



EMERGÊNCIA DA CRIPTOSPORIDIOSE E IMPACTOS NA SAÚDE HUMANA E ANIMAL

Darling Mélangy de Carvalho Madrid¹, Thiago Souza Azeredo Bastos², Valéria de Sá Jayme³

1 Médica Veterinária, mestranda em Ciência Animal pela Universidade Federal de Goiás (UFG). Câmpus Samambaia. Goiânia-GO. E-mail: melanymadrid@gmail.com

2 Médico Veterinário, doutorando em Ciência Animal pela Universidade Federal de Goiás (UFG). Câmpus Samambaia. Goiânia-GO.

3 Professora Doutora do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Federal de Goiás.

Recebido em: 08/09/2015 – Aprovado em: 14/11/2015 – Publicado em: 01/12/2015
DOI: http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_150

RESUMO

Criptosporidiose é uma parasitose emergente no Brasil e no mundo, classificada como uma das principais causas de diarreia em adultos e crianças. Sua importância deve-se principalmente ao fato de ter uma ampla variedade de hospedeiros e pelo seu potencial zoonótico. Além disto, a forma infectante do agente, *Cryptosporidium* spp., possui alta resistência ambiental, viabilizando contaminação de alimentos, corpos d'água e solo e possibilitando surtos em alta escala acarretando em prejuízos econômicos e sociais. A subnotificação, falta de tratamento eficaz e baixa utilização de métodos de controle eficientes dificultam a implantação de medidas preventivas, visando diminuir o impacto da doença.

PALAVRAS-CHAVE: Criptosporidiose, doença emergente, parasitose, zoonose

CRYPTOSPORIDIOSIS EMERGENCE AND IMPACTS ON HUMAN AND ANIMAL HEALTH

ABSTRACT

Cryptosporidiosis is an emerging parasitosis in Brazil and in the world, known as one of the major causes of diarrhoea in adults and children. Its importance is mainly due to its wide array of hosts and its potential as a zoonoses. Furthermore, the infective form of the agent, *Cryptosporidium* spp., is highly resistant in the environment, enabling food, water and soil contamination and thus potentially causing large outbreaks and massive economical and social losses. Sub notification, lack of efficient treatment and subutilization of efficient control methods hamper use of preventive measures to lower this disease impact.

KEYWORDS: Cryptosporidiosis, emergent disease, parasitosis, zoonoses

INTRODUÇÃO

Doenças emergentes e reemergentes são assim classificadas pela evolução ou mudança de um patógeno existente ao alterar sua patogenicidade, abrangerem novas áreas geográficas ou novos hospedeiros (LI et al., 2014; CDC,

2015a; OIE, 2015). Há uma crescente preocupação com estas doenças devido à facilidade de disseminação mundial, afetando a saúde humana e animal, com consequentes impactos sanitários, sociais e econômicos(OIE, 2015).

A criptosporidiose, cujo agente etiológico é o *Cryptosporidium* spp., é classificada como doença emergente e reemergente (YODER et al., 2012; ROBERTSON & CHALMERS, 2013). O agente, de caráter cosmopolita, afeta ampla diversidade de hospedeiros como mamíferos, aves, répteis e anfíbios (XIAO et al., 2004; NAKAMURA et al., 2009; QI et al., 2011), causando infecções subclínicas ou clínicas com sinais gastrointestinais (RYAN et al., 2014). Com potencial zoonótico, acomete principalmente indivíduos imunocomprometidos, como idosos e crianças (MEIRELES, 2010), podendo, nestas, ocasionar má nutrição e afetar o crescimento (XIAO et al., 2004).

Dentre as principais espécies que acometem os homens encontram-se *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium meleagridis*, sendo que as duas últimas são zoonóticas e geralmente estão associados ao contanto com animais ou contaminação hídrica ou alimentar (CHALMERS et al., 2011; RYAN et al., 2014). Embora tenha grande prevalência na medicina veterinária (CUTLER et al., 2010; REBOREDO-FERNANDEZ et al., 2015) e potencial para causar perdas econômicas significativas em países desenvolvidos e em desenvolvimento (XIAO et al., 2004; REBOREDO-FERNANDEZ et al., 2015), há poucos estudos em espécies silvestres, pois estes concentram-se primordialmente em espécies comerciais ou de interesse econômico (NAKAMURA et al., 2009; MEIRELES, 2010; QI et al., 2011; REBOREDO-FERNANDEZ et al., 2015). Uma importante forma de contaminação é por meio de sua forma infectante, o oocisto, que é resistente e permanece infectante por longos períodos no ambiente e na água (GRACZYK et al., 2008; THOMPSON et al., 2008). Métodos usuais de desinfecção e monitoramento de qualidade da água são inadequados para detectar e eliminar estes protozoários. Mesmo que surtos de criptosporidiose sejam associados a reservatórios públicos de água (LAKE et al., 2007; MEIRELES, 2010), não há monitoramento rotineiro para estes patógenos (GRACZYK et al., 2008). Estudos sugerem que a presença de animais próximos a estes locais esteja relacionada a tais episódios (GRACZYK et al., 2008; REBOREDO-FERNANDEZ et al., 2015).

Devido ao próprio ciclo do parasito, sua eliminação é mais abundante nos períodos de diarreia aguda, entretanto ele continua a ser eliminado em casos crônicos. O diagnóstico parasitológico é dificultado pela pouca visualização do parasito em lâminas à microscopia. Além disto, inibidores presentes nas fezes dificultam a utilização de técnicas moleculares de diagnóstico. Portanto, em consideração à pequena quantidade de DNA extraído das amostras e da grande quantidade de inibidores presentes nas fezes, uma das técnicas mais indicadas é a *nested* PCR (HIGGINS et al., 2001; UPPAL et al., 2014). No Brasil são poucos os estudos em animais que utilizam diagnóstico molecular, talvez pelo custo elevado destes (MEIRELES et al., 2007; MEIRELES, 2010).

Objetivou-se com esse trabalho analisar os aspectos que tornam a criptosporidiose uma doença de impacto à saúde humana e animal, ocasionando prejuízos financeiros e sociais e quais são as medidas necessárias para prevenção ou contenção de surtos, evitando sua ampla abrangência ou ressurgimento.

REVISÃO DE LITERATURA

Doenças emergentes e reemergentes

A saúde global enfrenta diversos desafios relacionados a doenças infecciosas e parasitárias, incluindo a emergência e reemergência de velhas e novas doenças (MORENS et al., 2004; MACKEY et al., 2014). O *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) caracteriza uma doença emergente como aquela que surge a partir de mudanças ou evolução de organismos existentes, uma infecção que passa a abranger novas áreas geográficas ou populações, doenças resultantes de organismos anteriormente não conhecidos e doenças que passam a ter maior incidência (CDC, 2015a). Já a Organização Mundial para Saúde Animal (OIE) acrescenta que doença reemergente é uma doença já conhecida, mas muda seu ambiente geográfico, amplitude de hospedeiros ou aumenta significativamente sua prevalência (OIE, 2015). Estas doenças moldaram o curso da história humana e foram capazes de causar inúmeras mortes (MORENS et al., 2004).

A emergência e reemergência são aceleradas devido a circunstâncias multifatoriais, muitas vezes complexas (MORENS et al., 2004; CUTLER et al., 2010), e devem ser lidadas de forma dinâmica por vários setores da sociedade, incluindo a saúde pública, ambiental, animal e segurança alimentar (BALDURSSON & KARANIS, 2011; MACKEY et al., 2014). Alterações ambientais e ecológicas, eventos climáticos extremos e desastres naturais podem influenciar a disseminação de doenças anteriormente controladas (MACKEY et al., 2014; OIE, 2015), mas há também fatores predisponentes humanos e inerentes ao próprio microrganismo, como adaptação e evolução, em conjunto com a resistência às drogas utilizadas em seu controle (OIE, 2015).

O comportamento humano, desenvolvimento econômico, adequação de infraestruturas de saúde, desenvolvimento de novas terapias para indivíduos com imunossupressão e o próprio crescimento e envelhecimento da população são outras condições que influenciam no aparecimento e reaparecimento de doenças (PRASAD, 2010). Além disto, observa-se nestes últimos séculos um rápido crescimento da população humana e a disseminação de doenças, pois patógenos não reconhecem ou respeitam fronteiras geopolíticas. A rapidez em que se realiza o comércio entre países, a facilidade de deslocamento entre grandes distâncias e movimentos de migração de populações estão entre os fatores responsáveis pela globalização de doenças (MACKEY et al., 2014).

O crescimento populacional demanda apoio nutricional, que se fundamenta em intensas práticas agropecuárias, algumas vezes envolvendo criação de grandes contingentes de animais ou várias espécies agrupadas dentro de uma mesma região (CUTLER et al., 2010). Estas práticas promovem maior contato entre humanos e animais, podendo facilitar o cruzamento de barreiras entre espécies para determinadas doenças (CUTLER et al., 2010; MACKEY et al., 2014).

Doenças zoonóticas são aquelas naturalmente transmissíveis entre homens e animais (MACKEY et al., 2014) e são contabilizadas como a maior parte das doenças emergentes e reemergentes (MORENS et al., 2004; MACKEY et al., 2014; OIE, 2015). A interação entre a saúde humana e animal não é um fenômeno recente, mas o impacto atual das zoonoses aumentou de forma notável. A globalização, industrialização, consumismo, reestruturação de sistemas de agricultura e pecuária, dentre outros fatores, pressionam por mudanças nas políticas de saúde animal e de prevenção (OIE, 2015).

