção por *Cryptosporidium*.

*Cryptosporidium* cria, sobretudo, danos a nível intestinal. No entanto, pode causar apoptose das células epiteliais da vesícula biliar, sendo relevante no estudo da patogénese da Colangite Esclerosante, descrita como uma complicação da criptosporidiose biliar. Para além da infeção biliar, foi igualmente registada infeção pancreática por *Cryptosporidium*. De acordo com Bouzid *et al.* (2013), também o sistema respiratório pode ser afetado pelo parasita.

### **2.2.1- Ligação do Parasita à célula Hospedeira**

O ciclo de vida de *Cryptosporidium* é influenciado por fatores de virulência, alguns específicos para *C. parvum*, que estão envolvidos na ligação do parasita à célula hospedeira. Estes ainda não estão totalmente caracterizados relativamente à função patogénica que cada um deles exerce neste processo (Bouzid *et al.*, 2013). Não obstante, têm sido identificados alguns fatores com funções importantes neste processo de ligação do parasita à célula hospedeira, cuja importância reside na sua participação em processos como a desenquistação, a aderência, a invasão e a formação do vacúolo, como ilustra a figura seguinte.

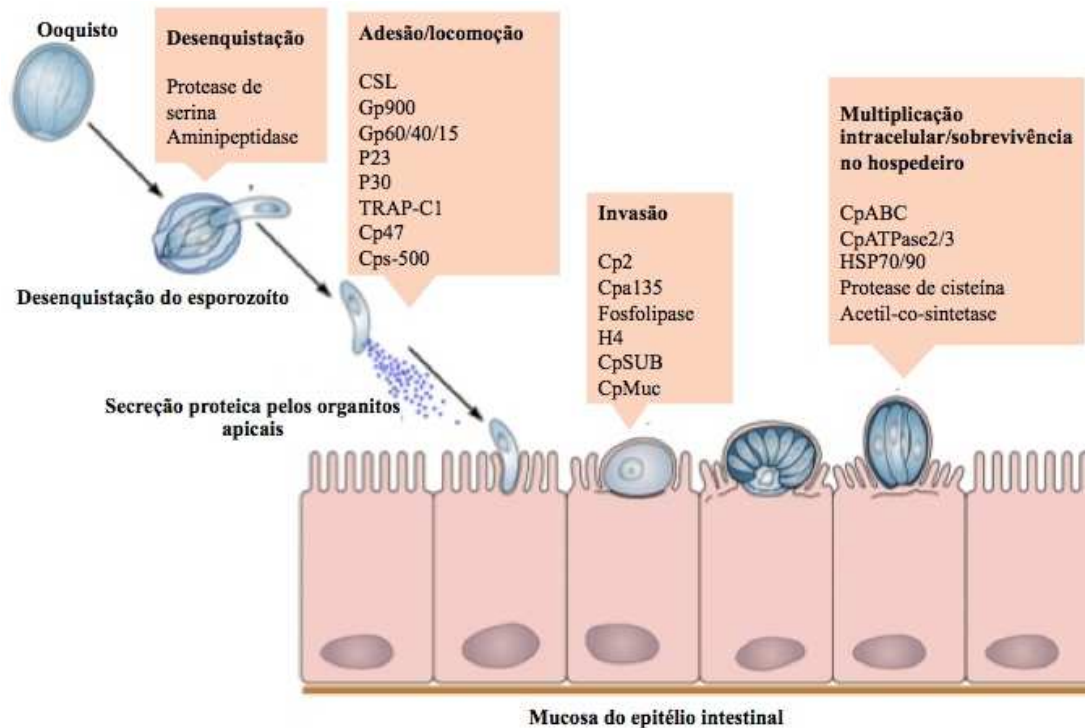


Figura 7 - Fatores de virulência descritos no ciclo de vida de *Cryptosporidium*. (Adaptado de Bouzid *et al.*, 2013)

As formas ambientais de *Cryptosporidium* spp. têm na sua estrutura um complexo apical que influencia fenômenos como a adesão, a locomoção e a invasão do parasita à célula hospedeira. Os merozoítos e os esporozoítos têm na sua superfície proteínas e Gp que medeiam a ligação à célula hospedeira (Boulter-Bitzer, Lee e Trevors, 2007). Os organitos apicais, através das suas funções secretoras, estão envolvidos no armazenamento e produção de proteínas. Estes organitos apicais são constituídos por (Boulter-Bitzer, Lee e Trevors, 2007; O'Hara e Chen, 2011):

- Roptrias: são proteínas importantes, que estão envolvidas na formação do vacúolo;
- Mionemas: são importantes para o reconhecimento da célula hospedeira promovendo a sua ligação como parasita;
- Grânulos densos: associam-se à membrana do vacúolo após exocitose, presumindo que depois possam modificar a sua estrutura.

Os mionemas podem ter várias classes de proteínas associadas, umas do tipo mucina e outras relacionadas com a trombospondina adesiva, funcionando como um ligando na superfície dos esporozoítos e merozoítos, entre as quais se destacam, por exemplo (Deng, Rutherford, e Abrahamsen, 2004; Bouzid *et al.*, 2013):

- Gp900: é uma Gp do tipo mucina que está localizada na superfície dos merozoítos e esporozoítos, serve como um ligando para um recetor da célula hospedeira, estando, por isso, envolvida na adesão à célula epitelial;
- TRAP-C1: é uma proteína localizada no pólo apical dos esporozoítos e está envolvida na penetração celular;
- Gp15/40: a Gp40 está localizada no complexo apical e a Gp15 está presente em toda a superfície dos esporozoítos;
- TRAP-C2, CpSCRP, galactose-N-acetylgalactosamina, entre outros.

Por outro lado, também existem Gp que funcionam como recetores à célula hospedeira, tais como (Deng *et al.*, 2004; Bouzid *et al.*, 2013):

- CSL: *C. parvum* circunsporozoito semelhante, é uma Gp que se localiza no complexo apical e que contém um ligando específico para um recetor localizado na superfície de células epiteliais intestinais humanas;
- CP47: é uma proteína associada à membrana localizada na extremidade apical dos esporozoítos.

As roptrias e os mionemas, por estarem envolvidas na adesão e invasão à célula hospedeira, provocam a formação de um vacúolo. Este processo envolve etapas como (Deng *et al.*, 2004; Boulter-Bitzer *et al.*, 2007):

- A formação de um vacúolo pré-parasitário;
- A fusão do vacúolo parasitóforo com a membrana da célula hospedeira;
- A secreção de esporozoítos dos organitos apicais no local de ligação na célula hospedeira;
- A ligação do parasita à célula hospedeira.

Estudos *in vitro* demonstram que a aderência de *C. parvum* a células epiteliais também depende do pH e de alguns catiões. Por outro lado, os hidratos de carbono são também importantes, uma vez que medeiam os mecanismos moleculares relacionados com a adesão do parasita à célula hospedeira (O'Hara e Chen, 2011). Algumas enzimas também têm funções na ligação do parasita à célula, estando envolvidas na invasão à célula hospedeira, à degradação proteica e à diminuição da capacidade imunitária da célula hospedeira. Um exemplo é a aminopeptidase e a serina protease que participam na invasão celular (Bouzid *et al.*, 2013).

De acordo com Bouzid *et al.* (2013), caso haja um número elevado de moléculas com funções de adesão a atuar, é possível haver uma maximização da fixação do parasita à célula.

### 2.2.2- Resposta da célula do hospedeiro à infecção

A ingestão de ooquistos de *Cryptosporidium* funciona como um estímulo às células epiteliais do intestino, na ativação da cascata de sinalização intracelular, desencadeando uma resposta imunitária (Kothavade, 2011). A resposta celular e imunitária do hospedeiro depende de vários processos e de diferentes intervenientes (Deng *et al.*, 2004; Collinet-Adler e Ward, 2010).

De acordo com Deng *et al.* (2004), a resposta da célula epitelial perante a infecção por *Cryptosporidium* subentende os seguintes mecanismos:

- Modulação do citoesqueleto;
- Apoptose celular;
- Regulação de citocinas pró-inflamatórias e reguladoras do sistema imunológico.

O citoesqueleto sofre uma reorganização quando o parasita adere e invade a célula hospedeira, sendo a adesão de *C. parvum* ao redor da membrana citoplasmática, determinante na adesão e invasão celular. A alteração de elementos do citoesqueleto, durante a invasão do parasita, marca o início da formação do vacúolo parasitóforo (Deng *et al.*, 2004; Collinet-Adler e Ward, 2010).

Para responder à infecção, a célula entra em apoptose, ou seja, programa a sua morte celular, sendo esta considerada um mecanismo de defesa do hospedeiro perante a invasão de *Cryptosporidium*. Em sentido contrário, *Cryptosporidium* desempenha vários mecanismos com o intuito de contrariar esta morte programada da célula, de modo a facilitar a sobrevivência e propagação parasitária. Assim, a eliminação das células que sofrem apoptose tem como objetivo manter a integridade da barreira epitelial, funcionando simultaneamente como uma defesa da célula hospedeira (Deng *et al.*, 2004).

As células epiteliais do intestino produzem uma variedade de citocinas de forma a combater a infecção, contrariando a invasão e sobrevivência de *Cryptosporidium*. Desta forma, o recrutamento de leucócitos para a lâmina própria, e as citocinas pró-inflamatórias fazem parte do início da resposta da mucosa à infecção do parasita. Assim,

as células epiteliais do intestino regulam a produção de várias citocinas pró-inflamatórias, determinando quais as células a recrutar do sistema imunológico para o local de infeção. São vários os tipos de células recrutadas para os locais de infeção ou que desempenham funções essenciais na resposta imune. Tais como (Deng *et al.*, 2004; Kothavade, 2011):

- Macrófagos, neutrófilos e linfócitos que seguem para o local lesado quando há inflamação da mucosa por infeção de *C. parvum*;
- A  $\alpha$ -defensina e  $\beta$ -defensina também participam na resposta imunitária, desempenhando funções de defesa inata do trato gastrointestinal;
- A interleucina 8 é uma quimiocina produzida por células epiteliais e linfócitos, preponderante na iniciação da resposta imune da célula hospedeira, desencadeando a presença de neutrófilos no local de inflamação;
- A TGF- $\beta$  é igualmente uma citocina que participa na resposta imune da célula, com capacidade anti-inflamatória. Esta é sintetizada pelas células intestinais e estimula a síntese proteica da matriz extracelular, regulando a reparação da mucosa epitelial que está lesada;
- As prostaglandinas, expressas no trato gastrointestinal, modulam a resposta imunitária da mucosa e uma vez aumentadas, conseguem regular a expressão de mucina epitelial.

Relativamente à resposta desencadeada pela mucosa intestinal, tal como foi referido, as células do epitélio do intestino produzem citocinas e quimiocinas em resposta à infeção de *Cryptosporidium*. Para além de que funcionam como uma barreira, separando o meio interno do hospedeiro, permitindo ainda a absorção de nutrientes.

As células T são essenciais para a sobrevivência do hospedeiro, participam de forma ativa, na resposta imune deste contra a infeção por *Cryptosporidium parvum*, sugerindo até, serem importantes na iniciação de respostas imunitárias do hospedeiro (Riggs, 2002; Kothavade, 2011; O'connor, Shaffie, Kang, e Ward, 2011).

As proteínas de choque térmico são também importantes, uma vez que têm na sua função, a preservação das funções celulares sob condições de *stress*, como as infeções (Deng *et al.*, 2004).

### 2.3- Infecção Humana: Manifestações Clínicas

A criptosporidiose manifesta-se clinicamente de diferentes formas e consoante o tipo de espécie. A infecção por *Cryptosporidium* tem um período de incubação que pode variar entre os três e os 12 dias, sendo que, na maioria dos casos situa-se entre os cinco e os sete dias (Chalmers e Katzer, 2013).

Nem sempre é fácil atribuir uma relação causa-efeito entre o parasita e o sintoma, pois são muitos os fatores de risco a que as pessoas se submetem diariamente.

Pereira *et al.* (2009) considera que os sintomas da infecção humana por *Cryptosporidium* spp. podem ser: agudos, crónicos, assintomáticos ou surgirem de forma fulminante.

A severidade e suscetibilidade da criptosporidiose enquanto doença varia, igualmente, de individuo para individuo, dependendo do seu estado nutricional, imunológico e se já sofreu ou não exposição prévia.

A criptosporidiose manifesta-se sobretudo através de sintomas gastrointestinais tais como diarreia, vômitos e náuseas. Os sintomas diarreicos podem durar uma a duas semanas ou prolongarem-se por mais tempo, consoante o estado imunitário do doente (Abubakar *et al.*, 2007).

Para além de afetar o trato gastrointestinal, a criptosporidiose pode igualmente apresentar manifestações clínicas tais como: febre baixa, perda de peso e apetite, hepatite e pancreatite.

*Cryptosporidium* também tem a capacidade de afetar o sistema respiratório humano, sendo que já foram reportados alguns casos de doentes com sintomatologia diarreica e infecção respiratória. No entanto, e sendo estes mais esporádicos, podem também ter influência de outro tipo de infecção existente e de patogénicos mais específicos como *Mycobacterium* spp (Pereira *et al.*, 2009; Chalmers e Davies, 2010; Weir *et al.*, 2011). Quando a criptosporidiose afeta o sistema respiratório pode surgir tosse crónica, dispneia e febre (Maria *et al.*, 2012).

