



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA**



LUCIANA DA SILVA BRITO

**INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM OOCISTOS ESPORULADOS DE
Eimeria maxima (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) EM FRANGOS DE CORTE**

**MANAUS
2013**

LUCIANA DA SILVA BRITO

INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM OOCISTOS ESPORULADOS DE *Eimeria maxima* (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) EM FRANGOS DE CORTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção de título de Mestre em Imunologia Básica e Aplicada.

Orientador: Professor Doutor Fagner Luiz da Costa Freitas

**MANAUS
2013**

B862i Brito, Luciana da Silva

Infecção experimental com oocistos esporulados de *eimeria maxima* (apicomplexa: eimeriidae) em frangos de corte / Luciana da Silva Brito; Fagner Luiz da Costa Freitas. – Manaus, 2013.

86 f.

Dissertação (Mestrado em Imunologia Básica e Aplicada)-Universidade Federal do Amazonas

Orientador: Prof. Dr. Fagner Luiz da Costa Freitas

1. Coccidiose. 2. *Eimeria maxima*. 3. Frangos de corte. 4. *Eimeria spp.* I. Título.

CDU: 636.09

LUCIANA DA SILVA BRITO

INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM OOCISTOS ESPORULADOS DE *Eimeria maxima* (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) EM FRANGOS DE CORTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção de título de Mestre em Imunologia Básica e Aplicada.

A comissão julgadora dos trabalhos de defesa de Mestrado em sessão pública realizada em...../...../.....

BANCA EXAMINADORA

Presidente: Doutor Fagner Luiz da Costa Freitas

Examinador (a) 2:

Examinador (a) 3:

A meu esposo Elder e meus filhos, Guilherme e João Pedro, pelo amor, companheirismo e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me concedido a força e serenidade necessária para concluir essa importante e ousada trajetória em minha vida.

De igual forma, agradeço meus pais e familiares pela vida e formação pessoal com honestidade, hombridade, dignidade, fé e motivação para sempre perseguir meus sonhos, por mais distante que estivessem, com discernimento, paciência e dentro dos padrões éticos que sempre nortearam nossa existência. À Universidade Federal do Amazonas, Universidade Federal do Tocantins e Laboratório de Análises Clínicas de Coari, por todo o apoio logístico para a execução dos experimentos.

Aos Professores Doutores: Raquel Borges Moroni, Welton Yudi Oda e Fábio Tonissi Moroni, pela participação em minha Banca de Qualificação.

À Professora Doutora Maria Cristina dos Santos, minhas reais manifestações de admiração, respeito e carinho.

A todos os demais professores do PPGIBA pela competência e disposição em compartilhar experiências.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Dr. Fagner Luiz da Costa Freitas pela orientação ímpar durante o curso de mestrado, despertando meu interesse para o tema proposto no presente trabalho.

E, por fim, a todos aqueles que por um lapso não mencionei, mas que colaboraram para esta pesquisa: abraços fraternos a todos!

“Renda-se como eu me rendi. Mergulhe no que você não conhece, como eu mergulhei. Pergunte, sem querer, a resposta, como estou perguntando. Não se preocupe em ‘entender’. Viver ultrapassa todo o entendimento ”.