A disseminação de doenças ocorre em velocidades que desafiam os mecanismos de controle. Além disto, a entrada contínua de humanos em *habitat*

natural, seja pela expansão demográfica ou turismo, os leva a novos ambientes ecológicos e dá oportunidade para novas exposições à zoonoses (CUTLER et al., 2010; MACKEY et al., 2014). Atividades esportivas como caça ou mesmo esportes aquáticos onde patógenos persistirem prolongadamente na água também possibilitam exposição de humanos às zoonoses (CUTLER et al., 2010).

Desta forma, faz-se necessária a investigação dos ciclos de doenças para identificar sua natureza mutável (MACKEY et al., 2014). A epidemiologia destas doenças, identificação de patógenos, hospedeiros e métodos de transmissão devem ser compreendidos. A identificação deve também incluir os novos conhecimentos acerca de eventuais mudanças no padrão da doença (CUTLER et al., 2010; BALDURSSON & KARANIS, 2011). Compreender a causa da emergência de uma doença é fundamental para a prevenção e tratamento (MACKEY et al., 2014), além de ser um elemento imprescindível no desenvolvimento de políticas de prevenção e controle (BALDURSSON & KARANIS, 2011; OIE, 2015).

Doenças emergentes e reemergentes são divididas principalmente em doenças de veiculação hídrica ou alimentar, doenças vetoriadas, doenças zoonóticas e doenças associadas à transfusão (PRASAD, 2010). Estas infecções continuarão a emergir e reemergir, levando a epidemias inesperadas e desafios para a saúde pública. Os fatores ecológicos, ambientais ou demográficos continuarão aumentando o problema de manter pessoas em contato com microrganismos anteriormente não conhecidos (MORENS et al., 2004; PRASAD, 2010). Esses fatores, somados a evolução contínua dos patógenos, sugerem que as infecções continuarão a surgir e provavelmente aumentarem, enfatizando a necessidade urgente de vigilância e controle (PRASAD, 2010).

A prevenção é considerada a melhor forma de reduzir impactos de uma determinada doença (MORENS et al., 2004), que pode ser mensurado pelo custo financeiro, mortalidade e morbidade, dentre outros fatores. O aperfeiçoamento dos métodos de diagnóstico demonstrou que muitas zoonoses têm impacto maior que anteriormente reconhecido. Custos financeiros devem incluir prejuízos na saúde humana e animal, levando em conta a perda de produtividade animal, custos de tratamento em humanos e animais e convalescência em pacientes humanos. Mesmo que um país de baixa renda apresente alta incidência de uma doença, os custos para lidar com um surto costumam ser maiores em países de alta renda, devido a maiores encargos com despesas médicas e salários de funcionários de saúde (TORGERSON & MACPHERSON, 2011).

A Organização Mundial de Saúde (WHO) prefere mensurar os impactos das doenças através do *Disability Adjusted Life Year* (DALY) que simplesmente calcular prejuízos financeiros. O DALY, ao invés de utilizar medidas monetárias, estima os impactos de determinada doença em mortes prematuras e diminuição de expectativa de vida saudável. Portanto, doenças que apresentam alta taxa de mortalidade ou com altos números de sequelas crônicas resultam em números maiores de DALY que doenças agudas, nas quais os pacientes geralmente se recuperam completamente (TORGERSON & MACPHERSON, 2011).

O índice DALY aproximado para protozoários intestinais zoonóticos (*Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.) é de aproximadamente 10^5 – 10^6 e estima-se que os custos em saúde animal, embora desconhecidos, sejam altos. Este índice se aproxima a outras doenças como toxoplasmose e leishmaniose (TORGERSON & MACPHERSON, 2011). Além dos impactos causados à saúde humana e animal, os casos de criptosporidiose são crescentes a cada ano e esta doença está na lista de doenças emergentes ou reemergentes do CDC (YODER et al., 2012).

Características do *Cryptosporidium* spp.

Em 1907, Ernest Tyzzer descreveu um protozoário encontrado nas glândulas gástricas de um camundongo de laboratório, observou a formação de oocistos e descreveu a transmissão oro fecal do parasita. Este foi o primeiro relato de *Cryptosporidium* spp. (THOMAZ et al., 2007).

Eucarioto do filo apicomplexa (FAYER et al., 2000), *Cryptosporidium* é um gênero que atualmente engloba 26 espécies (WIDERSTRÖM et al., 2014). O ciclo destes protozoários necessita apenas de um hospedeiro para se completar (XIAO & FAYER, 2008)(Figura 1). Todas as espécies são parasitas intracelulares obrigatórios (FAYER et al., 2000) que, ao serem ingeridos em sua forma contaminante, o oocisto, liberam quatro esporozoítos infecciosos no intestino delgado do hospedeiro e invadem células epiteliais das microvilosidades, onde todos os próximos estágios ocorrem (XIAO & FAYER, 2008).

Dois ciclos sexuais produzem de quatro a oito merozoítos. Estes se desenvolvem em microgamonte e macrogamonte e a fertilização resulta na formação de zigotos que se desenvolvem em oocistos. Alguns oocistos podem voltar a infectar o hospedeiro, entretanto a maioria é excretada nas fezes (XIAO & FAYER, 2008).

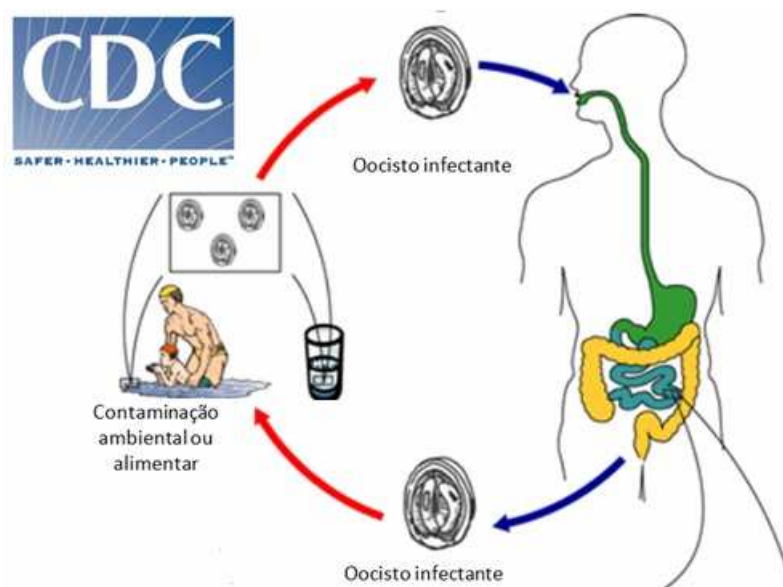


FIGURA 1 – Ciclo de vida da criptosporidiose
Fonte: Adaptado de CDC(2015b)

Oocistos de *Cryptosporidium* são relativamente pequenos e esféricos, com cerca de 4-6 μ m. Diferente de outros gêneros como *Toxoplasma*, *Isospora*, *Eimeria* e *Sarcocystis* cujos oocistos variam de 10 a 40 μ m, é difícil a identificação da espécie através do tamanho, formato ou estruturas internas, já que estas não são bem distinguíveis em microscópio (FAYER et al., 2000; XIAO & FAYER, 2008; MEIRELES, 2010). Eles devem ser diferenciados de algas ambientais, *debris* de plantas (FAYER et al., 2000), esporos, leveduras ou outras estruturas presentes em amostras fecais. Pode resultar em falso positivo com técnicas de visualização microscópica por coloração de Kinyoun, Ziehl Neelsen modificado ou azul de metileno (MEIRELES, 2010).

Oocistos de algumas espécies, como *Cryptosporidium parvum*, podem permanecer infecciosos por seis meses ou mais em ambiente com umidade e temperatura de 20°C (XIAO & FAYER, 2008). Em ambientes mais quentes, por exemplo 30°C, a viabilidade diminui para três meses. Também são inviabilizados pelo calor, morrendo em temperaturas acima de 71,7°C. Entretanto, por serem resistentes ao congelamento, podem sobreviver vários dias a -10°C e até oito horas a -20°C (FAYER et al., 2000).

Três importantes fatores contribuem para a infecção e manutenção do parasita: a grande quantidade de oocistos infetantes excretados no ambiente (RYAN et al., 2014), (aproximadamente 6×10^{11}) significando um alto potencial para contaminação ambiental (ROBERTSON & CHALMERS, 2013): a resistência ambiental; e a alta infectibilidade de oocistos. Teoricamente, apenas um oocisto é necessário para infectar um hospedeiro suscetível. Em humanos, a infecção por *Cryptosporidium hominis* ocorre com dez a 83 oocistos e menos de dez a 1000 por *C. parvum* (RYAN et al., 2014).

Devido à sua resistência ambiental, há várias rotas que permitem a infecção por *Cryptosporidium* spp. A principal forma de contaminação é a orofecal, seja direta ou indiretamente (FAYER et al., 2000; YODER et al., 2012; RYAN et al., 2014). Em humanos a transmissão direta pode ser devido à falta de higiene entre membros de um mesmo lar, prestadores de serviço, funcionários de creches, hospitais ou por pessoas que trabalham próximo a animais como trabalhadores em fazendas, veterinários ou visitantes (RYAN et al., 2014).