Tendo em conta a grande distribuição mundial desta doença, é expectável que possa afetar qualquer pessoa e em qualquer faixa etária. Não obstante, em crianças com idade inferior aos dois anos, pela sua natural vulnerabilidade, a infecção poder ser mais severa, assim como em doentes imunodeprimidos ou crónicos e em idosos. Estes grupos de doentes têm um sistema imunitário mais débil e com menor capacidade de resposta perante uma infecção, pelo que deve ser tido um cuidado particular no contacto com

águas e alimentos mal lavados, com animais, com viajantes ou com indivíduos que frequentem piscinas municipais ou que consomem água de baixa qualidade (Chalmers e Davies, 2010).

### **2.3.1- Manifestações Clínicas em Indivíduos Saudáveis**

Nos indivíduos sem problemas imunitários e ausentes de doença crónica, uma vez infetados por *Cryptosporidium*, os sintomas têm tendência a passar sem que seja necessário intervir com medicação, manifestando-se a infeção de uma forma aguda, mas autolimitada. Nos indivíduos imunocompetentes, a criptosporidiose provoca, geralmente, gastroenterite acompanhada de diarreia com três a 10 dejeções diárias.

No que diz respeito ao tipo de fezes, a diarreia pode apresentar-se de forma repentina, geralmente com um aspeto aquoso, não sendo frequente a presença de sangue, de leucócitos ou de muco (Maura e Franco, 2007; Chalmers e Davies, 2010).

Para além da habitual sintomatologia já suprarreferida, estão descritas outras manifestações clínicas, tais como, a dor abdominal, dores de estômago, dores de cabeça, calafrios, anorexia, malnutrição, fadiga, mal-estar, flatulência, inchaço na região abdominal e tosse, sendo este último o sintoma mais raro e ainda o menos estudado (Ng-Hublin *et al.*, 2013).

A desidratação é outra manifestação que pode ocorrer em indivíduos saudáveis, consequente da elevada perda de água e fluídos provocada pela diarreia, vómitos, febre e falta de apetite (Vadlamudi *et al.*, 2013).

De acordo com Chalmers e Davies (2010), as manifestações clínicas deixam de aparecer normalmente passado três semanas, muito embora existam doentes com diarreia crónica, podendo nestes casos os sintomas durar um mês ou mais a desaparecer. Contudo, a presença de ooquistos pode ainda persistir nas fezes durante um período de sete dias, após ter cessado qualquer sintoma (Maura e Franco, 2007). Por exemplo, num estudo realizado, um grupo de doentes ingleses teve sintomas diarreicos durante nove dias, o mesmo não aconteceu num outro grupo de doentes infetados pelo mesmo parasita, em Melbourne, em que os sintomas persistiram em média, até aos 22 dias. Esta discrepância de resultados, pode sugerir que a criptosporidiose em diferentes localizações geográficas apresente uma duração de sintomas igualmente diferentes (Chalmers e Davies, 2010).

No Reino Unido, foi também investigado um grupo de doentes infetados por *C. parvum* e *C. hominis* com sintomas diarreicos durante 13 dias, não havendo diferença na duração dos mesmos, consoante a espécie. No entanto, salienta-se que a espécie *C. hominis* pode ter uma duração sintomática mais variável em relação a *C. parvum*.

Ainda num outro estudo no Reino Unido, num grupo de doentes imunocompetentes infetados por *Cryptosporidium*, evidenciou-se que (Chalmers e Davies, 2010):

- 95% dos doentes apresentou dor abdominal;
- 65% dos doentes apresentou vômitos;
- 11% dos doentes apresentou diarreia com sangue;
- 59% apresentou sintomas febris.

### 2.3.2- Manifestações Clínicas em Crianças

A idade é um parâmetro importante a ter em conta na infeção por *Cryptosporidium*, uma vez que as crianças são consideradas um grupo de risco (Bouزيد *et al.*, 2013). Sabe-se que a diarreia é responsável pela morte de 1.45 milhões de pessoas, 11,9% das quais são crianças (Zambrano *et al.*, 2014). Este será, portanto, um problema emergente a nível global, uma vez que a infeção por *Cryptosporidium* causa diarreia com alguma severidade neste grupo etário (Peletz *et al.*, 2013). No entanto, é de referir também a existência de casos de crianças infetadas com o parasita, sem manifestação evidente de qualquer sintomatologia (Cama *et al.*, 2008).

Segundo Maura e Franco (2007), 17% dos casos de diarreia na população infantil são derivados da infeção por *Cryptosporidium*, sendo que, nos países em desenvolvimento, crianças infetadas por este parasita apresentam diarreia moderada a grave (Utaaker e Robertson 2014).

Relativamente ao tipo de fezes, é incomum observar sangue, muco ou leucócitos, pelo que, sempre que se verifique a sua presença pode sugerir uma co-infeção ou uma patologia recente, devendo por isso ser investigada (Collinet-Adler e Ward, 2010).

A elevada incidência desta parasitose, em crianças, está sobretudo relacionada com o seu risco acrescido, consequência da sua, ainda, imunidade precoce e imaturidade da mucosa intestinal, incapazes de combater o parasita. É muito comum, nesta faixa etária, esta infeção manifestar-se com episódios de diarreia persistente, associada a má

nutrição, atraso no crescimento e podendo, inclusivamente, provocar défices cognitivos (Maura e Franco, 2007; Sampaio, 2011; Bouzid *et al.*, 2013).

De acordo com Ng-Hublin *et al.* (2013), em crianças, com idades inferiores aos cinco anos, a doença pode ser crónica e até debilitante, tendo como possíveis consequências a desidratação grave, a má nutrição e a diminuição do crescimento físico e desenvolvimento mental. Em algumas crianças malnutridas e contaminadas por *Cryptosporidium*, foi evidenciada a presença, nas fezes, da citocina lactoferrina, um indicador de inflamação intestinal (Chalmers e Davies, 2010).

No Uganda, para além dos frequentes sintomas gastrointestinais, também estão reportados alguns sintomas ao nível do sistema respiratório em crianças infetadas com HIV e criptosporidiose em simultâneo (O'connor *et al.*, 2011).

Foi evidenciado em Lima no Peru, a associação da espécie *C. hominis* a manifestações como a diarreia, náuseas, vómitos e mal-estar. Enquanto que, espécies como *C. parvum*, *C. meleagridis*, *C. canis* e *C. felis*, foram apenas associados a diarreia. Ainda no Peru, um estudo demonstrou que 30% das crianças infetadas com *Cryptosporidium* tiveram sintomas diarreicos.

Na Guiné-Bissau, verificou-se má nutrição em crianças infetadas com menos de três anos mas foi difícil correlacionar diretamente esta má nutrição com a infeção por *Cryptosporidium* (Cama *et al.*, 2008; Chalmers e Davies, 2010).

Num estudo de Cama *et al.* (2008), investigaram-se 156 crianças com infeção parasitária, sendo que destas, 109 estavam infetadas por *Cryptosporidium*. Deste grupo de 109 infetados com criptosporidiose verificou-se que (Cama *et al.*, 2008):

- 36% das crianças infetadas teve diarreia;
- 28,4% teve mal-estar geral;
- 7,9% teve náuseas;
- 15,7% teve vómitos;
- 165% teve dor abdominal;
- No geral mais de 44% das crianças tiveram mais que uma manifestação clínica.

A predominância da espécie *C. hominis* em crianças saudáveis foi evidenciada em países como Malawi, Brasil, Índia, Quênia e em crianças hospitalizadas com HIV no Uganda e África do Sul (Cama *et al.*, 2008).

Em suma, constata-se que a criptosporidiose é uma parasitose muito observada em crianças com idade inferior a dois anos e que as manifestações clínicas variam desde diarreia aguda a crónica. Assim, pelas consequências comprometedoras do normal desenvolvimento da criança já descritas, existe, atualmente, uma crescente preocupação, em particular nos países em desenvolvimento, onde o parasita pode ser endémico (Cama *et al.*, 2008; Chalmers e Davies, 2010).

### **2.3.3- Manifestações Clínicas em Grávidas**

A relação entre a criptosporidiose e as mulheres grávidas não está, ainda, totalmente esclarecida, carecendo de uma investigação mais profunda. No entanto, parece ser evidente que a gravidez não constitui um fator impeditivo à infeção por *Cryptosporidium*, pelo que as grávidas são reconhecidas como potencial grupo de risco. A transmissão de pessoa-pessoa, fecal-oral ocorre, frequentemente, entre crianças e mulheres grávidas, podendo esta estreita proximidade colocar as grávidas em risco acrescido (Domjahn *et al.*, 2014).

Não obstante serem escassas as investigações acerca das manifestações e da influência do parasita na grávida, num estudo no qual foram entrevistados alguns médicos, 80% destes afirmaram considerar estas mulheres como um grupo de elevado risco, evidenciando a necessidade de precauções especiais com as fontes de transmissão, nomeadamente, com águas de piscinas ou outras águas superficiais. Segundo o mesmo estudo, o frequente contacto das mulheres grávidas com crianças pequenas, inclusivamente com as suas fezes, nomeadamente nas fraldas, exige um especial cuidado para não haver transmissão. A frequente e eficiente lavagem de mãos é, por isso, altamente recomendada (Domjahn *et al.*, 2014).

Quando infetada, a grávida pode apresentar sintomatologia diarreica grave e facilmente desidratar, com consequente impacto nefasto para o feto. Tendo em conta esta desidratação, as mulheres grávidas devem combater este efeito, reforçando os cuidados com a hidratação e com uma nutrição materna adequada.

Conclui-se que neste grupo de risco, os médicos desempenham um papel essencial na prevenção, diagnóstico e tratamento (Domjahn *et al.*, 2014).

### **2.3.4- Manifestações Clínicas em Idosos**

A infeção por *Cryptosporidium* afeta a mortalidade e morbilidade da faixa etária mais avançada, sendo considerada um problema da geriatria. A relação da criptosporidiose com os idosos é real e a existência de casos, neste tipo de indivíduos, deve-se sobretudo à sua diminuta capacidade de resposta imunitária e ao seu mau funcionamento orgânico, pelas habituais doenças crónicas a que estão sujeitos. Como tal, esta população tem mais dificuldade em lidar com infeções parasitárias, pois muitos destes indivíduos são diabéticos, doentes oncológicos ou estão sob constante medicação para estas e outras patologias. A agravar esta situação, há a considerar que em muitos destes casos, os idosos têm uma alimentação fraca e pobre em nutrientes, constituindo-se como um grupo de risco bastante sensível à infeção por *Cryptosporidium*. São estes os principais fatores que contribuem para uma maior suscetibilidade dos idosos à infeção por *Cryptosporidium* (Regina *et al.*, 2010).

Refira-se que medicamentos como sedativos ou anticolinérgicos, que são frequentemente usados no dia-a-dia dos idosos, e que têm um efeito imunossupressor, tornam o doente ainda mais vulnerável à infeção (Regina *et al.*, 2010; Strausbaugh, 2001). Por outro lado, as limitações funcionais normais da idade avançada, como a incontinência ou a falta de mobilidade, podem aumentar a sensibilidade à infeção e o risco da auto infeção (Strausbaugh, 2001).

O tempo livre característico deste grupo de indivíduos, em idade de reforma, possibilita igualmente a suscetibilidade à criptosporidiose, na medida em que as atividades praticadas pelos idosos, tais como, a jardinagem, o voluntariado em países carenciados, a caça, a pesca e as viagens por outras regiões e culturas, entre outras, constituem um fator acrescido ao risco de infeção, pois o contacto próximo com o potencial agente infeccioso é bastante provável (Strausbaugh, 2001).

Também a relação próxima que os idosos têm com os seus animais domésticos, pode ser um risco. Muitos destes animais podem estar infetados, mesmo que assintomáticos, podendo ser uma fonte de transmissão. Num estudo realizado no Rio de Janeiro, 102 idosos com idades superiores a 60 anos, com contacto com gatos, evidenciou-se que (Regina *et al.*, 2010):

- 29,4% dos idosos apresentavam sintomas diarreicos;
- 16,7% dos idosos continham nas fezes ooquistos de *Cryptosporidium*.

De acordo com o mesmo autor, num estudo realizado no Irão com 400 indivíduos, verificou-se que a faixa etária superior a 51 anos apresentava diarreia, havendo uma prevalência de infetados por *Cryptosporidium* de cerca de 25%.

Por fim, tendo em conta os dados referidos relativamente a esta população, às características do parasita, bem como, ao facto da taxa de mortalidade por microrganismos entéricos nos idosos ser 10 a 100 vezes superior, comparativamente ao resto da população, pode-se considerar os idosos como sendo mais um grupo a suscitar grande preocupação (Regina *et al.*, 2010).

### **2.3.5- Manifestações Clínicas em Indivíduos Malnutridos**

A nutrição desequilibrada, desadequada ou mesmo a falta dela, contribuem por si só para a infeção por *Cryptosporidium*.

A carência alimentar e a nutrição desequilibrada quer por privação, quer por excesso, debilita os indivíduos e, conseqüentemente fragiliza o bom funcionamento do organismo e do sistema imunitário. É pois por esta razão que os indivíduos malnutridos são considerados um grupo de risco (Collinet-Adler e Ward, 2010).