Clarice Lispector

RESUMO

A avicultura é considerada uma importante atividade econômica em diversos países. Em instalações de grande escala de criação, onde aves são expostas a fatores estressantes, problemas relacionados a doenças e deterioração das condições ambientais ocorrem freqüentemente e resultam em graves perdas econômicas. Apesar de ser uma doença relativamente antiga, a coccidiose ainda é uma das principais enfermidades causadoras de perdas econômicas em frangos de corte e reprodutoras. O presente trabalho visa avaliar as alterações patológicas e metabólicas em frangos de corte infectados experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria maxima*. A pesquisa foi desenvolvida na Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), localizada no município de Araguaína – TO, onde foram realizados o protocolo experimental e as análises zootécnicas; no Laboratório de Histologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em Manaus-AM, onde foram realizadas a confecção e análise das lâminas histológicas; e no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Regional de Coari, município de Coari – AM, onde foram feitas as análises bioquímicas. Para realização do experimento, foram utilizados 150 frangos de corte da linhagem Coob, machos, com dez dias de idade, randomizados de acordo com o peso e distribuídos em dois grupos experimentais: grupo controle, sendo inoculado com 0,5 ml de água destilada; grupo infectado, inoculado com 0,5ml de solução contendo 5×10^4 oocistos esporulados de *Eimeria maxima*. O desempenho zootécnico foi avaliado no 0 (dia da inoculação), 5°, 10°, 15°, 25° e 35° dpi, sendo abatidas, por deslocamento cervical, quinze aves/grupo. Os primeiros sinais clínicos foram perceptíveis no 5° dpi, onde as aves apresentaram apatia seguida de diarreia fétida, mucóide, penas eriçadas e ganho de peso inferior quando comparado com as aves do grupo controle. Ao final do experimento o grupo controle produziu 28,839 kg de carne e o grupo infectado 28,053kg de carne dos frangos utilizados no trabalho. Apesar da somatória na produção da carne ter sido maior no grupo controle O peso do coração e da moela dos animais experimentais não apresentou diferença significativa, já o fígado teve diferença no dia 5°, 15° e 35° dpi. Quanto ao hematócrito os frangos experimentais não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) desde o início do experimento até o final, 5° - 35°dpi. Os níveis de proteínas mantiveram-se significantes ($p < 0,05$) em todos os dias de coleta. A avaliação patológica evidenciou mucosa congesta e presença de grande quantidade de muco no 6° dpi. Diante disso, conclui-se que a dose de 5×10^3 de *E. maxima* inoculada no grupo experimental foi suficiente para ocasionar danos ao organismo animal.

Palavras –chave: Coccidiose. *Eimeria maxima*. Frangos de corte. *Eimeria spp.*

ABSTRACT

The poultry industry is an important economic activity in many countries. In large-scale installations of creation, which birds are exposed to stressors, problems related to diseases and deteriorating environmental conditions often occur and result in serious economic losses. Despite being a relatively old disease, coccidiosis is still one of the main diseases causing economic losses in broilers and breeders. This study aims to evaluate the metabolic and pathological changes in broilers experimentally infected with oocysts of *Eimeria maxima*. The research was conducted at the School of Veterinary Medicine and Animal Science of the Federal University of Tocantins (UFT), located in the municipality of Araguaína - TO, being performed the experimental protocol and analysis husbandry, in the Histology Laboratory of the Federal University of Amazonas (UFAM) in Manaus-AM, where I made the preparation and analysis of histological slides, and the Laboratory of Clinical Analysis of the Regional Hospital of Coari, from Coari - AM, where biochemical analyzes were performed. To perform the experiment, we used 150 broiler strain cooB males, with ten days of age were randomized according to weight and randomly assigned to two experimental groups: control group was inoculated with 0.5 ml of distilled water; infected group inoculated with 0.5 ml of solution containing 5×10^4 sporulated oocysts of *Eimeria maxima*. The live performance was evaluated at 0 (day of inoculation), 5 °, 10 °, 15 °, 25 ° and 35 ° dpi, being slaughtered by cervical dislocation, fifteen birds / group. The first clinical signs were noticeable on the 5th dpi, where the birds showed apathy followed by fetid diarrhea, mucoid, ruffled feathers and lower weight gain compared with the control group of birds. At the end of the experiment the control group produced 28.839 kg of meat infected group and 28.053 kg of meat of chickens used in the study. Although the sum in beef production was higher in the control group The weight of the heart and gizzard of the experimental animals showed no significant difference, because the liver had difference on day 5 °, 15 ° and 35 ° dpi. As for hematocrit experimental chickens showed no significant difference ($p > 0.05$) from baseline to the end of the experiment, 5 ° - 35 ° dpi. Protein levels remained significant ($p < 0.05$) on all days of collection. The pathologic evaluation showed congested mucosa and presence of large amounts of mucus at 6 dpi. Therefore, it is concluded that the dose of 5×10^3 E. Maximum inoculated in the experimental group was enough to cause harm to the animal organism.