Transmissão indireta costuma ocorrer através da água contaminada, seja água potável ou água de áreas de recreação como em casos de contaminação fecal em piscinas. Formas zoonóticas podem ser transmitidas através da deposição de material fecal em corpos d'água ou próximo a plantações (MAWLY et al., 2015). Alimentos também podem ser fontes de infecção, se contaminados por contato com esterco, água ou mesmo as mãos de funcionários. Qualquer fase da cadeia de preparação e distribuição de alimentos está sujeita a contaminação. Água para lavagem, superfícies de preparo, equipamentos ou utensílios podem estar contaminados (RYAN et al., 2014; WIDERSTRÖM et al., 2014). Embora os alimentos crus como frutas e vegetais sejam os mais incriminados de transmissão de criptosporidiose, esta também é associada ao leite (RYAN et al., 2014; ROSENTHAL et al., 2015) e cidra de maçã não pasteurizados, carne crua e molhos. Outra forma pouco conhecida e estudada de transmissão é através de solo contaminado (RYAN et al., 2014).

O gênero *Cryptosporidium* pode afetar diversos hospedeiros, embora ainda não haja informações claras e definitivas a respeito de quantas e quais espécies deste parasita afetam cada espécie animal, sabendo-se, como já citado, que anfíbios, aves, mamíferos, peixes e répteis são suscetíveis (MEIRELES, 2010). Foram identificados mais de 150 potenciais hospedeiros mamíferos para *Cryptosporidium* spp. Estes parasitas apresentam ampla diversidade biológica, diferindo em habilidades de afetar uma ou múltiplas espécies de hospedeiros e cada uma tem sua própria prevalência em diferentes regiões geográficas. Hospedeiros de todas as idades são afetados, mas, preferencialmente os mais jovens (XIAO & FAYER, 2008).

Inicialmente a importância clínica era somente como patógeno oportunista (HUNTER & THOMPSON, 2005; MEIRELES, 2010), em pacientes imunocomprometidos, especialmente os soropositivos para vírus da imunodeficiência humana (HIV) (SPONSELLER et al., 2014; WIDERSTRÖM et al.,

2014). Embora as infecções em humanos sejam geralmente autolimitantes de curta duração (uma a duas semanas) em indivíduos imunocompetentes (WIDERSTRÖM et al., 2014), a falta de medicamentos para terapia de criptosporidiose coloca em risco crianças e idosos, especialmente em casos com diarreia aquosa severa (HUNTER & THOMPSON, 2005; SPONSELLER et al., 2014; WIDERSTRÖM et al., 2014). Sinais clínicos variam com a idade e condição de saúde do hospedeiro, genética e dose de infecção do parasita (XIAO & FAYER, 2008; WIDERSTRÖM et al., 2014), mas afetam particularmente o trato gastrointestinal, causando infecções com gastroenterites clínicas com diarreia, subclínicas (MEIRELES, 2010) ou mesmo assintomáticas (WIDERSTRÖM et al., 2014).

No início da década de 1980 acreditava-se que a doença fosse primariamente zoonótica, embora tivesse potencial de transmissão entre humanos. Esta visão adveio de investigações de surtos, que normalmente estavam associados a fazendas ou zoológicos e acreditava-se que a contaminação da água era devida a fezes de bovinos (HUNTER & THOMPSON, 2005). Este potencial zoonótico e antroponótico despertou a atenção de pesquisadores (MEIRELES, 2010).

Pesquisas em bovinos, ovinos, suínos, felinos, caninos e em animais selvagens como cangurus, esquilos, gansos canadenses e répteis mostraram que a maioria das espécies é infectada somente com espécies ou genótipos de *Cryptosporidium* adaptadas ao hospedeiro. A existência de espécies ou genótipos de *Cryptosporidium* espécie-específico indica que a transmissão entre diferentes grupos de animais é normalmente limitada. A transmissão entre espécies é possível quando animais compartilham o mesmo *habitat* ou o parasita é biologicamente capaz de infectar múltiplas espécies de hospedeiros (XIAO & FAYER, 2008).

A condição de afetar várias espécies de hospedeiros e apresentar diferentes ciclos de transmissão, aliada à variação genética entre espécies e entre genótipos, torna fundamental proceder a caracterização molecular de isolados de *Cryptosporidium*, sejam de origem ambiental, alimentar, animal ou humana, para avaliar epidemiologicamente, prevenir e controlar surtos de criptosporidiose em humanos e animais (MEIRELES, 2010).

Taxonomia

As pequenas diferenças morfológicas limitam a utilização da microscopia para identificação de espécies de *Cryptosporidium* (XIAO & FAYER, 2008) (Figura 2). No início da utilização do diagnóstico molecular, aproximadamente no ano de 2000, reconheciam-se 10 espécies deste gênero (FAYER et al., 2000). Até 2008, haviam sido identificados no gênero 18 espécies e 40 genótipos (XIAO & FAYER, 2008). Até o momento, são reconhecidas 26 espécies e mais de 60 genótipos (WIDERSTRÖM et al., 2014). Alguns genótipos foram renomeados como espécie quando havia informações suficientes a respeito da biologia, morfologia e genética. Espera-se um aumento de número de espécies à medida que novas pesquisas obtenham maiores informações biológicas e moleculares (XIAO & FAYER, 2008). Registra-se que 18 possíveis espécies de *Cryptosporidium* não foram validadas por motivos como dimensão grande de oocistos, indicando que provavelmente sejam sarcocistos, falta de mensurações de oocistos ou dados biológicos insuficientes (RYAN et al., 2014).

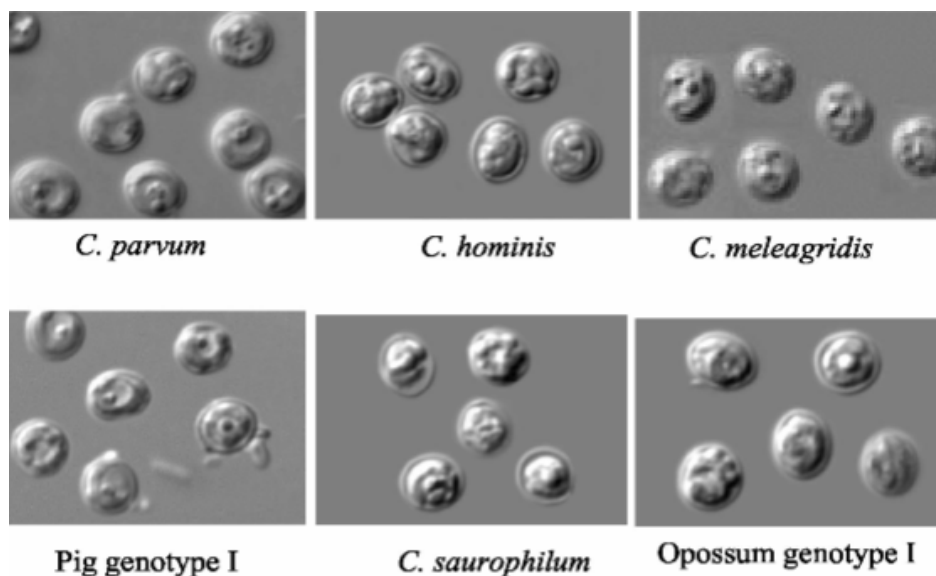


FIGURA 2- Comparação de oocistos de diferentes espécies e genótipos demonstrando pequenas alterações morfológicas entre eles.
Fonte: XIAO et al. (2004).

Anteriormente à utilização de métodos moleculares como diagnóstico, aceitava-se que *C. parvum*, infectava muitas, se não todas, espécies de mamíferos (HUNTER & THOMPSON, 2005; XIAO & FAYER, 2008). Entretanto, depois foi descoberto que os “genótipos” do *C. parvum* identificado morfologicamente, genótipo I e genótipo II (bovino), se tratavam de espécies diferentes. Tais espécies foram denominadas de *C. hominis*, *C. parvum* (HUNTER & THOMPSON, 2005), e posteriormente descobriram-se outras duas espécies morfologicamente semelhantes, *C. bovis* e *C. meleagridis* (RYAN et al., 2014; MAWLY et al., 2015). No início desta descoberta, chegou-se a questionar o real papel de animais, sejam bovinos ou animais selvagens, como fonte de infecção zoonótica (HUNTER & THOMPSON, 2005).

Com a obtenção de informações genéticas na literatura científica e mídia digital, melhora-se a compreensão da complexa relação entre humanos e animais como hospedeiros e reservatórios para esses parasitas. Entretanto, em muitas espécies ou genótipos de *Cryptosporidium*, há variações menores como substituição, inserção ou deleção de um ou dois nucleotídeos em um gene com mais de 1000 pares de base. Por isto, deve-se evitar tentar criar novas espécies baseadas somente em pequenas alterações genômicas (RYAN et al., 2014).

Ao conhecer a amplitude de hospedeiros ou a especificidade de cada espécie de *Cryptosporidium*, é possível determinar seu potencial zoonótico. Isso poderia ser obtido através da correta identificação da espécie/genótipo do oocisto nas fezes de hospedeiros naturalmente infectados, utilizando-se de métodos moleculares e provas biológicas. Caso o oocisto fornecido complete o ciclo e seja excretado nas fezes, confirma-se a infecção do hospedeiro (XIAO & FAYER, 2008).

A PCR em tempo real (qPCR), genotipagem por PCR RFLP e sequenciamento são as técnicas mais utilizadas para obtenção de dados genéticos, tipagem e subtipagem. Embora a amplitude de detecção ou diferenciação de espécies de *Cryptosporidium* seja em geral menor com novos métodos como qPCR, eles são mais simples de usar e menos propensos a contaminação (RYAN et al., 2014).