Neste grupo populacional de indivíduos, esta doença manifesta-se essencialmente através de diarreia persistente, podendo ser crónica, de acordo com Pereira *et al.* (2009).

### **2.3.6- Manifestações Clínicas em Indivíduos imunodeprimidos**

Contrariamente aos indivíduos imunocompetentes, os sintomas da criptosporidiose em doentes imunodeprimidos não se resolvem espontaneamente, podendo até a parasitose tornar-se crónica e com efeitos devastadores no doente.

A severidade e a extensão da sintomatologia, em doentes imunodeprimidos, prende-se também com a coexistência de outro tipo de doenças (Ramirez *et al.*, 2004). Este facto, implica que o doente esteja submetido a outras terapêuticas medicamentosas, potenciais influenciadoras nos sintomas crónicos e severos da infeção por *Cryptosporidium*. Assim sendo, são considerados grupos de risco doentes:

- Com défice nas células T;
- Com doenças malignas e hematológicas;
- Com HIV;
- Transplantados;

- Pertencentes a populações carenciadas.

Para este tipo de grupo de indivíduos, cujas infeções se podem tornar crónicas e debilitantes, torna-se ainda mais difícil conseguir um tratamento efetivo (Ramirez *et al.*, 2004; Chalmers e Davies, 2010).

Os doentes imunodeprimidos, para além de sofrerem os típicos sintomas gastrointestinais, podem também apresentar sintomas a nível extra-gastrointestinal, afetando a vesícula biliar, ducto pancreático e até mesmo a árvore brônquica. Há também outros casos descritos, mais raros e mais severos, como por exemplo situações de infeção traqueobrônquica, com possível sinusite (Chalmers e Davies, 2010). Porém, a invasão do parasita no sistema respiratório não está totalmente descrita e clara, começando desde logo pela forma como o parasita entra no sistema respiratório que ainda é incerta, apesar de se pensar que o sistema gastrointestinal possa funcionar como porta de entrada. Há, ainda, outros estudos em aves, em que a infeção neste sistema é transmitida por inalação. Como tal, esta possibilidade também não está totalmente descartada (Chalmers e Davies, 2010).

Em doentes com infeção simultânea por HIV e por *Cryptosporidium*, à vulnerabilidade do seu estado imunitário acresce a idade, o sexo, a etnia, o tipo de comportamento sexual, o contacto com animais domésticos, a frequência de piscinas, a higiene e o consumo de água não tratada, como fatores de risco à infeção a considerar (O'connor *et al.*, 2011; Bouzid *et al.*, 2013).

Os sintomas clínicos da criptosporidiose neste tipo de doentes podem-se prolongar durante meses e levar inclusive à morte.

A desidratação pode ocorrer facilmente, uma vez que estes doentes apresentam 10 a 20 dejeções diárias sob a forma de diarreia, o que contribui diretamente para uma perda de água estimada, até 10 litros por dia. Nestes casos mais severos, devido à elevada desidratação, a doença progride, podendo existir acentuada perda de peso, caquexia e hipovolémia (Pereira *et al.*, 2009).

Em doentes seropositivos a criptosporidiose também pode estar ocasionalmente associada a cistoide pneumatose intestinal. Nestes doentes, a infeção torna-se tanto mais grave e severa, quanto mais próxima estiver do intestino delgado, uma vez que as diarreias são mais severas e com menor taxa de sobrevivência (Chalmers e Davies, 2010).

O grau de comprometimento imunológico dos doentes faz variar o tipo de manifestação clínica de um doente com HIV. A contagem de células TCD4<sup>+</sup> permite

estabelecer que tipo de manifestação o doente poderá ter, ou seja, doentes com (O'connor *et al.*, 2011; Pelez *et al.*, 2013):

- Contagens de células TCD4<sup>+</sup> superiores a 180, a doença pode ser assintomática ou desenvolver diarreia autolimitada;
- Contagem de células TCD4<sup>+</sup> inferior a 50, podem ter diarreia severa, que pode persistir por vários meses, resultando em desidratação grave, perda de peso e desnutrição, hospitalizações prolongadas e mortalidade;
- Em estado avançado de SIDA, têm um maior risco de desenvolver infeções fora do intestino, podendo ter infeções a nível biliar, pancreático ou do sistema respiratório;

Assim, é plausível afirmar que a severidade dos sintomas varia em função do estado imunitário do doente. Doentes com baixa capacidade imunitária, podem ter diarreia crónica durante mais de dois meses, sendo a hospitalização prolongada, muitas vezes, uma necessidade que nalguns casos tem a morte como desfecho.

Num estudo com 75 doentes com HIV, com idade média de 37 anos, verificou-se que 77% estavam infetados por *Cryptosporidium*. Verificou-se, também, que a espécie *C. parvum*, provocou sintomas como diarreia, febre e dor abdominal, ficando igualmente evidente que a prevalência da criptosporidiose foi maior em doentes com HIV (Badoui *et al.*, 2014).

Do mesmo modo, foi realizado um estudo na Indonésia em 318 indivíduos, sendo que, 11,9% tinham ooquistos presentes nas fezes e eram doentes seropositivos com uma contagem de TCD4<sup>+</sup> inferior a 200 células por mm<sup>3</sup>. A criptosporidiose manifestou-se nestes doentes através de diarreia persistente por quatro semanas (Kurniawan *et al.*, 2013).

Em indivíduos com HIV, as manifestações clínicas também variam consoante as espécies. Assim doentes infetados com *C. hominis*, podem manifestar, com maior frequência, diarreia, náuseas, vómitos e mal-estar, embora também possam ter sintomas extra-intestinais, tais como, dor nas articulações, dor nos olhos, dores de cabeça recorrentes e fadiga.

Relativamente às espécies *C. parvum*, *C. meleagridis*, *C. canis* e *C. felis*, em doentes com HIV, estão associadas somente a diarreia (Bouzid *et al.*, 2013; Ng-Hublin *et al.*, 2013).

Foi realizado um estudo na Tanzânia, com doentes infetados com HIV, que corrobora os autores anteriores, ou seja, que diferentes espécies podem ter igualmente

sintomas diferentes. Neste caso, os sintomas de doentes infetados por *C. hominis* foram distintos dos doentes infetados por *C. parvum* (Cama *et al.*, 2007).

Noutro estudo, ainda com doentes com HIV e infetados com criptosporidiose verificou-se que (Cama *et al.*, 2007):

- *C. parvum* foi mais patogénico, provocando diarreia crónica e vómitos;
- *C. canis* e *C. felis* causaram apenas diarreia;
- *C. meleagridis* foi o menos patogénico, não causando sintomas;
- Doentes infetados com o subtipo Ib de *C. hominis* tiveram diarreia severa;
- Doentes infetados com o subtipo Ia de *C. hominis* não tiveram diarreia;
- Doentes infetados com subtipo Id de *C. hominis* tiveram diarreia normal.

Assim e de acordo com Cama *et al.* (2007), pessoas infetadas com *C. meleagridis* têm tendência a excretar menos parasitas do que indivíduos infetados com outras espécies, sugerindo que a fraca patogenicidade desta espécie esteja relacionada com a pouca excreção de ooquistos nas fezes.

Relativamente ao tipo de fezes dos doentes com HIV e infetados por *Cryptosporidium* spp, podem apresentar diarreias volumosas e secretórias. Por vezes, em casos mais graves, estas podem ser acompanhadas de cólicas, perda de peso, anorexia, mal-estar e febre baixa (Kurniawan *et al.*, 2013).

Há também evidência de que os doentes com neoplasia maligna podem ser mais suscetíveis à infeção por *Cryptosporidium*, especialmente após transplante de medula óssea, ainda que, em menor número do que pessoas infetadas com HIV (Bouziid *et al.*, 2013).

Visto que a infeção por *Cryptosporidium* constitui uma das maiores causas de diarreia em doentes com HIV, com uma prevalência de 2,76% (Badoui *et al.*, 2014), é expectável defender que a criptosporidiose é apontada como sendo uma das infeções oportunistas que causam mais preocupação em doentes imunodeprimidos, infetados com HIV (Vadlamudi *et al.*, 2013).

Num outro estudo em França, foram verificados dois casos com resultados distintos, sendo ambos doentes com criptosporidiose aguda e com doença de Crohn em simultâneo. Os resultados clínicos, evidenciaram que num dos doentes os sintomas passaram em quatro dias, contrariamente ao outro doente que, para além de contaminar

toda a família, continha sangue nas fezes e cuja diarreia persistiu, provocando desidratação (Vadlamudi *et al.*, 2013).

Nos países em desenvolvimento, devido ao estado deficitário típico das comunidades locais, os doentes com infecção por *Cryptosporidium* apresentam diarreia crónica, com perda de peso podendo resultar em danos físicos e cognitivos (Vadlsamudi *et al.*, 2013).

Constata-se assim que a infecção por *Cryptosporidium*, aproveita as fragilidades dos vários grupos, revelando-se uma infecção oportunista, não só nos doentes infetados com HIV, mas também nos restantes indivíduos imunodeprimidos.

#### **2.4- Métodos de Detecção e Diagnóstico**

Dada a gravidade da criptosporidiose, particularmente em pessoas imunodeprimidas, o diagnóstico diferencial deve ser sempre realizado caso o indivíduo manifeste diarreia aguda ou persistente. Contudo, tendo em conta a sintomatologia gastrointestinal comum a esta e a outras doenças, a confirmação de infecção por *Cryptosporidium* é garantida através de técnicas laboratoriais.

Ao longo dos anos, têm sido várias as técnicas de diagnóstico usadas para detetar *Cryptosporidium* spp., no sentido de contribuir para maximizar a vigilância da saúde pública (Kourenti *et al.*, 2007).

A padronização destas técnicas de diagnóstico, não só permite a deteção em doentes sintomáticos e assintomáticos, como proporciona uma melhor e mais adequada visão do impacto dos vários tipos de surto de *Cryptosporidium* na saúde pública (Kourenti *et al.*, 2007).

As manifestações clínicas, provenientes de microrganismos entéricos são bastante semelhantes, pelo que um diagnóstico correto e adequado é fundamental para confirmar a infecção por *Cryptosporidium*. Esta confirmação do diagnóstico possibilita o aumento da informação acerca da criptosporidiose, nomeadamente, permitindo identificar causas e efeitos. Paralelamente, o reconhecimento da doença consciencializa as populações da sua existência e riscos (Chalmers e Davies, 2010).

A criptosporidiose pode ser diagnosticada de diferentes formas e através de métodos distintos, sendo possível reuni-los em dois grandes grupos (Jex *et al.*, 2008):

- Métodos que recorrem a microscopia convencional e a ensaios imunológicos;

- Métodos de deteção específica de *Cryptosporidium*, ou de diagnóstico de criptosporidiose e de análise de variação genética.

Estas técnicas não só permitem a possibilidade de identificar corretamente o parasita, como, também, de avaliar o risco de infeção para o ser humano (Pereira *et al.*, 2009).

Os métodos microscópicos são os mais tradicionais na deteção de ooquistos de *Cryptosporidium*. Estes são efetuados através da recolha de amostras fecais, de alimentos, de água ou de um tipo de tecido biológico. O exame microscópico permite visualizar e identificar algumas características morfológicas dos ooquistos com recurso a técnicas de coloração, conseguindo diferenciar os ooquistos de criptosporidiose de outros protozoários. As técnicas de coloração diretas mais simples e económicas são: a técnica de Kinyoun, a coloração carbol-fucsina, azul metileno e a técnica de Ziehl-Neelsen (Chiuchetta, 2010).

Em indivíduos com sintomas diarreicos, é recomendado o recurso ao exame microscópio com coloração Ziehl-Neelsen. Esta técnica é utilizada como referência para o diagnóstico quantitativo da criptosporidiose, sendo sensível para a espécie *C. parvum* (O'connor *et al.*, 2011).

Relativamente à técnica de Kinyoun modificado, para além de permitir diferenciar os ooquistos de *Cryptosporidium* de leveduras ao microscópio, promove a durabilidade do esfregaço (Neto *et al.*, 1996). A obtenção de falsos positivos nesta técnica pode ser uma realidade, quando se utiliza excesso de corante ou se efetuam observações a fresco (Casemore, 1991).

Na microscopia, apesar de haver técnicas bem mais recentes, específicas e sensíveis, a coloração de Romanowsky também pode ser usada para evidenciar as formas ambientais em esfregaços da mucosa do intestino. Este é um método relativamente insensível, mas útil em caso de dúvida na morfologia (Casemore *et al.*, 1985). De uma maneira geral, estas técnicas de microscopia têm suscitado algumas críticas: revelam-se pouco específicas e pouco sensíveis, especialmente para amostras que contêm poucos ooquistos, são métodos demorados e que exigem habilidade e experiência do operador (Bouزيد *et al.*, 2013).

É importante referir que em situações onde a criptosporidiose não é muito acentuada ou até assintomática, havendo pouca excreção de ooquistos, pode ser necessário recorrer à concentração destes, para uma deteção mais fiável (Casemore, 1991). Recorre-se então a métodos de extração com formol-éter, flutuação

por gradientes de Percoll entre outros (Waldman, Tzipori, e Forsyth, 1986; Dias *et al.*, 1988; Fayer *et al.*, 2000).

Segundo Jex *et al.* (2008), apesar da utilidade da microscopia na detecção de ooquistos, esta técnica manifesta algumas limitações, pois não permite identificar espécies de *Cryptosporidium*.