Key-words: coccidiosis. *Eimeria maxima*. Broilers. *Eimeria spp.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Oocistos esporulados de <i>E. maxima</i> utilizados na infecção dos animais experimental.....	26
Figura 2 - Gaiolas de ferro utilizadas no experimento apresentando comedouro (a) e bebedouro (b) do tipo calha.....	27
Figura 3 - Registro de dados zootécnicos obtidos dos animais experimentais.....	28
Figura 4 - Copos coletores contendo formol à 10% para conservação de fragmentos intestinais para confecção de lâminas histológicas.....	29
Figura 5 - Coleta de sangue dos animais experimentais. a) Material utilizado para coleta de sangue. b) Contenção do animal e punção intra-cardíaca para coleta de sangue em animal experimental.....	30
Figura 6 - Determinação de hematócrito utilizando centrífuga de tubos de microhematócrito.....	30
Figura 7 - Animal infectado apresentando debilidade física no 6° dpi.....	32
Figura 8 - Oocistos isolados das fezes dos animais do grupo infectado durante o período de patência e esporulados “ <i>in vitro</i> ” para confirmação da espécie.....	33
Figura 9 - Gráfico de Produção de carne do 5° ao 35° dpi em grama.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros zootécnicos de frangos do grupo controle e infectado experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria maxima*.....34

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos e bioquímicos de frangos do grupo controle e infectado experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria máxima*..... 36

LISTA DE ABREVIATURAS

ANUALPEC	Anuário da Pecuária Brasileira
AM	Amazonas
AVISITE	Portal da Avicultura na Internet
CDC	Centers for Disease Control
CÉLULA T	Linfócito T, tipo de leucócito
dpi	dias após a infecção
DP	Desvio Padrão
E.	Eimeria
E.a.	Eimeria acervulina
EDTA	Ethylene diamine tetra acetic acid
EUA	Estados Unidos da America
FNT	Fator de Necrose Tumoral
GALT	Tecido Linfoide Associado ao Trato Gastrointestinal
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IL	Interleucina
INF	Interferon
iNOS	Enzimas sintetáveis do Oxido Nitrico
IEL	Linfócitos Intra-epiteliais
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
NO ²	Oxido nítrico
NO ³	Nitrato de sódio
NRC	National Research Council

PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RNA	Acido Ribonucleico
spp	espécies
SCCW	Saccharomyces cerevisiae associadas a parede celular de leveduras
T CD4	Linfócito T auxiliar
TO	Tocantins
UBABEF	União Brasileira de Avicultura
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
UFT	Universidade Federal do Tocantins
USDA	United States Department of Agriculture
VLDL	Lipoproteína de muito Baixa Densidade
µm	micrometro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISSÃO DE LITERATURA	15
2.1 O Gênero <i>Eimeria</i>	15
2.2 <i>Eimeria máxima</i> Tyzzer.....	15
2.3 Biologia Parasitária.....	17
2.4 Epidemiologia no Brasil.....	18
2.5 Sinais clínicos e achados de necropsia.....	19
2.6 Imunologia.....	21
2.7 Diagnóstico.....	22
2.8 Prevenção e controle.....	23
3 OBJETIVOS	25
3.1 Objetivo Geral.....	25
3.2 Objetivos Específicos.....	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1 Local do estudo.....	26
4.2 Animais e protocolo experimental.....	26
4.3 Contagem de oocistos de <i>Eimeria maxima</i> nas fezes e avaliação dos sinais clínicos.....	27
4.4 Avaliação do desempenho zootécnico.....	28
4.5 Avaliação patológica.....	29
4.6 Avaliação das alterações hematológicas e metabólicas.....	29
4.7 Análise Estatística.....	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 Desempenho sobre hematócrito e dados bioquímicos.....	35
5.2 Análise histopatológica.....	37
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
REFERÊNCIAS	40
APÊNDICES	47
ANEXOS	48