Geralmente, amplifica-se somente o DNA de *C. parvum*, *C. hominis* e *C. meleagridis* e as espécies ou genótipos próximos a eles. A utilidade é limitada na genotipagem de *Cryptosporidium* spp. de animais por causa da pequena especificidade, mas podem ser utilizadas para identificar infecções mistas de *C. hominis* ou *C. parvum* em humanos (RYAN et al., 2014). Um exemplo da genotipagem restrita foi a identificação da espécie *C. ubiquitum*, anteriormente conhecido como “genótipo de cervos”. Ele não havia sido identificado por falta de marcadores genéticos para este subtipo, que é distante geneticamente de *C. hominis* e *C. parvum* (LI et al., 2014).

Criptosporidiose no Brasil e no mundo

Globalmente, são registrados aproximadamente oito milhões de óbitos anuais de crianças com menos de cinco anos de idade e deste total, 5-10% estão associadas à diarreia. Estudo de 2013, conduzido com 22 mil crianças na África e Ásia, revelou que *Cryptosporidium* era um dos quatro patógenos responsáveis pelas diarreias mais severas, sendo considerado a segunda causa mais grave de diarreia e morte em crianças após o rotavírus (RYAN et al., 2014).

Criptosporidiose é uma doença altamente prevalente e de grande abrangência documentada em mais de 1000 relatos em humanos (RYAN et al., 2014) em 106 países de todos os continentes, exceto a Antártica (XIAO & FAYER, 2008). A incidência global verdadeira não é conhecida (WIDERSTRÖM et al., 2014) e supõe-se que haja uma grande variação de prevalência pois a notificação não é universalmente obrigatória, os métodos de diagnóstico são variados, muitos indivíduos não têm acesso a cuidados médicos ou não o procuram (XIAO & FAYER, 2008; BALDURSSON & KARANIS, 2011). Quando há acesso a unidades de saúde, são poucas as amostragens de pacientes com sintomas gastrointestinais e pedidos para diagnóstico (LASSEN et al., 2014; WIDERSTRÖM et al., 2014).

Como a maior parte dos surtos em humanos relacionados a esta doença está vinculada à ingestão de água contaminada (BALDURSSON & KARANIS, 2011), o patógeno foi ranqueado em quinto lugar dentre os 24 parasitas alimentares mais importantes pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e a WHO em 2012 (RYAN et al., 2014). Fatores como a contaminação de corpos de água por fezes de animais e humanos, insuficiente monitoramento, resistência do agente na água e sistemas ineficazes de tratamento contribuem para a ocorrência de casos (RAZZOLINI et al., 2010; RYAN et al., 2014).

Embora se reconheça o potencial para transmissão por alimentos, a criptosporidiose é geralmente associada com transmissão hídrica. É possível que o risco por veiculação por alimentos seja subestimado globalmente. Desde 2000, a maioria dos casos de doença associados a contaminação alimentar concentram-se nos países nórdicos europeus. Possíveis razões podem incluir sobrevivência prolongada de oocistos no clima nórdico e maior exposição a produtos de alto risco. É importante notar que nestas regiões há também investigações mais eficientes de surtos e relatos que em outras partes do mundo, podendo contribuir para a aparente ocorrência elevada (ROBERTSON & CHALMERS, 2013).

Nos Estados Unidos, houve 3.505 casos relatados em 2003, 3.911 em 2004 e 8.269 em 2005 (XIAO & FAYER, 2008). O relatório mais recente do CDC sobre esta doença relata que em 2009 houve 7.656 casos relacionados a 187 surtos e em 2010, 8.951 casos relacionados a 268 surtos (YODER et al., 2012). Possivelmente, o aumento de 2005 e 2010 seja devido a surtos de maior escala (XIAO & FAYER, 2008; YODER et al., 2012). Em 2011 estimou-se que nos Estados Unidos haviam

ocorrido 748.000 casos anualmente e os custos de hospitalização eram estimados em 45,8 milhões de dólares. Há poucos dados em alguns dos países da União Europeia e suspeita-se que sejam subestimados (BALDURSSON & KARANIS, 2011; RYAN et al., 2014).

Estudo epidemiológico analisando dez anos da doença na Nova Zelândia concluiu que a transmissão zoonótica foi a forma mais comum e que estava fortemente associada a áreas rurais, com taxas de ocorrência duas a oito vezes maior que em populações urbanas. O mesmo estudo curiosamente indicou que havia relação entre bons níveis econômicos e a ocorrência da doença, o oposto da maioria das doenças infecciosas, que normalmente estão associadas a privações socioeconômicas. O custo estimado de prejuízos anuais relacionados a criptosporidiose e giardíase no país foi de NZ\$1,5 milhões (SNEL et al., 2009).

No Brasil, o sistema de tratamento de esgoto predominante é com iodo ativado. Apesar do tratamento diminuir a densidade de oocistos no esgoto (de 28,9 oocistos/L para 1,05 oocistos/L) (TONANI et al., 2013), esta persistência ainda apresenta problemas a saúde pública, seja no consumo de água ou mesmo na utilização desta para higiene ou recreação (RAZZOLINI et al., 2010). No estado de São Paulo os surtos de criptosporidiose estão associados principalmente às creches com crianças de até quatro anos de idade. Em Recife, 12% das hortaliças avaliadas em feiras estavam positivas para *Cryptosporidium* (SILVA et al., 2005; ROSSI et al., 2014).

Criptosporidiose em humanos

Criptosporidiose é uma importante causa de diarreia em pessoas (BUSHEN et al., 2007). Estudo sobre proporção global de casos de diarreia em humanos com cinco anos ou mais sugeriu que 6,9% de pacientes com diarreia eram causados por *Cryptosporidium* e que 1,3% destes foram internados em hospitais (WALKER et al., 2010). A cada ano as hospitalizações nos Estados Unidos por criptosporidiose custam aproximadamente 45,8 milhões de dólares. Cuidados ambulatoriais custam 257-757 dólares para cada pessoa (YODER et al., 2012; RYAN et al., 2014).

A criptosporidiose afeta pessoas de todos os grupos de idades, mas, como já registrado, é mais comum em crianças de um a nove anos de idade e pacientes com baixa imunidade (YODER et al., 2012). No Brasil é comum encontrar criptosporidiose em crianças de creche e portadores de HIV, mas também em não portadores (THOMAZ et al., 2007). Aproximadamente 4,5% dos pacientes são assintomáticos e 12,7% dos pacientes são imunocompetentes. Crianças em países em desenvolvimento e locais de poucos recursos são particularmente propensas à infecção, resultando em diarreia aguda e persistente e também em dificuldade de crescimento (BUSHEN et al., 2007; COLLINET-ADLER & WARD, 2010), mesmo na ausência da diarreia (BUSHEN et al., 2007). A maior prevalência em áreas em desenvolvimento é ocasionada pela maior exposição ao organismo devido a más condições higiênico-sanitárias, incluindo suprimento de água impura e inadequadas condições de vida (BUSHEN et al., 2007; BALDURSSON & KARANIS, 2011).

Cerca de 17 espécies de *Cryptosporidium* já foram relatados em humanos, incluindo *C. hominis*, *C. parvum*, *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. canis*, *C. cuniculus*, *C. ubiquitum*, *C. viatorum*, *C. muris*, *C. suis*, *C. fayeri*, *C. andersoni*, *C. bovis*, *C. scrofarum*, *C. tyzerri* e *C. erinacei* (RYAN et al., 2014). Dentre estas, as espécies que mais acometem humanos são *C. hominis* e *C. parvum*, sendo o primeiro o mais prevalente (XIAO & FAYER, 2008; NG et al., 2010; RYAN et al., 2014). Espécies zoonóticas, como *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. canis*, *C. cuniculus*, *C. ubiquitum* e *C.*

viatorum são menos comuns. Raros casos foram relacionados a outras espécies, mas elas afetaram indivíduos imunocompetentes e imunocomprometidos, muitas vezes sem diferença significativa (RYAN et al., 2014). De forma geral, há dois importantes ciclos de transmissão de criptosporidiose em humanos: o antroponótico, cuja principal espécie é o *C. hominis*, e o zoonótico, no qual *C. parvum* é o principal responsável e circula entre humanos e seus outros hospedeiros (THOMAZ et al., 2007).

Em relação à clínica, *C. hominis* é mais comum que *C. parvum* em crianças (BUSHEN et al., 2007; RYAN et al., 2014) e é associada a infecções mais graves, maior excreção de oocistos e maior imparidade no crescimento pós-infecção, especialmente entre indivíduos assintomáticos (BUSHEN et al., 2007; NG et al., 2010).

A ocorrência dessas espécies em humanos varia de acordo com áreas geográficas e condições socioeconômicas. Em países europeus e na Nova Zelândia, *C. hominis* e *C. parvum* são comumente detectados em humanos (SNEL et al., 2009; RYAN et al., 2014). Anteriormente, acreditava-se que no Reino Unido a principal espécie responsável pela criptosporidiose humana era o *C. parvum*, mas na década de 2000 descobriu-se que 50,3% dos casos eram associados a *C. hominis* e 45,6% a *C. parvum*. Outros estudos conduzidos na Austrália, Canadá, Europa, Estados Unidos e Japão também mostraram maior prevalência de *C. hominis* (XIAO & FAYER, 2008; NG et al., 2010; RYAN et al., 2014).

Também há diferença na distribuição geográfica de *C. parvum* e *C. hominis* dentro de um mesmo país. Nos Estados Unidos, Reino Unido e Nova Zelândia *C. parvum* é mais comumente encontrado em áreas rurais e *C. hominis* em áreas urbanas (XIAO & FAYER, 2008; SNEL et al., 2009; RYAN et al., 2014). Esta diferença na distribuição é provavelmente devida às diferentes fontes e rotas de transmissão (RYAN et al., 2014), apoiando a probabilidade de criptosporidiose zoonótica (XIAO & FAYER, 2008).