No que diz respeito aos métodos imunológicos, estes podem ser mais específicos em relação aos de microscopia para a detecção de ooquistos de *Cryptosporidium*.

As técnicas de imunomarcção como, a microscopia de fluorescência e o ensaio direto de anticorpos fluorescentes, utilizam a marcação de anticorpos monoclonais, de modo a reconhecerem os epítomos na superfície do ooquisto. Estas técnicas, mais específicas, permitem uma detecção e identificação dos ooquistos de forma rápida e fácil nos esfregaços. Relativamente à sensibilidade, alguns autores defendem que esta se mantém idêntica às técnicas de coloração, sendo que, outros relatam a imunofluorescência como uma técnica mais sensível (Ramirez *et al.*, 2004; Jex *et al.*, 2008). Estes métodos são desvantajosos, pois são mais dispendiosos e têm necessidade de um microscópio de fluorescência, sendo o seu uso em laboratórios mais pequenos limitado, pois depende de custos elevados e do número de espécies analisadas diariamente (Ramirez *et al.*, 2004).

O uso do fluorocromo nuclear DAPI (4', 6-diamino-2-fenilindole dicloridrato), como marcador fluorescente é, também, utilizado em microscopia de fluorescência. Este composto liga-se a regiões ricas em adenina e timina no DNA. A fluorescência azul passa sob um filtro ultravioleta de um microscópio de epifluorescência, localizando os núcleos dos esporozoítos de *Cryptosporidium* (Jex *et al.*, 2008).

O diagnóstico imunológico de criptosporidiose pode ser, também, realizado através de ensaios imunoenzimáticos, visando detetar antigénios de *Cryptosporidium* (Jex *et al.*, 2008). Exemplos destes testes são o ELISA e os ensaios imunocromatográficos, sendo os últimos considerados uma boa alternativa (Bouzig *et al.*, 2013).

O ELISA é um método bastante específico, sendo muito eficaz e útil na análise de um grande número de amostras fecais e, por isso, bastante utilizado em estudos epidemiológicos que requerem a análise de muitas amostras (Uecker *et al.*, 2007; Collinet-Adler e Ward, 2010). Estes métodos imunoenzimáticos são técnicas mais sensíveis quando comparadas com as de microscopia. Contudo, podem suscitar interpretações subjetivas aquando da leitura da intensidade da coloração nos kits (Jex *et*

*al.*, 2008; Ramirez *et al.*, 2004). Para além disso, são menos específicos que os testes de imunofluorescência e têm sido evidenciados falso-positivos (Chalmers e Davies, 2010 ; O'connor *et al.*, 2011).

A Citometria de Fluxo também é utilizada no diagnóstico desta parasitose. É um método de deteção e enumeração de ooquistos de *Cryptosporidium*, utilizando um aparelho de deteção óptico-electrónico, que permite analisar as características dos ooquistos (Jex *et al.*, 2008).

No que diz respeito aos métodos de deteção específica ou de diagnóstico de criptosporidiose ou análise de variação genética, salientam-se o PCR e o FISH.

O método FISH é uma técnica que permite detetar especificamente ooquistos de *Cryptosporidium*. Este método, tem sondas fluorescentes que se ligam particularmente a regiões alvo no DNA ou RNA, como por exemplo a deteção de alvos específicos de RNA em células tumorais (Jex *et al.*, 2008).

A técnica de PCR, é uma técnica da biologia molecular que permite detetar espécies de *Cryptosporidium* e, em simultâneo, fazer uma análise genética que lhe permite distinguir as mesmas (Uecker *et al.*, 2007). Esta distinção é essencial, uma vez que torna possível apurar a fonte mais provável de origem e os riscos quer para a saúde humana, quer para a animal (Ramirez *et al.*, 2004). A amplificação específica por PCR tem contribuído para uma melhor compreensão de áreas como a taxonomia, epidemiologia, biologia e genética das espécies de *Cryptosporidium*. Esta técnica permite, ainda, planear melhores estratégias de prevenção, vigilância e controlo da infeção (Fayer *et al.*, 2000).

A tecnologia de PCR é uma boa alternativa ao diagnóstico convencional, tendo capacidade de detetar entre 100 a 2.000 ooquistos por grama de fezes humanas (Uppal *et al.*, 2014). Este método é vantajoso, pois oferece uma maior sensibilidade relativamente a outros métodos de deteção (O'connor *et al.*, 2011). É, também, bastante específico na deteção de pequenas quantidades de ooquistos na amostra (Chiuchetta, 2010) e é usado com alguma frequência em doentes cujo sistema imunitário está deprimido, tendo capacidade para usar amostras de fluídos ou outros tecidos biológicos (Bouزيد *et al.*, 2013). Por outro lado, a contaminação ambiental pode conduzir à inibição da reação de amplificação, bem como, a dificuldades na quantificação de DNA, devido à presença de inibidores neste tipo de amostras. Para combater esta possível limitação, usam-se muitas vezes as resinas (Pereira *et al.*, 2009). Uma das desvantagens inerentes ao PCR prende-se com o facto destes apenas estarem disponíveis em

laboratórios de referência (Vadlamudi *et al.*, 2013). É importante salientar que esta técnica permite a identificação de *Cryptosporidium* e, quando associada a outros métodos de biologia molecular, como o RFLP, possibilita identificar várias espécies ou genótipos do parasita (Collinet-Adler e Ward, 2010).

Por fim, é essencial afirmar que a sensibilidade das técnicas moleculares é uma preocupação, pois só com métodos altamente sensíveis e de rápida execução será feito um controlo de qualidade adequado e rigoroso, prevenindo assim possíveis casos de criptosporidiose (Pereira *et al.*, 2009).

## 2.5 - Tratamento Farmacológico

Até aos dias de hoje não foi encontrada qualquer terapêutica que se revele totalmente eficaz no tratamento da infeção por *Cryptosporidium*.

Os indivíduos infetados por *Cryptosporidium*, sem qualquer patologia adjacente, saudáveis portanto, raramente necessitam de instituir terapia medicamentosa, com exceção de situações mais graves e agudas. Nestes casos particulares, em que a infeção se manifesta de forma mais severa, pode haver necessidade de recorrer à administração de antidiarreicos simultaneamente à terapia de suporte, que consiste numa administração intravenosa ou oral, à base de iões de potássio, magnésio, fósforo e glucose, de forma a hidratar e repor os fluídos eletrólitos (Benson *et al.*, 2004; Ramirez *et al.*, 2004; Abubakar *et al.*, 2007).

Em doentes com o sistema imunitário deprimido, como os doentes oncológicos, doentes transplantados ou com HIV, é importante suspender a terapêutica imunossupressora, com o objetivo de reconstituir o sistema imunitário, permitindo assim melhorar a infeção (Current e Garcia, 1991).

De acordo com Ramirez *et al.* (2004), ao longo dos anos têm sido realizados vários estudos com inúmeros fármacos, embora nenhum tenha sido totalmente eficaz contra a infeção por *Cryptosporidium*. Seguidamente serão descritos alguns fármacos já estudados, bem como, qual o tipo de atividade que exercem contra este parasita.

A Nitazoxanida é um fármaco estudado nos últimos anos. É um antiparasitário com um largo espectro para protozoários e helmintas (Rossignol, 2010), sendo o único fármaco aprovado pela FDA para o tratamento da criptosporidiose em crianças e adultos (O'connor *et al.*, 2011; Domjahn *et al.*, 2014). É, também o único principio ativo que foi submetido a um programa complexo e destinado ao tratamento de doentes com esta

patologia (Rossignol, 2011). Esta substância ativa tem demonstrado reduzir a duração da diarreia e, conseqüentemente, a excreção de ooquistos, em pessoas adultas e em crianças saudáveis. Embora tenham sido vários os estudos a demonstrar esta redução, a sua segurança e eficácia não está completamente assegurada e comprovada em doentes com o sistema imunodeprimido (Ramirez *et al.*, 2004; Rossignol, 2011). Por exemplo, num doente com HIV e com criptosporidiose severa, com contagens de células TCD4<sup>+</sup> inferiores a 50, a nitazoxanida não foi efetiva. Contrariamente a estudos com doentes com contagens de células TCD4<sup>+</sup> superiores a 50, onde o fármaco se mostrou eficaz (Rossignol, 2011).

Noutro estudo na Zâmbia, este fármaco não mostrou ser eficaz em crianças com HIV e contagens baixas de células TCD4<sup>+</sup>. No entanto, em crianças malnutridas, mas sem HIV, houve melhoria dos sintomas clínicos e redução da excreção de ooquistos após o tratamento com o mesmo fármaco (Farthing, 2006).

A nível farmacocinético, após ser administrado por via oral, a nitazoxanida é metabolizada no seu metabolito ativo, a tizoxanida (Abubakar *et al.*, 2007). Este fármaco atinge uma concentração máxima de 2mg/L num intervalo de uma a quatro horas. É absorvido a partir do trato gastrointestinal, sendo que na corrente sanguínea é rapidamente hidrolisado por esterases plasmáticas. Segundo ditam alguns estudos, a tolerabilidade deste fármaco é aceitável, no entanto, estão relatados alguns efeitos adversos como dores abdominais, diarreia ou náuseas, que podem estar relacionados com a dose, uma vez que já foi evidenciado num estudo que, após administração de nitazoxanida em dose máxima (4g), os efeitos secundários aumentaram substancialmente (Fox e Saravolatz, 2005).

O recurso a antibióticos também tem sido utilizado no combate a criptosporidiose. Alguns dos vários antibióticos estudados, têm a capacidade de reduzir a magnitude dos sintomas provocados pelo parasita, no entanto nenhum tem a capacidade de o destruir por completo e de eliminar a doença (Ramirez *et al.*, 2004).

De acordo com Rossignol (2010), a Paromomicina foi o primeiro fármaco a ser testado no tratamento de indivíduos com diarreia por *Cryptosporidium* spp. Este antibiótico, que pertence ao grupo dos aminoglicosídeos, demonstrou ser pouco absorvido a partir do epitélio intestinal. Por outro lado, num estudo envolvendo 42 doentes com criptosporidiose, ficou evidenciado que, em 36, houve melhoria da diarreia após tratamento com esta substância ativa. Também num outro estudo experimental,

verificou-se que este mesmo fármaco tem tido uma atividade ligeira contra *C. parvum* (Farthing, 2006; Gargala, 2008).

Em doentes infetados com *Cryptosporidium* e com HIV, a Paromicina tem, igualmente, demonstrado reduzir o número de dejeções, com consequente aumento de peso (Kurniawan et al., 2013). Num outro ensaio clínico, com ratinhos infetados por *C. parvum* e aves infetadas por *C. baileyi*, a Paromicina mostrou reduzir a excreção de ooquistos e melhorias a nível clínico (Ramirez et al., 2004).

A atividade da Azitromicina também tem sido demonstrada em alguns estudos. Deste antibiótico, destaca-se a sua tolerância em doses baixas. Foi evidenciado em alguns estudos que este antibiótico pode induzir a remissão da infeção em determinados doentes com SIDA e com criptosporidiose crónica (Gargala, 2008).

A Roxitromicina foi igualmente alvo de investigação no combate à infeção por *Cryptosporidium*, sendo no entanto poucos os dados conhecidos relativamente ao seu efeito. Contudo, revelou resultados animadores, num estudo com 22 doentes com HIV, no qual cerca de 68,2% dos doentes curaram a infeção, 27,3% sofreram melhorias sintomáticas e apenas um dos doentes não manifestou qualquer alteração com a terapêutica imposta (Gargala, 2008).

Segundo Fichtenbaum et al. (2000), a Rifabutina também foi associada a uma redução em 50% do risco de criptosporidiose em doentes com HIV, tendo sido útil como prevenção.

Rossignol (2010) defende que o uso da terapêutica antirretroviral altamente ativa (HAART) também pode ser uma opção. Estudos demonstraram que este tratamento reduz de forma abrupta a prevalência de criptosporidiose, bem como a sua duração e severidade em doentes com HIV, particularmente, nos países desenvolvidos (Collinet-Adler e Ward, 2010). No entanto, o difícil acesso a este tratamento nos países em desenvolvimento, limita o combate à infeção por *Cryptosporidium* em indivíduos com HIV, revelando-se este facto ainda uma forte ameaça (Cama et al., 2007). Tem sido demonstrado em alguns estudos que o efeito de HAART possa estar relacionado com a recuperação da imunidade em doentes com criptosporidiose e, simultaneamente associados a transplante de órgãos, cancro, diabetes e desnutrição, para os quais a terapia antirretroviral não é indicada (Rossignol, 2010). No entanto, esta terapia não mostrou ser ainda totalmente eficaz em doentes gravemente afetados e com o sistema imunitário comprometido.

Não obstante, à exceção dos países mais carenciados, a terapia antirretroviral é, atualmente, a forma mais efetiva de controlar os sintomas de criptosporidiose, tendo também atividade na redução da frequência da mesma em doentes com HIV, de acordo com Kurniawan *et al.* (2013).