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas houve um aumento no consumo de carne de frango no Brasil e no mundo, isso por sua vez obrigou o desenvolvimento de tecnologias para serem empregadas na produção avícola industrial a fim de melhorar a alimentação e a precocidade dos frangos que são levados para o abate (LUCHESE et al., 2007).

O consumo interno de frango está em ascensão no Brasil, a média em 2011 foi de 47 quilos por habitante em comparação com o ano de 2010 que foi de 44 quilos por habitante, conquistando a terceira colocação no ranking mundial de consumo per capita de carne de frango, atrás apenas dos Estados Unidos e Arábia Saudita (UBABEF, 2013). Segundo Avisite (2013), dados preliminares da USDA apontam um volume de pouco mais de 4 (quatro) milhões de toneladas na exportação de carne de frango, o que representa um aumento de 4% em comparação com o ano de 2009.

Mesmo com uso de elevada tecnologia, o intensivo sistema de produção de frangos, não assegura que o ambiente de criação das aves esteja livre de patógenos que prejudicam a eficiência do aproveitamento dos nutrientes das rações, em consequência do provável aparecimento de desordens entéricas (RAMOS et al., 2011).

A principal parasitose encontrada na avicultura é ocasionada por protozoários do gênero *Eimeria*, também conhecidos como coccídeos, sendo responsáveis por sérios prejuízos econômicos, principalmente, devido a casos de diarreia e mortes em animais jovens (SANTOS et al., 2003; LUCHESE et al., 2007).

As eimerioses apresentam caráter endêmico nas granjas, sendo descritas sete espécies de *Eimeria* que causam coccidiose em aves: *E. acervulina*, *E. praecox*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. tenella*, *E. brunetti* (FREITAS, 2011; LUCHESE et al., 2007; PENHA et al., 2008).

Os agentes causadores da coccidiose são parasitos intracelulares que multiplicam - se no intestino, causando destruição tecidual e prejudicando a digestão e a absorção dos alimentos, resultando num quadro clínico de diarreia aquosa ou hemorrágica (KAWASOE, 2000). Para Allem (2002), os sinais clínicos da coccidiose variam de acordo com a espécie de coccídeos presentes na infecção. A *Eimeria maxima* é moderadamente patogênica e considerada dentre as demais espécies como a mais imunogênica (ALLEN; JENKINS e MISKA, 2005; SHARMAM, 2010),

causando queda no ganho de peso, elevada morbidade, diarreia e, raramente, mortalidade (IDRIS et al., 1997; ZULPO et al., 2007). Produtores interessados na manutenção de uma boa coloração da pele, bem como criações de aves de postura devem estar preocupados com infecções subclínicas porque o efeito dessa espécie está relacionado à absorção de xantofila e pigmentos carotenóides pelo intestino delgado (Mc DOUGALD, 2007).

Goodwin, Brown e Bounous (1998), estudando os diferentes métodos de detecção para *E. maxima*, concluíram que o método de avaliação pelo escore de lesão, individualmente, não confere grande valor diagnóstico, sendo o grau de lesão histopatológico o melhor método diagnóstico seguido da contagem microscópica de oocistos.