Estudos em países em desenvolvimento aparentemente apontam um papel menos importante de infecções zoonóticas por *C. parvum*. Cerca de 70-90% das infecções humanas no Brasil, Índia, Quênia, Peru, Tailândia, África do Sul e Vietnã são ocasionadas por *C. hominis* (XIAO & FAYER, 2008).

Estudos recentes com subtipagem de *C. parvum* apontaram que algumas infecções humanas por esta espécie não decorre de transmissões zoonóticas (RYAN et al., 2014). A melhor forma de identificar uma transmissão zoonótica é comparar os isolados de *Cryptosporidium* de diferentes hospedeiros usando métodos moleculares e caracterização genética destes isolados (THOMAZ et al., 2007).

Entre várias famílias de subtipos de *C. parvum* identificadas, os subtipos IIa e IIc são os mais comuns em humanos. Em países em desenvolvimento, a maioria das infecções por *C. parvum* em crianças e HIV positivos é causada pelo subtipo IIc, considerado antropofílico. O subtipo IIa, associado a transmissões zoonóticas, é aparentemente ausente, indicando que a transmissão antroponótica de *C. parvum* é comum nestas áreas. Em contraste ambos, IIa e IIc, foram observados em humanos em países desenvolvidos. Em 2013 na Suécia, todas infecções pela família do subtipo IIc foram adquiridas em viagens ao exterior e no Reino Unido houve a associação de IIa a visitas a propriedades rurais (RYAN et al., 2014; WIDERSTRÖM et al., 2014).

Há uma divergência quanto à importância zoonótica de *C. meleagridis*, *C. canis*, *C. felis* e *C. muris*. Alguns autores consideram que estas não são espécies de

grande importância para o homem devido à baixa documentação de casos de criptosporidiose em humanos (HUNTER & THOMPSON, 2005; XIAO & FAYER, 2008; LUCIO-FORSTER et al., 2010). Na Inglaterra, dos mais de 15000 casos de criptosporidiose em indivíduos imunocompetentes, apenas 28 foram devido à *C. felis* e três a *C. canis*(LUCIO-FORSTER et al., 2010). A prevalência de infecções por estas espécies é maior em países em desenvolvimento, tendo um estudo revelado que *C. felis* foi responsável por 3,3% e *C. canis* por 4,4% do número total de casos de criptosporidiose em crianças em 2010 (RYAN et al., 2014).

Criptosporidiose em ruminantes

Criptosporidiose é uma das causas mais comuns de diarreia em bezerros com até 30 dias de idade, chegando a totalizar 37,2% dos casos (BLANCHARD, 2012). A maior prevalência de infecção é em bezerros de até duas semanas de idade (45,8%)(SANTÍN et al., 2008), constituindo-se em uma das principais causas da diarreia neonatal bovina (MAWLY et al., 2015). A infecção pode ocorrer devido a contaminação de pastos, estábulos, reservatórios de água, ou pelos próprios animais. Alguns estudos identificaram que o contato com superfícies, ferramentas, moscas e aves também pode transmitir o parasita. Tratadores de animais também podem transportar mecanicamente oocistos infectantes em roupas e sapatos (SANTÍN et al., 2008).

A doença pode causar sérios prejuízos econômicos às criações como retardo no crescimento, mortalidade e gastos com medicamentos (RIEUX et al., 2013; VARGAS et al., 2014). Pode afetar vários lotes de animais, pois o tratamento não costuma ser efetivo e o oocisto persiste no solo durante vários meses (VARGAS et al., 2014). Perdas econômicas também estão relacionadas a espécie ou genótipo causador da infecção (RIEUX et al., 2013).

Os métodos de diagnóstico utilizados em bovinos são imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimático (ELISA), flutuação, cromatografia e diferentes técnicas de PCR. PCR identifica um número maior de animais positivos quando comparado às outras técnicas (BLANCHARD, 2012). Em um estudo realizado por SANTÍN et al.(2008), em bezerros durante dois anos, pela PCR detectou-se 19,2% de positividade, enquanto pela IFI 12,9%, diferença estatisticamente significativa.

As principais espécies causadoras de criptosporidiose em bovinos são *C. parvum*, *C. bovis*, *C. andersoni* e *C. ryanae* (MEIRELES et al., 2011; RYAN et al., 2014). A prevalência em bovinos de leite é maior que em bovinos de corte, quando criados sob as mesmas condições (XIAO & FAYER, 2008). A maioria das infecções em bovinos de leite adultos é causada por *C. bovis*, *C. ubiquitum* e *C. andersoni*. Em países desenvolvidos, 86,7% dos bezerros doentes são infectados por *C. parvum* (RIEUX et al., 2013) e o principal subtipo encontrado é o IIa (zoonótico)(RYAN et al., 2014). Portanto, bezerros de leite de até dois meses (XIAO & FAYER, 2008) parecem ser os maiores reservatórios para o *C. parvum* zoonótico, sendo que as práticas de criação intensiva podem facilitar a transmissão deste subtipo em criações (RYAN et al., 2014).

Devido ao fato que os estudos epidemiológicos de *Cryptosporidium* em bovinos geralmente não são realizados ao acaso e sim por amostras oportunas, o impacto de *C. parvum* originados de criações de bovinos na criptosporidiose humana é pouco compreendido. Na Nova Zelândia, 40-65% das propriedades de bovinos de leite eram positivas para *Cryptosporidium* e a prevalência de *C. parvum* foi estimada em 50,5%. Em Otário, Canadá, 76% eram positivas, mas não foi realizada genotipagem (MAWLY et al., 2015).

C. bovis afeta primariamente bezerros desmamados e tem ampla distribuição geográfica. Até o momento, foram relatados somente três humanos afetados com *C. bovis*: um trabalhador numa fazenda leiteira na Índia, um trabalhador rural na Austrália e um menino de cinco anos com contato com animais no Egito. As infecções foram assintomáticas nos dois primeiros casos e sintomática no terceiro. Poucos relatos de *C. andersoni* em humanos foram registrados no Reino Unido, Austrália, Irã e Malawi. Na China *C. andersoni* foi identificado em 34 de 252 casos de diarreia em Shangai. Na Nova Zelândia, em 2012, *C. hominis* foi detectado em bovinos (RYAN et al., 2014).

O primeiro relato de criptosporidiose em bovinos no Brasil foi feito por Modolo et al. em 1988 em bovinos de leite em Botucatu, São Paulo. A prevalência de *Cryptosporidium* em bovinos de leite no Brasil variou de 0,6 a 72,13% (MEIRELES, 2010). Apesar da distribuição mundial e relevância zoonótica, ainda há poucas publicações a respeito de *Cryptosporidium* em bovinos no Brasil. Destas, em poucas foi feita caracterização molecular de *Cryptosporidium* em nível de identificação de espécie e subtipo. Estudo realizado em São Paulo, de 196 amostras de fezes de bezerros de até 30 dias e de várias raças, 10,7% foram positivos, tendo sido identificados *C. andersoni*, *C. bovis*, *C. ryanae* e *C. parvum*, este último em maior quantidade e com presença de subtipo da família Ila. Também foram relatados *C. parvum* em bezerros no Chile e *Cryptosporidium spp.* na Venezuela e Argentina (MEIRELES et al., 2011).

Cryptosporidium é endêmico em algumas populações de ovelhas no mundo (SILVA et al., 2014), sendo mais frequente em animais jovens, com alta morbidade relatada em cordeiros. Foram identificadas pelo menos sete espécies em fezes de ovinos: *C. hominis*, *C. andersoni*, *C. suis*, *C. xiaoi*, *C. fayeri*, *C. ubiquitum* e *C. scrofarum*. A prevalência de *Cryptosporidium spp.* pode variar de menos de 5% a mais de 70% (RYAN et al., 2014). No noroeste paulista 22% dos cordeiros avaliados e 3% das fêmeas adultas foram positivos, todos assintomáticos (SILVA et al., 2014). Em outro estudo, 55,5% dos animais foram positivos na estação de chuva e 17,3% durante a estação de seca (MEIRELES, 2010).

Em 1997, registraram-se os primeiros casos em caprinos, tendo sido identificado o patógeno em 22 animais de duas semanas de idade, que apresentaram diarreia, evoluindo para óbito. Embora sejam escassos os estudos epidemiológicos sobre *Cryptosporidium spp.* em cabras, *C. parvum*, *C. hominis*, *C. ubiquitum* e *C. xiaoi* foram identificados (RYAN et al., 2014). Em criações no Brasil, estudos indicaram 4,8% de positividade nos rebanhos avaliados, todos em animais jovens (MEIRELES, 2010).

Criptosporidiose em outros animais

Criptosporidiose em cães envolvem normalmente filhotes com menos de seis meses de idade. Em 1983 Wilson e Holscher fizeram a primeira descrição da doença em um cão com imunossupressão ocasionada por cinomose (FAYER et al., 2001). Desde então, a parasitose foi identificada em cães com doenças crônicas ou com imunossupressão, demonstrando o caráter oportunista da doença (THOMAZ et al., 2007). As principais espécies que afetam estes animais são *C. parvum* e *C. canis* (THOMAZ et al., 2007), mas também foi descrito *C. muris* (RYAN et al., 2014). Aproximadamente 2,3% a 26,2% dos cães são positivos para alguma espécie de *Cryptosporidium* (MEIRELES, 2010), que também podem afetar raposas e lobos (RYAN et al., 2014).