Tendo em conta que a criptosporidiose é uma doença que provoca sobretudo diarreias aquosas, é natural causar desidratação. Se esta for severa, poderá ter como consequência perda de peso e até a anorexia em alguns casos. Combater rápida e eficazmente a desidratação em determinados grupos de doentes, torna-se muito importante. A terapia depende muito do estado imunológico do doente, no entanto, é fundamental haver um equilíbrio eletrolítico (Rossignol, 2010). Por exemplo, em doentes com HIV que sofram diarreia persistente e crónica por criptosporidiose, é importante combater a desidratação repondo a perda dos fluidos e líquidos causada pela diarreia. Neste tipo de doentes, para além de ser importante beber muitos líquidos, deve haver uma terapia de suporte por administração intravenosa ou oral (Benson *et al.*, 2004; Ramirez *et al.*, 2004; Abubakar *et al.*, 2007). A glutamina ou alanil-glutamina, são alguns dos compostos utilizados, que melhoram a absorção de fluidos e eletrólitos. Para além deste efeito, a alanil-glutamina também tem potencial terapêutico contra o *C. parvum* estimulando a resposta imunitária do hospedeiro (Costa *et al.*, 2012). No que diz respeito à glutamina, ensaios experimentais em animais infetados com *Cryptosporidium*, referem que esta estimula a reabsorção de sódio no intestino delgado, contribuindo para a hidratação (Rossignol, 2010).

O ácido aurintricarboxílico aplicado como terapêutica experimental em ratinhos com *C. parvum*, diminuiu os níveis de infeciosidade sem provocar efeitos adversos (Klein, Cirioni, Giacometti e Scalise, 2008).

Segundo estudos laboratoriais em ratinhos infetados com *Cryptosporidium*, sugere-se que a administração de probióticos também possa reduzir a duração e a infeção, bem como, o número de ooquistos excretados nas fezes (Ramirez *et al.*, 2004).

De acordo com alguns estudos *in vitro*, os resultados da Curcumina têm sido animadores pois verifica-se a diminuição da infeção por *C. parvum* (Shahiduzzaman, Dyachenko, Khalafalla, Desouky e Dauschies, 2009).

Por outro lado, e num efeito totalmente contrário aos suprarreferidos, segundo Chiuchetta (2010), foi evidenciado num jovem com espondilite anquilosante e sob terapia de anticorpo monoclonal (adalimumab) a possibilidade de ocorrência de criptosporidiose.

De acordo com Costa *et al.* (2012), é importante um conhecimento aprofundado da patogénese do parasita *Cryptosporidium* quando se quer ter uma opção válida e eficaz na terapêutica desta infeção. Os estudos apontam que a prevenção é o caminho mais pertinente a seguir, uma vez que as opções terapêuticas atuais ainda não se mostraram as ideais.

Dada a prevalência deste tipo de microrganismos patogénicos a nível entérico e ao número limitado de opções de tratamento, o estímulo e incentivos constantes ao desenvolvimento de novos medicamentos parece ser bastante pertinente (Rossignol, 2010).

A ausência de um tratamento específico e eficaz para a criptosporidiose em doentes imunodeprimidos, requer investimento e pesquisa contínua no desenvolvimento de novas estratégias e tratamentos no combate desta infeção nestes doentes (O'connor *etal.*, 2011).

## **2.6 - Prevenção**

O tratamento não farmacológico passa muito pela aplicação de medidas profiláticas. Atualmente, a ausência de uma terapia eficaz na criptosporidiose reforça substancialmente a necessidade de garantir e apostar numa prevenção correta, de modo a evitar e controlar esta parasitose.

Como foi referido ao longo do trabalho, a infeção por *Cryptosporidium* inicia-se logo após a ingestão de ooquistos. Assim, a sua prevenção e controlo deverá estar relacionada com a limitação e redução de ooquistos no ambiente para evitar a sua disseminação (Ramirez *et al.*, 2004; Abubakar *et al.*, 2007), tal como ilustra a seguinte figura. Na verdade, nem sempre é fácil controlar ambientalmente os ooquistos, devido à sua resistência a múltiplos meios e fatores, bem como ao facto do *Cryptosporidium* ser um parasita ubíquo (Lobo *et al.*, 2009).

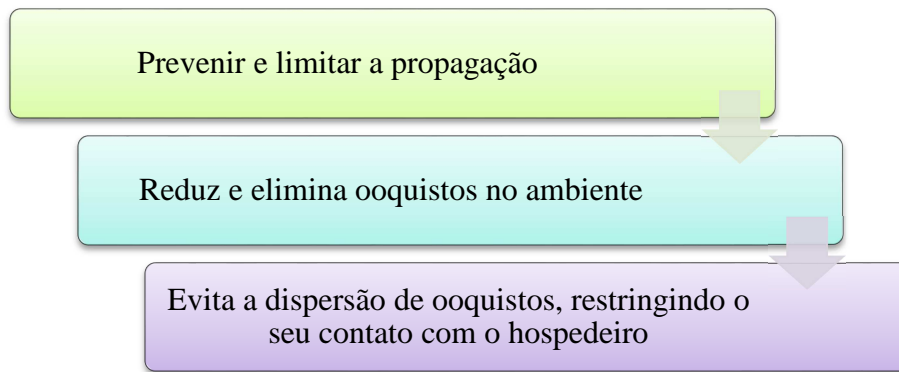


Figura 8 - Esquema da prevenção e controlo da criptosporidiose.

Uma das principais fontes de infeção humana é o abastecimento de água contaminada, sendo imprescindível a implementação de medidas profiláticas que reduzam a disseminação de *Cryptosporidium* spp. por esta via (Ramirez *et al.*, 2004).

Devido à resistência dos ooquistos aos métodos convencionais de tratamento de água, é importante recorrer à lavagem de superfícies com soluções com amónia a 5% (Ramirez *et al.*, 2004).

Por outro lado, as fezes contaminadas de crianças, animais ou adultos infetados, podem ser uma fonte de transmissão por *Cryptosporidium*, como tal, é necessário que haja uma higiene rigorosa para evitar ao máximo esta via de transmissão (Chalmers e Davies, 2010).

Outra fonte possível são os alimentos contaminados por ooquistos de *Cryptosporidium*. O tratamento adequado da água não potável e a lavagem cuidadosa de frutas e legumes devem, ser sempre medidas a adotar. De acordo com Robertson e Chalmers (2013) é possível prevenir a transmissão por bebidas ou alimentos recorrendo ao calor (pasteurização), à secagem, ao pH baixo, ao peróxido de hidrogénio, à congelação (-70°C mais eficaz do que -20) e ao ozono.

No que diz respeito às medidas de prevenção, de uma forma geral, estas destacam-se na seguinte tabela:

Tabela 3 - Medidas profiláticas gerais da criptosporidiose. (Adaptado CDC, 2010; Chalmers e Davies, 2010)

<p><b>Nos locais de diversão e atividades recreativas como as piscinas, oceanos, lagos:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evitar nadar até duas semanas após a paragem da diarreia;</li> <li>- Se uma piscina não tiver um tratamento correto e adequado, evitar a prática da natação na mesma;</li> <li>- Caso existam crianças, estas devem ir à casa de banho, frequentemente, mudar a fralda.</li> </ul>
<p><b>Adotar boas práticas de higiene:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lavar as mãos com água e sabão antes de ingerir alimentos ou bebidas;</li> <li>- Lavar as mãos após mudar fraldas a crianças, após ir à casa de banho e após mexer em animais ou fezes;</li> <li>- Evitar comer alimentos crus ou mal lavados, em particular nos países em desenvolvimento;</li> <li>- Lavar materiais sujos.</li> </ul>
<p><b>Nos locais de trabalho:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Indivíduos infetados pelo parasita devem ser excluídos do seu local de trabalho ou qualquer local ou instituição até 48 horas depois do seu último episódio;</li> <li>- Devem ser fornecidas sistemas automáticos de lavagem de mãos.</li> </ul>
<p><b>Nos infantários:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Crianças com diarreia não devem frequentar o infantário nem ter contacto com outras crianças até que a sintomatologia cesse.</li> </ul>
<p><b>Em situação de diarreia:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evitar práticas sexuais que envolvam o contacto oral-fecal, especialmente se a causa da diarreia não for conhecida.</li> </ul>
<p><b>Nas explorações pecuárias:</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evitar o contacto com as fezes de ratos ou de outros animais;</li> <li>- Usar luvas durante a limpeza das explorações.</li> </ul>

Em doentes imunodeprimidos a prevenção deve ser feita de forma especial, tendo em conta a predisposição e suscetibilidade destes grupos para contrair a infeção por *Cryptosporidium*. Assim é importante:

Tabela 4 - Medidas profiláticas da criptosporidiose em imunodeprimidos. (Adaptado de CDC, 2010; Chalmers e Davies, 2010)

- **Evitar:** o contacto próximo com animais com diarreia, como os cães ou gatos; tocar em material fecal de animais; ingerir água do mar, piscinas, lagos, lagoas.

- **Lavar as mãos frequentemente e com sabão:** antes de comer e de preparar alimentos; depois de tocar em crianças com fraldas ou alguém que esteja com diarreia; depois de tocar em animais de estimação; as crianças devem ser supervisionadas por adultos a fim de lavarem bem as mãos.

- **Praticar sexo seguro:** evitar práticas sexuais que possam resultar em exposição oral de fezes; lavar as mãos e a zona genital com água morna e sabão depois da atividade sexual.

- **Lavar e cozinhar os alimentos:** lavar bem todos os legumes, frutas, marisco, especialmente alimentos que sejam consumidos crus; não comer ou beber leite ou produtos lácteos não pasteurizados.

- **Beber água potável:** não beber água diretamente de poços, rios, nascentes, riachos; evitar beber água da torneira; evitar beber água com gelo de um refrigerador; ferver a água.

A presença de parasitas entéricos nos ecossistemas aquáticos e a sua ampla distribuição, faz com que seja importante adotar estratégias de prevenção para a água e para a segurança alimentar (Lobo *et al.*, 2009).

Determinar a incidência e prevalência de parasitas entéricos humanos, tais como *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba*, em diferentes populações é uma medida de prevenção a adotar, de modo a maximizar a informação disponível, permitindo prevenir doenças, saber as suas fontes e as causas destas (Kourenti *et al.*, 2007).

Nos países em desenvolvimento, onde não há um tratamento de água e inativação de ooquistos tão eficaz como na Europa, há que prevenir possíveis transmissões do parasita pela água, recorrendo a métodos capazes de o remover ou inativar. A fervura, filtração, floculação e desinfecção ultravioleta, são metodologias a adotar, uma vez que removem ou inativam o parasita (Peletz *et al.*, 2013). Fornecer serviços básicos como água potável, redes de saneamento e instalações sanitárias, são, igualmente, medidas a considerar nestes países, com o objetivo de, não só minimizar a

transmissão de origem alimentar e através da água, mas, também, como medida preventiva contra a criptosporidiose (Lal *et al.*, 2013).

Uma vez que os animais infetados também constituem uma fonte de infeção para o ser humano, torna-se importante considerar medidas profiláticas que reduzam a transmissão entre os animais. Deste modo, é importante limitar o número de animais fechados nas mesmas instalações, manter animais jovens separados dos adultos e minimizar o mais possível o contacto entre as pessoas e os animais infetados.

A utilização de instalações de armazenamento de estrume também deve ser uma medida a ter em conta para impedir o contacto direto do adubo com a água superficial, uma vez que, a propagação de estrume é muito frequente em pastagens e tem sido associada com a deteção de ooquistos (Ramirez *et al.*, 2004; Chalmers e Davies, 2010).

Até o momento, não existe qualquer vacina para prevenir a criptosporidiose, embora vários agentes terapêuticos tenham sido avaliados, não se revelando nenhum completamente eficaz. Deste modo, a prevenção é sem dúvida uma das abordagens mais efetivas no controlo parasitário, não obstante a impossibilidade de muitas destas medidas serem adotadas a nível mundial, por falta de condições económicas, bem como pela indisponibilidade de água potável nas comunidades mais pobres (Chalmers e Davies, 2010).

Todos os profissionais de saúde, nomeadamente os que têm contacto direto e privilegiado com as populações, devem estar cientes dos surtos e informá-las para evitar contacto próximo com qualquer fonte de infeção. É o seu dever, ainda, promover a educação das famílias sobre a prática e técnicas de higiene (Lal *et al.*, 2013; Vadlamudi *et al.*, 2013). Assim, estes profissionais desempenham também uma importante função pedagógica, ao informarem e educarem as populações. Esta competência confere-lhes um papel importantíssimo na prevenção e combate à criptosporidiose.

### **2.7- Resistência de *Cryptosporidium* spp.**

Ao longo do trabalho foi demonstrada a capacidade de resistência e sobrevivência de *Cryptosporidium* spp. em diferentes meios e ambientes, particularmente, no tratamento tradicional de água potável (floculação, sedimentação, filtração, desinfecção) de águas de recreio, como as piscinas. Esta capacidade de sobrevivência dos ooquistos de *Cryptosporidium* foi evidenciada, por exemplo, no grande surto de Milwaukee (Maura e Franco, 2007).

O cloro usado no tratamento tradicional da água é considerado insuficiente para desinfetar a água contaminada com ooquistos de *Cryptosporidium* spp. O tamanho demasiado pequeno dos ooquistos e a sua plasticidade e maleabilidade tornam difícil a eficácia da filtração e contribuem para a resistência do parasita (Collinet-Adler e Ward, 2010; Peletz *et al.* 2013).