O estudo visa elucidar os mecanismos envolvidos na relação hospedeiro-parasito por meio da avaliação das alterações patológicas e metabólicas em animais infectados experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria maxima*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O gênero *Eimeria*

Rivolta e Silvestrini (1873) classificaram como *Eimeria avium* as espécies de coccídia apresentando oocistos tetraesporocísticos, encontradas em diversas espécies de aves. Em seguida, no ano de 1891, Railliet e Lucet, descreveram o *Coccidium tenellum*, posteriormente designada *E. tenella* por Fanttam em 1909, como espécie parasita de pintos, causadora de doença no ceco, baseando as espécies nas medidas dos oocistos e em infecção experimental em pintos normais (Tyzzer, 1929).

Posteriormente, Tyzzer (1929) descreveu três novas espécies de *Eimeria* causadoras da enfermidade em aves: *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. mitis*. Duas outras espécies, *E. necatrix* e *E. praecox*, foram descritas mais tarde por Johnson (1930). Logo em seguida, Levine (1942) descreveu outra espécie o qual denominou de *E. brunetti* (REID; LONG e MCDOUGALD, 1984).

Segundo Entzeroth, Mattig e Meier (1998), as espécies do gênero *Eimeria*, pertencem ao filo Apicomplexa, classe Sporozoea e família Eimeriidae. O filo *Apicomplexa* apresenta um conjunto de organelas características denominadas de complexo apical, e constituídas por anéis polares, conóide (organela de penetração), microtúbulos subpeliculares, roptrias (formação do vacúolo parasitóforo), micronemas (responsável pela adesão e reconhecimento da célula hospedeira) e grânulos densos (remodelação metabólica para o desenvolvimento do parasita) (Tyzzer, 1929).

2.2 *Eimeria maxima* Tyzzer 1929

Sete espécies de *Eimeria* são geralmente consideradas como agentes causadores da coccidiose aviária, e são *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox* e *E. tenella* (Tyzzer, 1929). As diferenças atribuídas à espécie são em relação à sua biologia, tais como local de desenvolvimento, aparência morfológica, os estágios do ciclo de vida, os períodos pré-patente e patente e especificidade imunológica (SCHNITZLER e SHIRLEY, 1999).

Dentre as espécies citadas, *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella* são consideradas as mais importantes para a indústria avícola, devido a sua onipresença nas granjas, patogenicidade inata e características imunológicas (CARDOZO e; LILLEHOJ et al., 2004; PRADO, 2005; YAMAMURA, 2006), sendo *E. maxima* considerada, dentre as demais espécies, uma das que possui maior patogenicidade (SHARMAN, 2010).

De acordo com Mc Dougald (2007) os oocistos de *E. maxima* são ovóides, com parede lisa ou um pouco rugosa e apresentam duas camadas. Reid, Long e Mc Dougald (1984) descreveram que os maiores oocistos medem 42,5µm por 29,8µm e os menores de 21,5µm por 16,5µm, com uma média de 30,5 x 20,7 µm de cor dourada, superando desta forma o tamanho dos oocistos de outras espécies. Apesar do tamanho grande dos oocistos, descreve que o oocisto maduro é menor que o microgametócito, e que os merozoítos são menores do que os das espécies *E. mitis* e *E. acervulina*. Segundo Tyzzer (1929) *E. maxima* acomete principalmente a região média do intestino delgado, além de apresentarem lesões também no duodeno e no íleo, e o nome dessa espécie se deve ao tamanho grande dos seus oocistos (SANTOS et al., 2003; SHIOTANI et al., 1992).

Esta espécie deveria ser classificada como moderada a severamente patogênica. Mortalidade leve a moderada tem sido relatada tanto nos experimentos a campo quanto nas infecções experimentais, e em vários casos há extremo emagrecimento, palidez, engrossamento das penas e anorexia. (REID, LONG e MCDOUGALD, 1984). BORDIN (1994) e IDRIS et al. (1997) descreve que a infecção causa enterite hemorrágica associada ao espessamento da parede intestinal, e as lesões estão confinadas geralmente à metade superior das vilosidades. O primeiro autor relata ainda que no epitélio, os esquizontes aparecem acima do núcleo e também na lâmina própria, de acordo com a severidade da doença, e que as fases de merogonia e gametogamia são consideradas importantes como geradoras de lesões.