Criptosporidiose em gatos foi descrita no Japão por Iseki em 1979, que nomeou o parasita responsável como *Cryptosporidium felis*. Posteriormente, *C. parvum* também foi identificado nestes animais. Ambas as espécies têm potencial zoonótico e *C. felis* foi descrito em pelo menos 40 pacientes imunocompetentes e imunocomprometidos (FAYER et al., 2006). Gatos com infecção podem ser assintomáticos ou sintomáticos com diarreia persistente, anorexia e perda de peso (THOMAZ et al., 2007). A prevalência de infecção varia de 3,9% a 14,44% (MEIRELES, 2010).

Criptosporidiose é considerada uma das principais infecções protozoárias em aves, com sinais clínicos relacionados ao trato digestivo e/ou respiratório. Quando comparado aos estudos em mamíferos, poucas são as pesquisas desta parasitose em aves. As espécies mais comuns são *C. baileyi*, *C. galli* e *C. meleagridis*. Esta última tem ampla abrangência de hospedeiros e é classificada como a terceira espécie mais prevalente em humanos (NAKAMURA et al., 2009). Provavelmente, sua habilidade em infectar humanos e outros mamíferos é devido à sua relação filogenética próxima com *C. parvum* e *C. hominis*. Além destas, também foram identificados em aves *C. hominis*, *C. parvum*, *C. serpentis*, *C. muris* e *C. andersoni*. Alguns autores argumentam que estas espécies não infectam verdadeiramente as aves e são encontradas devido a uma ingestão acidental de oocistos (RYAN et al., 2014).

Todas as espécies de *Cryptosporidium* que acometem aves em outros países foram descritas no Brasil, com prevalência de 4,86% em aves de cativeiro (MEIRELES, 2010). *C. baileyi* foi encontrado em frangos e patos domésticos, *C. meleagridis* em frangos e perus (NAKAMURA et al., 2009) e *C. parvum* em calopsitas. Passeriformes e psitacíformes apresentaram infecção crônica por *C. galli*, na maioria dos casos de natureza subclínica. Também foi descrito um novo genótipo presente em avestruzes (MEIRELES, 2010).

Geralmente suínos são acometidos por *C. suis* e *C. scrofarum*, embora também já tenham sido relatados *C. muris*, *C. tyzzeri* e *C. parvum*. *C. suis* é mais comum em leitões na pré-desmama e *C. scrofarum* ocorre predominantemente em animais mais velhos. A possibilidade de infecção com *C. parvum* sugere que a espécie tenha potencial papel na transmissão zoonótica. Recentemente, as espécies mais comuns também foram detectados em javalis selvagens na República Tcheca e Espanha (RYAN et al., 2014). No Brasil a prevalência de criptosporidiose em suínos é de 1,7% a 7,6%. Os animais apresentam sinais clínicos, mas essas infecções são normalmente associadas com *Escherichia coli*, rotavirus e Picobirnavirus (MEIRELES, 2010).

Em equinos, a criptosporidiose foi inicialmente descrita em potros com imunossupressão. A prevalência pode variar conforme a idade, localização e categoria do animal. As taxas de infecção geralmente variam de 1-4% (TOSCAN et al., 2010). Animais mais jovens são mais susceptíveis e podem apresentar diarreia, mas geralmente a infecção é assintomática ou subclínica (MEIRELES, 2010). Entretanto, em um estudo no Brasil, a prevalência de *Cryptosporidium* spp. em adultos (21%) foi maior que a registrada em potros (10%), condição que foi atribuída à imunidade passiva (TOSCAN et al., 2010).

Até 2009, considerava-se que *C. cuniculus* era específico de seu hospedeiro, coelho, até ocorrer um surto relacionado à esta espécie em humanos no Reino Unido. Isto impulsionou a estudar a importância de coelhos como fonte de *Cryptosporidium* transmissíveis a humanos (PULESTON et al., 2014; RYAN et al.,

2014). Em 2011 foi relatado que *C. cuniculus* era a terceira espécie mais comum de *Cryptosporidium* em pacientes com diarreia no Reino Unido (RYAN et al., 2014).

Cryptosporidium também é descrito em camundongos, capivara, veados, porco espinho, cangurus e muitas outras espécies (MEIRELES, 2010; RYAN et al., 2014). Também ocorre em répteis como serpentes, tartarugas e lagartos, e anfíbios. Pouco se sabe sobre a prevalência e diversidade genética de espécies de *Cryptosporidium* em animais aquáticos, mas o gênero já foi descrito em peixes marinhos, como dourada e robalo (ALVAREZ-PELLITERO & SITJÀ-BOBADILLA, 2002), e de água doce, como a tilápia (KOINARI et al., 2013), com 13 genótipos diferentes (RYAN et al., 2014).

Métodos de controle e prevenção de surtos

A falta de profilaxia e opções eficazes de tratamento em humanos e animais contribuiu para a disseminação do parasita. De acordo com a FAO (2015), há 795 milhões de pessoas com má nutrição no mundo, fator que contribui para a imunodeficiência. Além disto, em crianças, a diarreia também costuma ocorrer concomitantemente com pneumonia. A principal causa de diarreia infantil, infecções por rotavírus, pode ser prevenida com vacinas, mas não há vacina para criptosporidiose (RYAN et al., 2014).

Apesar do progresso nos últimos 20 anos na taxonomia e epidemiologia molecular de *Cryptosporidium*, ainda há muito a ser pesquisado. Estudos sobre a transmissão em humanos e animais são dificultados por falta de ferramentas adequadas para subtipagem de espécies de *Cryptosporidium* que sejam geneticamente distantes de *C. parvum* e *C. hominis*. Estes estudos podem levar à maior compreensão dos fatores de virulência, infectividade aos humanos e especificidade de hospedeiros (RYAN et al., 2014). Estas informações devem ampliar a compreensão sobre a estrutura da espécie e transmissão de *Cryptosporidium* sp. em humanos e animais (PULESTON et al., 2014; RYAN et al., 2014), além de contribuir para o desenvolvimento de vacinas e novas terapias de controle (RYAN et al., 2014). Sem um método de diagnóstico prático, tratamento efetivo para pacientes imunocomprometidos e vacinação efetiva, as chances de reduzir o impacto da doença num futuro próximo são limitadas (SHIRLEY et al., 2012).

Neste contexto de falta de medicamentos eficazes e de medidas adequadas de profilaxia e disseminação da doença, a sanidade e educação sanitária surgem como medidas eficazes de controle da criptosporidiose humana (RYAN et al., 2014; PAINTER et al., 2015). Medidas de controle e prevenção incluem boas práticas de higiene como lavar bem as mãos antes de preparar alimentos, após utilizar o banheiro, trocar fraldas de crianças, auxiliar ou tocar em pessoas doentes com sinais de diarreia, tocar animais ou após jardinagem. Em relação às piscinas, rios ou lagos, recomenda-se não ingerir a água, não nadar quando apresentar sinais de diarreia e levar crianças ao banheiro a cada 60 minutos, utilizar sistemas de tratamento suplementares eficientes para piscinas; tratar e filtrar água potável para inativar ou remover o parasita e atenção ao viajar (YODER et al., 2012; PAINTER et al., 2015).

A difícil eliminação do oocisto é condicionada pela inadequação dos métodos normalmente utilizados, pois o mesmo é resistente ao cloro, que geralmente é utilizado para diminuir a carga microbiana de alimentos frescos. Para inativá-lo por congelamento, são necessárias baixas temperaturas de pelo menos -20°C durante mais de oito horas. Portanto, pessoas que consomem alimentos crus tratados

apenas por cloro ou congelamento podem estar propícias a se infectarem. No entanto, o aquecimento do alimento por micro-ondas a 110W durante 20 segundos inativou a maioria dos oocistos. O choque térmico também foi eficiente, mas autores argumentam que o aquecimento foi o responsável pela inativação (DUHAIN et al., 2012).

É importante identificar a origem de um surto, seja hídrico ou alimentar, porque isto permite a implantação de medidas para restringir a amplitude ou repetição. Como forma de controle, o fornecimento de informações mais abalizadas sobre criptosporidiose alimentar deve estar aliado a intervenções para limitar a contaminação ou inativar os oocistos. Destaca-se que realizar análise de risco e de pontos de controle críticos permite a prevenção, o que provavelmente seria mais eficaz. Esta análise deve ser aplicada em todos os estágios da cadeia alimentar. Outro método de controle é melhorar a rastreabilidade do alimento, não somente de alimentos de origem doméstica, mas também os importados (ROBERTSON & CHALMERS, 2013).

O uso de água potável e recreativa contaminada por *Cryptosporidium* tem implicações importantes na saúde humana. O primeiro surto de criptosporidiose humana hídrica relatado foi nos EUA em 1984 e desde então vários surtos envolvendo centenas de pessoas foram identificados em várias partes do mundo. Contudo, apenas poucos grandes surtos foram documentados, sendo o maior deles em 1993 em Milwaukee, Estados Unidos. Em 2012, um aumento de infecções por *Cryptosporidium*, principalmente *C. hominis*, foi relatada na Europa (WIDERSTRÖM et al., 2014).

O risco de surtos por veiculação hídrica pode ser minimizado ao aperfeiçoar o controle da qualidade de água e empregar várias barreiras que removam ou inativem todos ou a maior parte dos grupos de patógenos (WIDERSTRÖM et al., 2014). Em tratamento de água, recomenda-se a utilização de irradiação ultravioleta (COLLINET-ADLER & WARD, 2010; YODER et al., 2012), a ozonização (YODER et al., 2012) ou a utilização de filtros com poros menores que um micrão (PAINTER et al., 2015). Autores relatam que a simples instalação de uma membrana de filtro adequada pode reduzir os índices de criptosporidiose de veiculação hídrica em 79% (HUNTER & THOMPSON, 2005).