A robustez inerente aos ooquistos de *Cryptosporidium* torna-os ainda mais resistentes na água e aos desinfetantes comuns (Weir *et al.*, 2011). De acordo com Silveira (2009), o facto do parasita ser constituído por uma parede externa muito resistente, permite-lhe sobreviver muito tempo fora do hospedeiro, seja no solo ou na água, ou até mesmo em condições de temperatura mais extremas para a sua sobrevivência. A temperatura parece ser um fator essencial para a sobrevivência do parasita no meio ambiente. Temperaturas mais elevadas aumentam a sua atividade metabólica provocando um desgaste de energia (hidratos de carbono) e diminuindo por sua vez, a sobrevivência dos ooquistos, daí ser considerada como um dos fatores mais críticos e com capacidade de regular a viabilidade de ooquistos no ambiente. Sabe-se que o aquecimento a 65°C durante 30 minutos inativa as formas infetantes. Deste modo, e tendo em conta que a sobrevivência dos ooquistos varia de acordo com a temperatura, considera-se que (Chalmers e Davies, 2010):

- Temperaturas entre 1°C e 15°C, mantêm os níveis de infeciosidade pelo menos 24 semanas;
- Temperaturas inferiores a 30°C, não afetam a persistência dos ooquistos em água;
- Temperaturas superiores a 37°C tornam os ooquistos são muito sensíveis;
- Temperaturas superiores a 40°C levam à inativação rápida dos ooquistos.

A dessecação também é um fator a considerar na resistência do parasita, pois limita a sua sobrevivência no meio ambiente, devido à excessiva secura. Assim, ooquistos acima da matriz do solo podem ser vulneráveis à dessecação (King e Monis, 2007; Semenza *et al.*, 2012a).

Outro parâmetro a ter em conta no combate à resistência de *Cryptosporidium* é a exposição solar e a luz UV. A exposição a estas luzes contribui para a redução da viabilidade de ooquistos e da sua infeciosidade. Num estudo realizado com ratinhos, a

exposição à luz solar, durante 10 horas, tornou os ooquistos não infetantes. Neste estudo, usando a exposição solar intensa durante 12 horas, houve uma redução da viabilidade de ooquistos de 98% para 0,3% (Collinet-Adler e Ward, 2010).

Relativamente à luz UV, particularmente a radiação UV-C e UV-B artificial, esta tem capacidade de diminuir a infeciosidade dos ooquistos. Também os estudos com ratinhos, demonstraram que a espécie *C. parvum* perdeu infeciosidade, após 150 minutos de exposição à luz UV. Apesar do DNA ter genes de reparação, os ooquistos não conseguem recuperar a sua infeciosidade após exposição a este tipo de luz (Collinet-Adler e Ward, 2010).

De acordo com Lale *et al.* (2013), a deficiente capacidade imunitária dos doentes imunodeprimidos também contribui para a resistência dos ooquistos, ou seja, fatores como a capacidade imunológica diminuída, aumentam a vulnerabilidade à doença, causando maior resistência ao parasita (Lal *et al.*, 2013).

Os ooquistos são bastante resistentes a ambientes húmidos e podem permanecer na água até mais que 140 dias, resistindo aos desinfetantes convencionais, no entanto, quando usados em concentrações elevadas, alguns desinfetantes são eficazes. O mesmo se verifica após um longo tempo de exposição (Ramirez *et al.*, 2004; Lobo *et al.*, 2009; Chalmers e Davies, 2010).

Ooquistos de *Cryptosporidium* são muito resistentes, mesmos em condições ambientais adversas, permanecendo durante vários meses infetantes. Esta resistência é considerada um grave problema para a indústria da água (Khaldi, Ratajczak, Gargala e Fournier, 2011; Nynke Hofstra *et al.*, 2013; Utaaker e Robertson, 2014).

Tendo em conta a resistência dos ooquistos de *Cryptosporidium* em água, têm sido desenvolvidas algumas técnicas que permitem assegurar a retenção do parasita nos sistemas de filtração de água, como por exemplo a técnica de filtração com eficiência aumentada (Sampaio, 2011).

A presença de ooquistos de *Cryptosporidium* em produtos alimentares, pode ser um problema, especialmente devido à sua robustez, que lhes confere uma maior capacidade de sobrevivência e resistência, como por exemplo, à desinfecção com cloro. Uma vez que os ooquistos aderem facilmente a superfícies e infiltram-se nos vegetais, o consumo e manipulação dos produtos alimentares mal lavados pode ser considerado um risco (Robertson e Chalmers, 2013).

## **2.8- Alterações Climáticas: consequências na doença parasitária**

Segundo Silveira (2009), as alterações climáticas “*são alterações do clima ao longo do tempo, quer sejam devido à variabilidade natural ou com resultado da atividade humana*”.

O clima nunca é constante, mas como todos podemos constatar, ao longo dos últimos anos tem sofrido variações muito significativas. Um dos efeitos mais verificados foi o aumento da temperatura global, que excedeu a variação natural dos últimos 1000 anos (Silveira, 2009).

Estas recentes alterações climáticas são “visíveis” um pouco por todo o mundo e, atualmente, de fácil constatação, mesmo em Portugal. Vêm-se, cada vez com mais assiduidade, fenómenos como o aumento da frequência de tempestades, cheias/inundações, secas, ondas de calor, aumento da temperatura do ambiente e do nível da água do mar, as estações do ano confundem-se e as suas tradicionais características desvanecem-se (Semenza *et al.*, 2012a; Silveira, 2009; Utaaker e Robertson, 2014). Naturalmente que estas sucessivas mudanças climáticas influenciam o normal funcionamento dos ecossistemas sendo, por isso, expectável que, ao longo dos próximos anos, venham a ter repercussões ao nível da saúde da população mundial.

De acordo com McMichael e Lindgren (2011), as alterações climáticas representam uma abertura de novas portas a agentes patogénicos, em diferentes áreas geográficas. Este facto permite o aparecimento de doenças infecciosas em novas regiões, onde não existia qualquer caso.

Estas variações climáticas também podem afetar a concentração de agentes patogénicos transmitidos pela água, como é o caso de *Cryptosporidium* spp, assim como contribuir para uma maior resistência ou tolerância do parasita a novos ambientes e meios (Nynke Hofstra, 2011; Semenza *et al.*, 2012a ; Utaaker e Robertson, 2014).

Deste modo, é também previsível que todas estas situações tenham impacto na saúde pública, esperando-se, por isso, um contínuo aumento da incidência de doenças infecciosas, principalmente, de doenças transmitidas pela água ou alimentos, como é o caso da criptosporidiose (Silveira, 2009; McMichael e Lindgren, 2011).

A precipitação é um dos parâmetros que está a ser influenciado pelas recentes alterações climáticas. O aumento da frequência e a intensidade das chuvas, que têm sido registados em vários países, afetando e modificando os fluxos de água para novos canais ou localizações e provocando cheias e inundações, agravam o risco de

transmissão de doenças transmitidas pela água e provocam a contaminação dos aquíferos e um maior fluxo de dejetos, piorando a qualidade da água superficial, assim como, as condições de abastecimento de água (Silveira, 2009; McMichael e Lindgren, 2011; Utaaker e Robertson, 2014).

As chuvas intensas também podem favorecer o transporte de *Cryptosporidium*, uma vez que, o escoamento de terras mobiliza os ooquistos para novos locais, aumentando o risco de criptosporidiose (Semenza *et al.*, 2012a; Lal *et al.*, 2013; Utaaker e Robertson, 2014). O aparecimento de surtos de doenças transmitidas pela água, consequentes deste tipo de acontecimentos, é já uma realidade. Por exemplo (Lal *et al.*, 2013; Utaaker e Robertson, 2014):

- Nos EUA, as chuvas intensas registadas, levaram a um aumento significativo na quantidade de ooquistos presentes no Rio Delaware. Esta situação teve consequências para a saúde pública, provocando o aparecimento de surtos de doenças transmitidas pela água nos meses seguintes ao ocorrido;
- Na Nova Zelândia, têm sido relatados casos de criptosporidiose associados a precipitações intensas;
- Em Inglaterra, os picos de criptosporidiose, na primavera foram associados à precipitação, com um aumento de 27% na incidência na semana posterior à chuva;
- Na Austrália, períodos de seca prolongados e o aumento da temperatura ambiental sugerem um aumento da incidência da criptosporidiose;
- Na Zâmbia, o pico de infeções por *Cryptosporidium* é associado ao início da estação da chuva.

No que diz respeito à UE, as boas condições de saneamento e abastecimento de água existentes, aliadas ao baixo risco de infeção humana, ainda não inspiram grandes preocupações no impacto da mudança de clima para a saúde pública, razão pela qual o seu estudo e investigação na Europa tem sido negligenciado e descurado. Contudo, na Europa de Leste, contrariamente ao resto do continente europeu, existe alguma apreensão devido à existência de certas restrições no acesso à água potável em casa (Silveira, 2009). Semenza *et al.* (2012) defende que a comunidade europeia vai ser influenciada pelo aumento da temperatura e pela mudança dos padrões de precipitação, nas doenças infecciosas, em particular nas transmitidas por água. O mesmo autor afirma,

ainda, que a frequência e a intensidade das chuvas nas regiões do Norte de Europa pode levar à presença de *Cryptosporidium* nos sistemas de tratamento e distribuição de água.

A escassez de estudos publicados em Portugal, particularmente em relação à criptosporidiose, é uma lacuna bem evidente, como já foi referido. A dificuldade em prever o impacto das alterações climáticas na criptosporidiose está, também, relacionada com o défice de informação e de notificação desta doença no nosso país (Semenza *et al.*, 2012). Não obstante em Portugal, segundo Silveira (2009), o principal fator de risco climático para o aumento de surtos por *Cryptosporidium* parece ser o aumento da temperatura.

As secas são outra consequência das alterações climáticas. A ocorrência cada vez mais frequente deste tipo de episódios, pode ter efeitos contrários na criptosporidiose. Isto é, se por um lado a menor quantidade e fluxo de água provoca uma diminuição das infeções, por outro, agrava a má higiene, aumentando o risco de infeção (Utaaker e Robertson, 2014).

A temperatura da água é, também, um fator a ter em conta (Bezirtzoglou *et al.*, 2011; Nynke Hofstra, 2011). De acordo com Nynke Hofstra (2011), o aumento da temperatura da água pode levar à inativação dos parasitas, como *Cryptosporidium*, diminuindo o risco para o homem (Nynke Hofstra, 2011).

Os aquíferos são uma importante fonte de água potável, no entanto, têm a desvantagem de serem bastante vulneráveis à contaminação de microrganismos patogénicos. Têm sido associados surtos de criptosporidiose, consequentes da precipitação intensa gerar escoamento, e por conseguinte, contaminar os aquíferos com parasitas patogénicos transmitidos pela água (Khaldi *et al.*, 2011).

Todos os dados e estudos apresentados ao longo deste trabalho, sugerem ser de extrema importância a existência de um estudo detalhado, com conhecimento mais sério e aprofundado sobre a dinâmica das doenças transmitidas pela água, bem como a sua relação com o clima e com as alterações ambientais no planeta.

Na área da saúde é fulcral promover a investigação e a formação dos seus profissionais, encarando temas, como este, de forma séria e cuidada (McMichael e Lindgren, 2011).

Assim sendo, a população mundial e a comunidade científica deve compreender melhor a epidemiologia de doenças como a criptosporidiose, de forma a conseguir antecipar e prevenir o efeito deste tipo de acontecimentos sobre a saúde mundial (Shuman, 2011).

Por fim, de referir que as alterações climáticas e o seu impacto na transmissão de infeções humanas são encaradas, atualmente, como um novo desafio para a ciência, sendo cada vez mais importante promover a sua investigação correlacionando-a com a criptosporidiose (Silveira, 2009; Bezirtzoglou *et al.*, 2011; McMichael e Lindgren, 2011; Semenza, Herbst, *et al.*, 2012b).



### **3- Conclusão**

*Cryptosporidium* inclui parasitas com capacidade de infectar as células epiteliais, podendo originar a doença - criptosporidiose. A sua importância revelou-se sobretudo com o aparecimento da SIDA, nos anos 80.

Criptosporidiose é uma parasitose emergente, espalhada por todo o mundo que coloca em risco, sobretudo as populações mais desfavorecidas e carenciadas sendo, por isso, encarada como um questão séria para a saúde pública.

A constante evolução da tecnologia permite a identificação de novas espécies no género *Cryptosporidium*, bem como a alteração frequente dos seus critérios de inclusão. Assim, a taxonomia, nem sempre é certa, podendo sofrer alterações ao longo dos anos. A abordagem das várias fases das espécies de *Cryptosporidium* pode ser uma ferramenta essencial para o trabalho dos profissionais de saúde, permitindo-lhes responder de forma rápida e eficaz na patologia e virulência das várias espécies, bem como, aferir o seu potencial risco para a saúde pública. Este tipo de conhecimento poderá ter um importante protagonismo no desenvolvimento de vacinas e de novos métodos de diagnóstico através de técnicas de biologia molecular, na medida em que possibilita o estudo da distribuição do parasita e a sua relação com determinadas regiões, permitindo caracterizar a dinâmica de transmissão de doenças, bem como, os próprios agentes patogénicos.

Considera-se, igualmente importante, o esclarecimento da posição do parasita dentro do filo, na medida em que este conhecimento permite direcionar para novas estratégias experimentais, quer ao nível da deteção imunológica, quer da produção de novos fármacos com maior especificidade.