Segundo REID et al. (1984), os escores de lesão estão entre 0 e 4 e são baseados nos números comparativos de petéquias, quantidade de muco sanguíneo, grau de espessamento e inchaço da porção média do intestino delgado.

2.3 Biologia Parasitária

A coccidiose aviária é transmitida mediante as fezes do animal infectado, onde os coccídios completam seu ciclo de vida dentro das células do intestino hospedeiro (FERNANDO; ROSE e MILLARD, 1987). No ambiente, o animal infectado elimina oocistos não esporulados juntos as fezes e, em condições climáticas favoráveis de umidade, temperatura e oxigenação (WALDENSTED et al., 2001), estes sofrem esporulação tornando-se assim infectantes podendo suportar, durante meses, condições adversas até que seja ingerido por um hospedeiro (KAWAZOE, 2009).

Um dos principais fatores contribuintes para a resistência no meio ambiente é a espessura da parede do oocisto. De maneira geral, os oocistos com paredes mais espessas são mais resistentes às condições adversas favorecendo a manutenção dos oocistos, onde os animais são criados (GARDNER et al., 1991).

Entretanto, essa mesma parede espessa que protege o oocisto contra condições adversas aumenta o período de esporulação, por exemplo: os oocistos de *E. escomeli*, parasito de tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*), em condições de oxigenação e temperatura controlada apresentam um período de esporulação de semanas devido à sua parede espessa (FREITAS et al., 2006; GARDNER et al., 1991). Enquanto que os oocistos de *E. acervulina*, parasitos de frangos, apresentam um tempo de esporulação de no máximo 2 dias (MICHAEL e HODGES, 1971; WILLIAMS, 1995) quando submetidos às mesmas condições ambientais citadas anteriormente, e tais diferenças se devem às respectivas espessuras de parede.

O término da esporogonia, segundo Norton e Chard (1983), é indicada pelo aparecimento de dois grandes grânulos polares e o corpo Stieda no esporocisto. Segundo Waldenstedt et al. (2001), o tempo mínimo de esporulação para *E. maxima* é um dos maiores quando comparado com outras espécies parasitas de frangos com um tempo médio de 36 horas.

Após ingestão do oocisto esporulado, os esporozoítos invadem a célula hospedeira, mais precisamente os enterócitos (FERNANDO; ROSE e MILLARD, 1987). A membrana do oocisto se rompe pela ação mecânica inicial da moela e pelos estímulos de temperatura e gás carbônico liberando os esporocistos. No duodeno, a ação da tripsina digere uma estrutura chamada corpo de Stieda e os sais biliares estimulam a mobilidade dos esporozoítos, promovendo a excitação e sua

liberação para a luz intestinal. Uma vez livres na luz intestinal, os esporozoítos invadem ativamente a célula hospedeira, formando um vacúolo parasitóforo, nas células da lâmina própria ou criptas epiteliais transformando-se em trofozoítos ou merontes uninucleados com forma arredondada (ENTZEROTH; MATTIG e MEIER, 1998) (Figura 1). O período pré-patente é de 120 horas para *E. maxima* (BORDIN, 1994; JOHNSTON et al., 2001).

O ciclo assexuado ocorre primeiramente com a formação de merozoítos por um processo de merogonia onde ocorre a divisão sucessiva do núcleo, com formação final de merozoítos dentro do meronte. Este produz no seu interior um número variável de merozoítos, dependendo da espécie de *Eimeria*. Após romperem a célula hospedeira, os merozoítos atingem a luz intestinal tornando assim os chamados esporozoítos que invadem novas células epiteliais intestinais formando uma nova geração de merozoítos (LONG, 1987).