A melhora do tratamento de água na Inglaterra e País de Gales, por exemplo, resultou em menor ocorrência de surtos de criptosporidiose relacionados à ingestão de água em anos recentes. Em contraste, surtos relacionados a piscinas, principalmente as públicas, continuam a ocorrer, com incidências maiores nas estações do ano em que a frequência em piscinas é maior. Surtos relacionados a outras interações com água também aumentaram (COETZEE et al., 2008).

Caso seja identificado um surto, o mais indicado é utilizar uma equipe multiprofissional de investigadores, microbiologistas, agentes de saúde ambiental e até a mídia local. É aconselhado alertar médicos e hospitais para monitorarem casos suspeitos. Membros da família ou contatos próximos ao doente, caso apresentem sintomas, devem ser orientados a buscarem assistência médica e submeterem amostras fecais para análise (COETZEE et al., 2008). Se o surto for relacionado à água potável, aconselha-se fervê-la antes de utilizá-la. Em um caso na Suécia, com 27.000 habitantes afetados, o agente pôde ser identificado na água durante mais de dois meses depois do surto, demonstrando que a utilização de barreiras microbianas inadequadas em tratamento de água podem acarretar sérias consequências para a saúde pública (WIDERSTRÖM et al., 2014).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da criptosporidiose ser uma doença que ocorre em cinco continentes e afeta grande número de hospedeiros, incluindo humanos, muitos países não têm um bom programa de monitoramento para avaliar a prevalência da doença em sua população. Em países onde existe este monitoramento ele é normalmente falho e incompleto, focando-se somente na transmissão hídrica do patógeno para humanos. No entanto, é comprovado que alimentos, solo e contato com animais infectados também têm grande importância no ciclo da parasitose.

Os países que estão em maior risco são justamente os que apresentam problemas no monitoramento e na prevenção da enfermidade. Não se conhece o real impacto da doença em países em desenvolvimento, como o Brasil. A maior parte das detecções do agente é realizada através de técnicas pouco sensíveis como microscopia, o que também não permite a diferenciação entre as espécies de *Cryptosporidium* e, conseqüentemente, impossibilita avaliar as rotas de transmissão e formas de prevenção. Apesar da sua grande validade, alguns autores alegam que o diagnóstico molecular e tipificação não sejam rotineiramente utilizados devido ao elevado custo.

Por não ser uma doença de notificação obrigatória no Brasil, há poucos relatos de casos e investigação insuficiente, o que reflete na subnotificação e dificuldade de avaliar os verdadeiros impactos ocasionados. Além do desconhecimento da prevalência das diferentes espécies de *Cryptosporidium* em diversas áreas, o difícil controle e eliminação do protozoário se devem à natureza extremamente resistente do oocisto, a ampla distribuição, alta infectividade, diversas espécies hospedeiras e ausência de medicamentos ou vacinas efetivas.

Deve-se levar em conta também que por ser uma doença emergente e reemergente, está mais propensa a surgir em países onde ainda não foi registrada e se disseminar conforme o crescimento da população. Para o futuro controle desta enfermidade, além da conscientização pública, os esforços para conhecimento epidemiológico, desenvolvimento de técnicas de diagnóstico eficazes, simples e mais baratas, e novas formas de controle, incluindo o desenvolvimento de vacinas, devem ser constantemente aperfeiçoadas.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ-PELLITERO, P.; SITJÀ-BOBADILLA, A. *Cryptosporidium molnari* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting two marine fish species, *Sparus aurata* L. and *Dicentrarchus labrax* L. **International journal for parasitology**, v. 32, n. 8, p. 1007-1021, 2002.

BALDURSSON, S.; KARANIS, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks—an update 2004–2010. **Water research**, v. 45, n. 20, p. 6603-6614, 2011.

BLANCHARD, P. C. Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 28, n. 3, p. 443-464, 2012.

BUSHEN, O. Y.; KOHLI, A.; PINKERTON, R. C.; DUPNIK, K.; NEWMAN, R. D.; SEARS, C. L.; FAYER, R.; LIMA, A. A. M.; GUERRANT, R. L. Heavy cryptosporidial infections in children in northeast Brazil: comparison of *Cryptosporidium hominis* and

Cryptosporidium parvum. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, n. 4, p. 378-384, 2007.

CDC. Journal Background and Goals. **Emerging infectious diseases**, Atlanta, Estados Unidos, 2015a. Disponível em: < wwwnc.cdc.gov/eid/page/background-goals >. Acesso em: 08 ago 2015.

CDC. Cryptosporidiosis. 2015b. Disponível em: < <http://www.cdc.gov/dpdx/cryptosporidiosis/index.html> >. Acesso em: 13 ago 2015.

CHALMERS, R. M.; SMITH, R.; ELWIN, K.; CLIFTON-HADLEY, F. A.; GILES, M. Epidemiology of anthroponotic and zoonotic human cryptosporidiosis in England and Wales, 2004–2006. **Epidemiology and Infection**, v. 139, n. 05, p. 700-712, 2011.

COETZEE, N.; EDEGHERE, O.; ORENDI, J.; CHALMERS, R.; MORGAN, L. A swimming pool-associated outbreak of cryptosporidiosis in Staffordshire, England, October to December 2007. **Euro surveillance: European Communicable Disease Bulletin**, v. 13, n. 45, 2008.

COLLINET-ADLER, S.; WARD, H. D. Cryptosporidiosis: environmental, therapeutic, and preventive challenges. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 29, n. 8, p. 927-935, 2010.

CUTLER, S. J.; FOOKS, A. R.; VAN DER POEL, W. H. M. Public health threat of new, reemerging, and neglected zoonoses in the industrialized world. **Emerging infectious diseases**, v. 16, n. 1, p. 1, 2010.

DUHAIN, G.; MINNAAR, A.; BUYS, E. M. Effect of chlorine, blanching, freezing, and microwave heating on *Cryptosporidium parvum* viability inoculated on green peppers. **Journal of Food Protection**, v. 75, n. 5, p. 936-941, 2012.

FAO. The State of Food Insecurity in The World. 2015. Disponível em: < <http://www.fao.org/3/a4ef2d16-70a7-460a-a9ac-2a65a533269a/i4646e.pdf> >. Acesso em: 13 ago 2015.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International journal for parasitology**, v. 30, n. 12, p. 1305-1322, 2000.

FAYER, R.; SANTÍN, M.; TROUT, J. M.; DUBEY, J. P. Detection of *Cryptosporidium felis* and *Giardia duodenalis* Assemblage F in a cat colony. **Veterinary parasitology**, v. 140, n. 1, p. 44-53, 2006.

FAYER, R.; TROUT, J. M.; XIAO, L.; MORGAN, U. M.; LAL, A. A.; DUBEY, J. P. *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 6, p. 1415-1422, 2001.

GRACZYK, T. K.; MAJEWSKA, A. C.; SCHWAB, K. J. The role of birds in dissemination of human waterborne enteropathogens. **Trends in parasitology**, v. 24, n. 2, p. 55-59, Feb2008.

HIGGINS, J. A.; FAYER, R.; TROUT, J. M.; XIAO, L.; LAL, A. A.; KERBY, S.; JENKINS, M. C. Real-time PCR for the detection of *Cryptosporidium parvum*. **Journal of microbiological methods**, v. 47, n. 3, p. 323-337, 2001.

HUNTER, P. R.; THOMPSON, R. C. A. The zoonotic transmission of Giardia and Cryptosporidium. **International journal for parasitology**, v. 35, n. 11, p. 1181-1190, 2005.

KOINARI, M.; KARL, S.; NG-HUBLIN, J.; LYMBERY, A. J.; RYAN, U. M. Identification of novel and zoonotic *Cryptosporidium* species in fish from Papua New Guinea. **Veterinary parasitology**, v. 198, n. 1, p. 1-9, 2013.

LAKE, I. R.; NICHOLS, G.; BENTHAM, G.; HARRISON, F. C.; HUNTER, P. R.; KOVATS, S. R. Cryptosporidiosis decline after regulation, England and Wales, 1989-2005. **Emerging infectious diseases**, v. 13, n. 4, p. 623-625, Apr2007.

LASSEN, B.; STÅHL, M.; ENEMARK, H. L. Cryptosporidiosis—an occupational risk and a disregarded disease in Estonia. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 56, n. 1, p. 1-3, 2014.

LI, N.; XIAO, L.; ALDERISIO, K.; ELWIN, K.; CEBELINSKI, E.; CHALMERS, R.; SANTIN, M.; FAYER, R.; KVAC, M.; RYAN, U. Subtyping *Cryptosporidium ubiquitum*, a zoonotic pathogen emerging in humans. **Emerging infectious diseases**, v. 20, n. 2, p. 217, 2014.

LUCIO-FORSTER, A.; GRIFFITHS, J. K.; CAMA, V. A.; XIAO, L.; BOWMAN, D. D. Minimal zoonotic risk of cryptosporidiosis from pet dogs and cats. **Trends in parasitology**, v. 26, n. 4, p. 174-179, 2010.

MACKEY, T. K.; LIANG, B. A.; CUOMO, R.; HAFEN, R.; BROUWER, K. C.; LEE, D. E. Emerging and reemerging neglected tropical diseases: a review of key characteristics, risk factors, and the policy and innovation environment. **Clinical microbiology reviews**, v. 27, n. 4, p. 949-979, 2014.