A falta ou a desadequada higiene, os animais domésticos, as águas e alimentos contaminados podem conduzir à infeção humana por *Cryptosporidium*. Apesar das várias formas de transmissão, a via hídrica é considerada uma das principais vias de transmissão de ooquistos infetantes.

A criptosporidiose manifesta-se de diferentes formas consoante o grupo de indivíduos que afeta, podendo apresentar sintomas gastrointestinais ligeiros ou severos, extra-intestinais ou até ser assintomática. A severidade da doença está relacionada com a imunidade do indivíduo, manifestando nos doentes imunodeprimidos, em particular nos oncológicos, com HIV ou transplantados, bem como, nos idosos e nas crianças, sintomas mais severos e uma maior progressão da doença.

Não obstante a ubiquidade do parasita, a infeção humana por *Cryptosporidium* é mais prevalente em países em desenvolvimento, onde há baixas condições higiénico-sanitárias, pobreza e falta de informação e prevenção.

Também a falta de notificação, em muitos países, não permite estabelecer um panorama ideal e fidedigno da criptosporidiose, como é o caso de Portugal, o que dificulta o estudo da epidemiologia, a adoção de medidas preventivas e o estabelecimento da dualidade causa-efeito. Deste modo, a implementação de normas e regulamentos de notificação da doença, beneficiariam a sua prevenção e consequentemente a saúde pública.

Também o recente aumento da deslocação de pessoas, consequência da emigração e do turismo, possibilita a disseminação de *Cryptosporidium*, estabelecendo novas rotas de transmissão para novos locais, o que constitui uma preocupação.

Não existindo, ainda, um protocolo de referência, a hidratação, os antidiarreicos e a terapia de suporte são importantes formas de tratamento. Nos doentes cuja evolução da infeção se revela mais severa, exigindo, por isso, uma terapêutica mais efetiva, alguns fármacos têm sido experimentados, com particular destaque para a nitazoxanida. Este fármaco tem demonstrado reduzir a duração da diarreia e, consequentemente a excreção de ooquistos em pessoas adultas e em crianças saudáveis, embora a sua segurança e eficácia não estejam completamente asseguradas e comprovadas.

Muito embora tenham sido descritos vários fármacos, a prevenção considera-se ainda como a melhor forma de combater esta parasitose, nomeadamente em imunodeprimidos e em locais que privilegiem a sua transmissão, como é o caso de piscinas, centros de saúde, escolas e lares de terceira idade.

De referir que as alterações climáticas registadas nos últimos anos, têm tido repercussões ao nível da infeção por *Cryptosporidium*, em particular as chuvas intensas e inundações, que mobilizam ooquistos para novas regiões.

Durante a elaboração deste trabalho, constatou-se, inequivocamente, que as populações mais desfavorecidas e os grupos político-económicos menos influentes, como é o caso das crianças e dos idosos, são os grupos onde a prevalência desta parasitose mais se faz sentir. Poder-se-á então questionar:

- Será que as instituições político-económicas, relacionadas com a indústria farmacêutica, têm manifestado o devido interesse na investigação da criptosporidiose?

- Porque não se verifica grande investimento por parte das instituições na criação de estímulos e incentivos à investigação desta patologia, nomeadamente na criação de regras precisas, de que é exemplo a notificação ou a criação de uma vacina profilática?

Seja qual for a resposta a estas questões, uma certeza parece óbvia, a vacinação nos grupos de risco referidos, seria uma das medidas mais eficazes no combate à infeção por *Cryptosporidium*, pelo que a investigação farmacológica, neste sentido, deveria ser desenvolvida. Paralelamente, numa perspetiva do controlo da disseminação da doença, a notificação dos casos, o correto saneamento e adequado tratamento das águas, bem como, a implementação de regras de higiene nos humanos, nos animais e nos alimentos, assim como, o controlo do transporte e deslocação de animais, nomeadamente os exóticos agora tão em voga, parecem ser estratégias a estudar e adotar.

Por fim, mas não menos importante é o papel do farmacêutico comunitário, no duplo sentido de, por um lado exercer uma ação pedagógica junto da população em geral e dos doentes em particular, informando-os e alertando-os para a criptosporidiose e para as estratégias preventivas e, por outro, reportar os surtos de infeção de que têm conhecimento, junto das entidades competentes.



**Bibliografia**

- Abubakar, I., Aliyu, S. H., Arumugam, C., Usman, N. K., e Hunter, P. R. (2007). Treatment of cryptosporidiosis in immunocompromised individuals: systematic review and meta-analysis. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 63(4), 387–93. doi:10.1111/j.1365-2125.2007.02873.x
- Almeida, A., Joao, M., Soares, S., Delgado, M. D. L., e Figueiredo, J. (2010). Presence of *Cryptosporidium* spp . and *Giardia duodenalis* in Drinking Water Samples in the North of Portugal, 48(1), 43–48. doi:10.3347/kjp.2010.48.1.43
- Almeida, A., Moreira, M. J., Soares, S., de Lurdes Delgado, M., Figueiredo, J., Magalhães, E. S., ... Correia da Costa, J. M. (2010). Biological and genetic characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* isolates from five hydrographical basins in northern Portugal. *The Korean Journal of Parasitology*, 48(2), 105–11. doi:10.3347/kjp.2010.48.2.105
- Alves, M., Xiao, L., Sulaiman, I., Lal, A. a, Matos, O., e Antunes, F. (2003). Subgenotype analysis of *Cryptosporidium* isolates from humans, cattle, and zoo ruminants in Portugal. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(6), 2744–7. doi:10.1128/JCM.41.6.2744
- Badoui, L., Dabo, G., Lamdini, H., Lahcen, a, Sodqi, M., Marih, L., ... El Filali, K. (2014). Intestinal cryptosporidiosis in HIV-infected patients in the department of infectious diseases. *BMC Infectious Diseases*, 14(Suppl 2), P52. doi:10.1186/1471-2334-14-S2-P52
- Benson, C. ., E.K., J., Masur, H., Pau, A., e Holmes, K. (2004). Treating Opportunistic Infections Among HIV-Infected Adults and Adolescents. [Consultado a 08-09-14]. Disponível em <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5315a1.htm>
- Betancourt, W. Q., Duarte, D. C., Vásquez, R. C., e Gurian, P. L. (2014). *Cryptosporidium* and *Giardia* in tropical recreational marine waters contaminated with domestic sewage: Estimation of bathing-associated disease risks. *Marine Pollution Bulletin*, 85(1), 268–273. doi:10.1016/j.marpolbul.2014.05.059

- Bezirtzoglou, C., Dekas, K., e Charvalos, E. (2011). Anaerobe Climate changes , environment and infection: Facts , scenarios and growing awareness from the public health community within Europe. *Anaerobe*, 17(6), 337–340. doi:10.1016/j.anaerobe.2011.05.016
- Borges, J., Alves, L., e Faustino, M. (2007). Criptosporidiose: uma Revisão sobre a sua implicação na conservação dos mamíferos aquáticos, 7, 91–96.
- Boulter-Bitzer, J. I., Lee, H., e Trevors, J. T. (2007). Molecular targets for detection and immunotherapy in *Cryptosporidium parvum*. *Biotechnology Advances*, 25(1), 13–44. doi:10.1016/j.biotechadv.2006.08.003
- Bouid, M., Hunter, P. R., Chalmers, R. M., e Tyler, K. M. (2013). *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1), 115–34. doi:10.1128/CMR.00076-12.
- Cama, V. a, Bern, C., Roberts, J., Cabrera, L., Sterling, C. R., Ortega, Y., ... Xiao, L. (2008). *Cryptosporidium* species and subtypes and clinical manifestations in children, Peru. *Emerging Infectious Diseases*, 14(10), 1567–1574. doi:10.3201/eid1410.071273
- Cama, V. a, Ross, J. M., Crawford, S., Kawai, V., Chavez-Valdez, R., Vargas, D., ... Xiao, L. (2007). Differences in clinical manifestations among *Cryptosporidium* species and subtypes in HIV-infected persons. *The Journal of Infectious Diseases*, 196(5), 684–691. doi:10.1086/519842
- Casemore, D. P. (1991). ACP Broadsheet 128: junho 1991. Laboratory methods for diagnosing cryptosporidiosis. *Journal of Clinical Pathology*, 44(6), 445–51. Disponível em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=496821&tool=pmcentrez&ndertype=abstract>

- Casemore, D. P., Armstrong, M., e Sands, R. L. (1985). Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *Journal of Clinical Pathology*, 38(12), 1337–41. Disponível em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=499488&tool=pmcentrez&ndertype=abstract>
- Centers for Disease Control and Prevention. 2010. Prevention e Control of Cryptosporidiosis. [Consultado a 08-09-14]. Disponível em [http://www.cdc.gov/parasites/crypto/gen\\_info/prevent\\_ic.html](http://www.cdc.gov/parasites/crypto/gen_info/prevent_ic.html)
- Centers for Disease Control and Prevention. 2010. Prevention e Control of Cryptosporidiosis. [Consultado a 10-09-14]. Disponível em <http://www.cdc.gov/parasites/crypto/biology.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. 2010. Prevention e Control of Cryptosporidiosis. [Consultado a 20-09-14]. Disponível em <http://www.cdc.gov/parasites/crypto/prevention.html>
- Chalmers, R. M., e Davies, A. P. (2010). Minireview: clinical cryptosporidiosis. *Experimental Parasitology*, 124(1), 138–46. doi:10.1016/j.exppara.2009.02.003
- Chalmers, R. M., e Katzer, F. (2013). Looking for Cryptosporidium: the application of advances in detection and diagnosis. *Trends in Parasitology*, 29(5), 237–251. doi:10.1016/j.pt.2013.03.001
- Chiuchetta, F. A. (2010). Criptosporidiose em paciente com espondilite anquilosante usando adalimumabe, 50(3), 328–330.
- Clemente, C. M., Caramori, C. A., Padula, P., Aparecida, M., e Rodrigues, M. (2000). Relato de Casos / Case Reports Gastric Cryptosporidiosis AS A, (3), 180–182.
- Collinet-Adler, S., e Ward, H. D. (2010). Cryptosporidiosis: environmental, therapeutic, and preventive challenges. *European Journal of Clinical Microbiology e Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 29(8), 927–35. doi:10.1007/s10096-010-0960-9

- Cristino, J. a. G. M., Isabel, M., Carvalho, P., e José Salgado, M. (1988). An outbreak of cryptosporidiosis in a hospital day-care centre. *Epidemiology and Infection*, 101(02), 355. doi:10.1017/S0950268800054297
- Current, W. L., e Garcia, L. S. (1991). Cryptosporidiosis, 4(3). doi:10.1128/CMR.4.3.325
- Delgado, E., Fonseca, I. P., Fazendeiro, M. I., Matos, O., Antunes, F., e Barão, M. (2003). Estudo preliminar da criptosporidiose nos ruminantes silváticos do Jardim Zoológico de Lisboa A preliminary study of criptosporidiosis in ruminants from the Lisbon Zoo, 98, 39–42.
- Deng, M., Rutherford, M. S., e Abrahamsen, M. S. (2004). Host intestinal epithelial response to *Cryptosporidium parvum*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(6), 869–884. doi:10.1016/j.addr.2003.10.034
- Dias, R. M., Mangini, a C., Torres, D. M., Corrêa, M. O., Lupetti, N., Corrêa, F. M., e Chieffi, P. P. (1988). Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) in the county of São Paulo, Brazil. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 30(4), 310–2. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3241947>
- Domjahn, B. T., Hlavsa, M. C., Anderson, B., Schulkin, J., Leon, J., e Jones, J. L. (2014). A Survey of U . S . Obstetrician-Gynecologists Clinical and Epidemiological Knowledge of Cryptosporidiosis in Pregnancy, 356–363. doi:10.1111/zph.12078.
- Escobar, C. G., Silva, T., Costa, B., Oliveira, M., Correia, P., Ferreira, G. C., ... Fernando, D. (2012). Gastroenterite aguda em crianças internadas na área de Lisboa, 4, 155–162.
- Farthing, M. J. G. (2006). Treatment options for the eradication of intestinal protozoa. *Nature Clinical Practice. Gastroenterology e Hepatology*, 3(8), 436–445. doi:10.1038/ncpgasthep0557

- Fayer, R. (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Experimental Parasitology*, 124(1), 90–97. doi:10.1016/j.exppara.2009.03.005
- Fayer, R., Morgan, U., e Upton, S. J. (2000). Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification, 30.
- Fayer, R., Santín, M., e Macarasin, D. (2010). *Cryptosporidium ubiquitum* n. sp. in animals and humans. *Veterinary Parasitology*, 172(1-2), 23–32. doi:10.1016/j.vetpar.2010.04.028
- Feng, Y., Li, N., Duan, L., e Xiao, L. (2009). *Cryptosporidium* genotype and subtype distribution in raw wastewater in Shanghai, China: evidence for possible unique *Cryptosporidium hominis* transmission. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(1), 153–157. doi:10.1128/JCM.01777-08
- Feng, Y., Wang, L., Duan, L., Gomez-puerta, L. A., Zhang, L., Zhao, X., ... Zhang, N. (2012). Outbreak of Cryptosporidiosis in a Pediatric, 18(2), 59–61.
- Fournet, N., Deege, M. P., Urbanus, a T., Nichols, G., Rosner, B. M., Chalmers, R. M., ... Kortbeek, L. M. (2013). Simultaneous increase of *Cryptosporidium* infections in the Netherlands, the United Kingdom and Germany in late summer season, 2012. *Euro Surveill*, 18(2), 3–7. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23324424>
- Fox, L. M., e Saravolatz, L. D. (2005). Nitazoxanide: a new thiazolide antiparasitic agent. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 40(8), 1173–1180.
- Fraser, G., Gomes Dias, J., Hrubá, F., e Albu, C. (2013). *Annual epidemiological report Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data.*
- Fraser, G., e Spiteri, G. (2011). *Annual epidemiological report Reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data.*