MAWLY, J. A.; GRINBERG, A.; VELATHANTHIRI, N.; FRENCH, N. Cross sectional study of prevalence, genetic diversity and zoonotic potential of *Cryptosporidium parvum* cycling in New Zealand dairy farms. **Parasites & vectors**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2015.

MEIRELES, M. V. *Cryptosporidium* infection in Brazil: implications for veterinary medicine and public health. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 4, p. 197-204, Oct-Dec2010.

MEIRELES, M. V.; DE OLIVEIRA, F. P.; TEIXEIRA, W. F. P.; COELHO, W. M. D.; MENDES, L. C. N. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in dairy calves from the state of São Paulo, Brazil. **Parasitology research**, v. 109, n. 3, p. 949-951, 2011.

MEIRELES, M. V.; SOARES, R. M.; BONELLO, F.; GENNARI, S. M. Natural infection with zoonotic subtype of *Cryptosporidium parvum* in Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 147, n. 1, p. 166-170, 2007.

MORENS, D. M.; FOLKERS, G. K.; FAUCI, A. S. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. **Nature**, v. 430, n. 6996, p. 242-249, 2004.

NAKAMURA, A. A.; SIMOES, D. C.; ANTUNES, R. G.; DA SILVA, D. C.; MEIRELES, M. V. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from fecal samples of birds kept in captivity in Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 166, n. 1-2, p. 47-51, Dec 32009.

NG, J. S. Y.; GIBBS, R.; KOEHLER, A.; RYAN, U. Molecular characterisation of *Cryptosporidium* outbreaks in Western and South Australia. **Experimental parasitology**, v. 125, n. 4, p. 325-328, 2010.

OIE. Emerging and re-emerging zoonoses. **Editorials**, 2015. Disponível em: < www.oie.int/for-the-media/editorials/detail/article/emerging-and-re-emerging-zoonoses >. Acesso em: 08 ago 2015.

PAINTER, J. E.; HLAVSA, M. C.; COLLIER, S. A.; XIAO, L.; YODER, J. S. Cryptosporidiosis Surveillance—United States, 2011–2012. **The Morbidity and Mortality Weekly Report Surveillance Summaries**, v. 64, p. 1-14, 2015.

PRASAD, K. J. Emerging and re-emerging parasitic diseases. **Journal of International Medical Sciences Academy**, v. 23, p. 45-50, 2010.

PULESTON, R. L.; MALLAGHAN, C. M.; MODHA, D. E.; HUNTER, P. R.; NGUYEN-VAN-TAM, J. S.; REGAN, C. M.; NICHOLS, G. L.; CHALMERS, R. M. The first recorded outbreak of cryptosporidiosis due to *Cryptosporidium cuniculus* (formerly rabbit genotype), following a water quality incident. **Journal of water and health**, v. 12, n. 1, p. 41-50, 2014.

QI, M.; WANG, R.; NING, C.; LI, X.; ZHANG, L.; JIAN, F.; SUN, Y.; XIAO, L. *Cryptosporidium* spp. in pet birds: genetic diversity and potential public health significance. **Experimental parasitology**, v. 128, n. 4, p. 336-340, Aug2011.

RAZZOLINI, M.; DA SILVA SANTOS, T.; BASTOS, V. Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* cysts/oocysts in watersheds and drinking water sources in Brazil urban areas. **Journal of water and health**, v. 8, n. 2, p. 399-404, 2010.

REBOREDO-FERNANDEZ, A.; ARES-MAZAS, E.; CACCIO, S. M.; GOMEZ-COUSO, H. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in wild birds in Galicia (Northwest Spain). **Parasitology**, v. 142, n. 7, p. 917-925, Jun2015.

RIEUX, A.; CHARTIER, C.; PORS, I.; DELAFOSSE, A.; PARAUD, C. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from high-excreting young dairy calves in dairy cattle herds in Western France. **Parasitology research**, v. 112, n. 10, p. 3423-3431, 2013.

ROBERTSON, L. J.; CHALMERS, R. M. Foodborne cryptosporidiosis: is there really more in Nordic countries? **Trends in parasitology**, v. 29, n. 1, p. 3-9, 2013.

ROSENTHAL, M.; PEDERSEN, R.; LEIBSLE, S.; HILL, V.; CARTER, K.; ROELLIG, D. M. Notes from the Field: Cryptosporidiosis Associated with Consumption of Unpasteurized Goat Milk—Idaho, 2014. **The Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 64, n. 7, p. 194-195, 2015.

ROSSI, G. A. M.; HOPPE, E. G. L.; MARTINS, A. M. C. V.; PRATA, L. F. Zoonoses parasitárias veiculadas por alimentos de origem animal: revisão sobre a situação no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 290-298, 2014.

RYAN, U.; FAYER, R.; XIAO, L. *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. **Parasitology**, v. 141, n. 13, p. 1667-1685, 2014.

SANTÍN, M.; TROUT, J. M.; FAYER, R. A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. **Veterinary parasitology**, v. 155, n. 1, p. 15-23, 2008.

SHIRLEY, D.-A. T.; MOONAH, S. N.; KOTLOFF, K. L. Burden of disease from cryptosporidiosis. **Current opinion in infectious diseases**, v. 25, n. 5, p. 555-563, 2012.

SILVA, C. G. M.; ANDRADE, S. A. C.; STAMFORD, T. M. O ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e outros parasitas em hortaliças consumidas in natura, no Recife. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, p. 63-69, 20052005.

SILVA, F. P.; LOPES, R.; BRESCIANI, K.; AMARANTE, A.; ARAUJO, J. High occurrence of *Cryptosporidium ubiquitum* and *Giardia duodenalis* genotype E in sheep from Brazil. **Acta Parasitologica**, v. 59, n. 1, p. 193-196, 2014.

SNEL, S. J.; BAKER, M. G.; KAMALESH, V.; FRENCH, N.; LEARMONTH, J. A tale of two parasites: the comparative epidemiology of cryptosporidiosis and giardiasis. **Epidemiology and Infection**, v. 137, n. 11, p. 1641-1650, 2009.

SPONSELLER, J. K.; GRIFFITHS, J. K.; TZIPORI, S. The Evolution of Respiratory Cryptosporidiosis: Evidence for Transmission by Inhalation. **Clinical microbiology reviews**, v. 27, n. 3, p. 575-586, 2014.

THOMAZ, A.; MEIRELES, M. V.; SOARES, R. M.; PENNA, H. F. J.; GENNARI, S. M. Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. from fecal samples of felines, canines and bovines in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 150, n. 4, p. 291-296, 2007.

THOMPSON, R. C.; PALMER, C. S.; O'HANDLEY, R. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. **Vet J**, v. 177, n. 1, p. 18-25, Jul2008.

TONANI, K. A. A.; PADULA, J. A.; JULIÃO, F. C.; FREGONESI, B. M.; ALVES, R. I. S.; SAMPAIO, C. F.; BEDA, C. F.; HACHICH, E. M.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Persistence of *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Rotavirus*, and *Adenovirus* in Treated Sewage in São Paulo State, Brazil. **J Parasitol**, v. 99, n. 6, p. 1144-1147, 2013.

TORGERSON, P. R.; MACPHERSON, C. N. L. The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: global trends. **Veterinary parasitology**, v. 182, n. 1, p. 79-95, 2011.

TOSCAN, G.; PEREIRA, R. C. F.; ARAUJO, L.; SANGIONI, L. A.; VOGEL, F. S. F. Comparação da prevalência de *Cryptosporidium* spp. em equinos de tração e em atletas do Jockey Club de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 436-440, 2010.

UPPAL, B.; SINGH, O.; CHADHA, S.; JHA, A. K. A comparison of nested PCR assay with conventional techniques for diagnosis of intestinal cryptosporidiosis in AIDS cases from northern India. **Parasitology research**, v. 2014, 2014.

VARGAS, S. F.; MARCOLONGO-PEREIRA, C.; ADRIEN, M. D. L.; FISS, L.; MOLARINHO, K. R.; SOARES, M. P.; SCHILD, A. L.; SALLIS, E. S. V. Surto de criptosporidiose em bezerros no Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 8, p. 749-752, 2014.

WALKER, C. L. F.; SACK, D.; BLACK, R. E. Etiology of diarrhea in older children, adolescents and adults: a systematic review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 8, p. e768-e768, 2010.

WIDERSTRÖM, M.; SCHÖNNING, C.; LILJA, M.; LEBBAD, M.; LJUNG, T.; ALLESTAM, G.; FERM, M.; BJÖRKHOLM, B.; HANSEN, A.; HILTULA, J. Large outbreak of *Cryptosporidium hominis* infection transmitted through the public water supply, Sweden. **Emerging infectious diseases**, v. 20, n. 4, p. 581, 2014.

XIAO, L.; FAYER, R. Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. **International journal for parasitology**, v. 38, n. 11, p. 1239-1255, 2008.

XIAO, L.; FAYER, R.; RYAN, U.; UPTON, S. J. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. **Clinical microbiology reviews**, v. 17, n. 1, p. 72-97, Jan2004.

YODER, J. S.; WALLACE, R. M.; COLLIER, S. A.; BEACH, M. J.; HLAVSA, M. C.; CENTERS FOR DISEASE, C.; PREVENTION. Cryptosporidiosis surveillance—United States, 2009–2010. **The Morbidity and Mortality Weekly Report Surveillance Summaries**, v. 61, n. 5, p. 1-12, 2012.