- Gargala, G. (2008). Drug treatment and Novel Drug target against Cryptosporidium, (August), 275–281.
- Graczyk, T. K., Knight, R., e Tamang, L. (2005). Mechanical Transmission of Human Protozoan Parasites by Insects Mechanical Transmission of Human Protozoan Parasites by Insects, *18*(1). doi:10.1128/CMR.18.1.128
- Hlavsa, M., Park, J., Tillapaw, M., Parrish, M., Salehi, E., Franks, W., ... Jones, J. L. (2006). Cryptosporidiosis Associated with Ozonated Apple Cider, *12*(4), 2–4.
- Hofstra, N. (2011). Quantifying the impact of climate change on enteric waterborne pathogen concentrations in surface water. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, *3*(6), 471–479. doi:10.1016/j.cosust.2011.10.006
- Hofstra, N., Bouwman, a F., Beusen, a H. W., e Medema, G. J. (2013). Exploring global Cryptosporidium emissions to surface water. *The Science of the Total Environment*, *442*, 10–9. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.10.013
- Hoxie, N. J., Davis, J. P., Vergeront, J. M., Nashold, R. D., e Blair, K. a. (1997). Cryptosporidiosis-associated mortality following a massive waterborne outbreak in Milwaukee, Wisconsin. *American Journal of Public Health*, *87*(12), 2032–5. Disponível em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1381251&tool=pmcentrez&endertype=abstract>.
- Jex, a R., Smith, H. V, Monis, P. T., Campbell, B. E., e Gasser, R. B. (2008). Cryptosporidium--biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotechnology Advances*, *26*(4), 304–17. doi:10.1016/j.biotechadv.2008.02.003
- Júlio, C., Ferreira, I., Martins, S., Sá, C., Ângelo, H., Guerreiro, J., e Tenreiro, R. (2010). Towards a risk assessment for Giardia sp. and Cryptosporidium sp. in Portuguese fluvial beaches: a seasonal sampling over two years, 6.

- Júlio, C., e Oleastro, M. (2014). Infecções gastrintestinais parasitárias em doentes sintomáticos: estudo observacional, setembro-novembro 2012, 37–40.
- Khaldi, S., Ratajczak, M., Gargala, G., e Fournier, M. (2011). Intensive exploitation of a karst aquifer leads to *Cryptosporidium* water supply contamination. *Water Research*, 45(9), 2906–2914. doi:10.1016/j.watres.2011.03.010
- Klein, P., Cirioni, O., Giacometti, A., e Scalise, G. (2008). In vitro and in vivo activity of aurintricarboxylic acid preparations against *Cryptosporidium parvum*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62(5), 1101–4. doi:10.1093/jac/dkn303
- Kothavade, R. J. (2011). Challenges in understanding the immunopathogenesis of *Cryptosporidium* infections in humans. *European Journal of Clinical Microbiology e Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 30(12), 1461–72. doi:10.1007/s10096-011-1246-6
- Kourenti, C., Karanis, P., e Smith, H. (2007). Waterborne transmission of protozoan parasites: A worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *Journal of Water and Health*, 5(1), 1. doi:10.2166/wh.2006.002
- Kurniawan, A., Dwintasari, S. W., Connelly, L., Nichols, R. a B., Yuniastuti, E., Karyadi, T., e Djauzi, S. (2013). *Cryptosporidium* species from human immunodeficiency-infected patients with chronic diarrhea in Jakarta, Indonesia. *Annals of Epidemiology*, 23(11), 720–3. doi:10.1016/j.annepidem.2013.07.019
- Lal, A., Baker, M. G., Hales, S., e French, N. P. (2013). Potential effects of global environmental changes on cryptosporidiosis and giardiasis transmission. *Trends in Parasitology*, 29(2), 83–90. doi:10.1016/j.pt.2012.10.005
- Lassen, B., Ståhl, M., e Enemark, H. L. (2014). Cryptosporidiosis - an occupational risk and a disregarded disease in Estonia. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56, 36. doi:10.1186/1751-0147-56-36

- Leav, B. A., Mackay, M., e Ward, H. D. (2003). *Cryptosporidium* Species: New Insights and Old Challenges, 36.
- Li, N., Xiao, L., Alderisio, K., Elwin, K., Cebelinski, E., Chalmers, R., ... Feng, Y. (2014). Subtyping a Zoonotic Pathogen Emerging in Humans, *20*(2), 217–224.
- Lobo, M. L., Xiao, L., Antunes, F., e Matos, O. (2009). Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* genotypes and subtypes in raw and treated water in Portugal. *Letters in Applied Microbiology*, *48*(6), 732–7. doi:10.1111/j.1472-765X.2009.02605.x
- Maria, Y., Albuquerque, M. De, Cristina, M., Silva, F., Luiza, A., Andrade, M. De, e Magalhães, V. (2012). Criptosporidiose pulmonar em pacientes com AIDS, uma doença subdiagnosticada, 530–532.
- Maura, R., e Franco, B. (2007). Protozoários de veiculação hídrica: relevância em saúde pública Waterborne Protozoa: relevance in public health, *9*(4), 36–43.
- McMichael, a J., e Lindgren, E. (2011). Climate change: present and future risks to health, and necessary responses. *Journal of Internal Medicine*, *270*(5), 401–13. doi:10.1111/j.1365-2796.2011.02415.x
- Meliço-S. A., Barros, H., e Taveira, N. (2014). Microbiologia Médica: Fundamentos de Microbiologia, Conceitos Básicos da Resposta Imunológica, Princípios do Diagnóstico Médico, Bacteriologia. In Lidel (pp.52-55,73). Lisboa, Portugal.
- Melo, P. C., Teodosio, J., Reis, J., Duarte, A., Costa, J. C., e Fonseca, I. P. (2006). *Cryptosporidium* spp. in freshwater bivalves in Portugal. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, *53 Suppl 1*, S28–9. doi:10.1111/j.1550-7408.2006.00164.x
- Ng-Hublin, J. S. Y., Combs, B., Mackenzie, B., e Ryan, U. (2013). Human cryptosporidiosis diagnosed in Western Australia: a mixed infection with *Cryptosporidium meleagridis*, the *Cryptosporidium* mink genotype, and an unknown *Cryptosporidium* species. *Journal of Clinical Microbiology*, *51*(7), 2463–5. doi:10.1128/JCM.00424-13

- O'connor, R. M., Shaffie, R., Kang, G., e Ward, H. D. (2011). Cryptosporidiosis in patients with HIV/AIDS. *AIDS (London, England)*, 25(5), 549–60. doi:10.1097/QAD.0b013e3283437e88
- O'Hara, S. P., e Chen, X.-M. (2011). The cell biology of cryptosporidium infection. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 13(8-9), 721–30. doi:10.1016/j.micinf.2011.03.008
- Peletz, R., Mahin, T., Elliott, M., Montgomery, M., e Clasen, T. (2013). Preventing cryptosporidiosis: the need for safe drinking water. *Bulletin of the World Health Organization*, 91(4), 238–8A. doi:10.2471/BLT.13.119990
- Pereira, J. ., Socool, V. T., Costa, A. O., Castro, E. ., Osaki, S. C., e Paulino, R. C. (2009). *Cryptosporidium* spp. : para controlar é necessário conhecer, 13–25.
- Ramirez, N. E., Ward, L. a., e Sreevatsan, S. (2004). A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes and Infection*, 6(8), 773–785. doi:10.1016/j.micinf.2004.02.021.
- Regina, C., Pereira, A., e Ferreira, A. P. (2010). Ocorrência e fatores de risco da criptosporidiose em felinos de companhia de idosos, 681–691.
- Riggs, M. W. (2002). Recent advances in cryptosporidiosis: The immune response. *Microbes and Infection*, 4(10), 1067–1080.
- Robertson, L. J., e Chalmers, R. M. (2013). Foodborne cryptosporidiosis: is there really more in Nordic countries? *Trends in Parasitology*, 29(1), 3–9. doi:10.1016/j.pt.2012.10.003.
- Rose, J. B., Huffman, D. E., e Gennaccaro, A. (2002). Risk and control of waterborne cryptosporidiosis. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(2), 113–123.
- Rossignol, J. F. (2010). Cryptosporidium and Giardia: Treatment options and prospects for new drugs. *Experimental Parasitology*, 124(1), 45–53. doi:10.1016/j.exppara.2009.07.005

- Sampaio, C. D. F. (2011). Cryptosporidium e Giardia: desafios em águas de abastecimento público Cryptosporidium and Giardia: challenges in public water supplies, 91–96.
- Semenza, J. C., Herbst, S., Rechenburg, A., Suk, J. E., Höser, C., Schreiber, C., e Kistemann, T. (2012a). Climate Change Impact Assessment of Food- and Waterborne Diseases. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 42(8), 857–890. doi:10.1080/10643389.2010.534706
- Semenza, J. C., Herbst, S., Rechenburg, A., Suk, J. E., Höser, C., Schreiber, C., e Kistemann, T. (2012b). Climate Change Impact Assessment of Food- and Waterborne Diseases. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 42(8), 857–890. doi:10.1080/10643389.2010.534706
- Shahiduzzaman, M., Dyachenko, V., Khalafalla, R. E., Desouky, a Y., e Dauschies, a. (2009). Effects of curcumin on Cryptosporidium parvum in vitro. *Parasitology Research*, 105(4), 1155–61. doi:10.1007/s00436-009-1535-5
- Shuman, E. K. (2011). Global climate change and infectious diseases. *The International Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 2(1), 11–9. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23022814>
- Silva, S., Pereira, S., Gouveia, Y. D. S., Oliveira, N. De, Elizabeth, M., Monteiro, R., ... Roberto, J. (2003). Ocorrência de Cryptosporidium sp em amostras fecais de crianças , menores de 10 anos de idade , com indicação clínica de Rotavírus Occurrence of Cryptosporidium sp in fecal samples of children less than 10 years old with clinical indication of Rotavirus, 36(3), 421–423.
- Silveira, H. (2009). Alterações climáticas na Europa: efeito nas doenças parasitárias humanas, 27, 71–86.
- Smith, H. V, e Nichols, R. a B. (2010). Cryptosporidium: detection in water and food. *Experimental Parasitology*, 124(1), 61–79. doi:10.1016/j.exppara.2009.05.014

- Strausbaugh, L. J. (2001). Emerging health care-associated infections in the geriatric population. *Emerging Infectious Diseases*, 7(2), 268–71. doi:10.3201/eid0702.700268
- Uecker, M., Copetti, C. E., Poleze, L., e Flores, V. (2007). Infecções parasitárias: diagnóstico imunológico de enteroparasitoses \*, 39(1), 15–19.
- Uppal, B., Singh, O., Chadha, S., e Jha, A. K. (2014). A comparison of nested PCR assay with conventional techniques for diagnosis of intestinal cryptosporidiosis in AIDS cases from northern India. *Journal of Parasitology Research*, 2014, 706105. doi:10.1155/2014/706105
- Utaaker, K. S., e Robertson, L. J. (2014). Climate change and foodborne transmission of parasites: A consideration of possible interactions and impacts for selected parasites. *FRIN*. doi:10.1016/j.foodres.2014.06.051
- Vadlamudi, N., Maclin, J., Dimmitt, R. a, e Thame, K. a. (2013). Cryptosporidial infection in children with inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's e Colitis*, 7(9), e337–43. doi:10.1016/j.crohns.2013.01.015.
- Waldman, E., Tzipori, S., e Forsyth, J. R. (1986). Separation of Cryptosporidium species oocysts from feces by using a percoll discontinuous Separation of Cryptosporidium Species Oocysts from Feces by Using a Percoll Discontinuous Density Gradient, 23(1), 199–201.
- Wd, J., Rm, D., Wd, F., Goodman, M., An, H., Holtgrave, D., e Malow, R. (2008). Behavioral interventions to reduce risk for sexual transmission of HIV among men who have sex with men ( Review ), (3).
- Weir, M. H., Tereza, M., Razzolini, P., Rose, J. B., Masago, Y., e Carlo, M. (2011). Water reclamation redesign for reducing Cryptosporidium risks at a recreational spray park using stochastic models. *Water Research*, 45(19), 6505–6514. doi:10.1016/j.watres.2011.09.047

Xiao, L. (2009). Overview of *Cryptosporidium* presentations at the 10th International Workshops on Opportunistic Protists. *Eukaryotic Cell*, 8(4), 429–36. doi:10.1128/EC.00295-08

Xiao, L. (2010). Experimental Parasitology Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: An update. *Experimental Parasitology*, 124(1), 80–89. doi:10.1016/j.exppara.2009.03.018

Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U., e Upton, S. J. (2004). *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health, 17(1). doi:10.1128/CMR.17.1.72