Fernando; Rose Millard (1987), estudando a migração dos esporozoítos intra e extra-entericamente, observaram que estágios iniciais de *E. maxima*, não são confinados somente ao intestino, mas que estágios infectantes podem ser encontrados no sangue, nos sinusóides do fígado e baço. Segundo os mesmos autores, as células responsáveis por carrear esporozoítos de *E. maxima* são os linfócitos intra-epiteliais, cerca de 6 horas após infecção. Alguns desses merozoítos, pelo mesmo processo, originam uma terceira e quarta geração de merontes, enquanto outros ao penetrarem em novas células iniciam a fase sexuada com formação de gametas masculinos (microgametas) e femininos (macrogametas).

2.4 Epidemiologia no Brasil

A coccidiose é uma doença de distribuição mundial, sendo responsável por causar grandes perdas econômicas para a cadeia produtiva avícola em diversos países (KHAN et al., 2008; MUAZU et al., 2008), inclusive no Brasil (CARDOZO e YAMAMURA, 2006). As perdas econômicas estão associadas à morbidade persistente (CARDOZO e YAMAMURA, 2006), decorrente da má administração dos medicamentos, resistência dos isolados de *Eimeria* spp, anticoccidianos (VERDUZCO; CUEVAS e COELLO, 2009), manejo inadequado dos locais de criação (TOLEDO et al., 2011) e do uso inadequado de vacinas vivas virulentas (SCHNITZLER e SHIRLEY, 1999).

No Brasil, o primeiro caso de eimeriose aviária foi relatado por Reis e Nóbrega (1936) no Estado de São Paulo e, dentre as espécies descritas, encontrava-se *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella*, sendo as mesmas monitoradas atualmente nas granjas por meio do escore de lesão no intestino.

Pesquisas epidemiológicas sobre a enfermidade são escassas no país, porém demonstram a alta prevalência do patógeno nas granjas avícolas. Estudos realizados em granjas de frangos de corte em diversos municípios do país mostram a ocorrência das seis espécies de Eimeria: *E. maxima*, *E. brunetti*, *E. tenella*, *E. acervulina*, *E. mitis* e *E. necatrix*, sendo a *E. maxima* a mais freqüente (CARDOZO e YAMAMURA 2006; LUCHESE et al. 2007; TERRA et al., 2001).

No estado do Tocantins, Toledo et al. (2011), estudando a presença da coccidiose na região de Araguaína, mostrou que a frequência da enfermidade nessa região foi de 100%, e possui a presença de quatro das espécies que acometem as aves, dentre elas *E. maxima*. Esta, encontra-se presente com alta prevalência desde criações industrial e alternativa (LUCHESE et al., 2007) até em lotes vacinados e tratados com anticoccidiano (CARDOZO e YAMAMURA, 2006). Segundo Shirley (1994), a elevada frequência da *E. maxima* é atribuída à pronunciada diversidade antigênica entre as diferentes populações, sendo classificada, de acordo com Reid, Long e McDougald (1984), como uma espécie moderada a severamente patogênica, relatada tanto em experimentos a campo quanto em infecções experimentais.

2.5 Sinais clínicos e achados de necropsia

A doença é espécie específica e afeta o hospedeiro de várias formas, dependendo da preferência tecidual do parasito especificamente envolvido e do número de oocistos ingeridos na infecção inicial (CONWAY et al., 1993; SHAH et al., 2010).

Segundo Mc Dougald (2007), mínimos danos teciduais ocorrem com os primeiros dois ciclos assexuais, que desenvolvem superficialmente nas células epiteliais da mucosa. Quando no estágio sexual, desenvolvem-se mais profundamente nos tecidos nos dias 5-8 após infecção, lesões se desenvolvem devido à congestão e edema, infiltração celular e espessamento da mucosa (SHARMAM, 2010).

E. maxima é moderadamente patogênica e considerada dentre as demais espécies como a mais imunogênica (ALLEN; JENKINS e MISKA, 2005; SHARMAM, 2010), causando queda no ganho de peso, elevada morbidade, diarreia e, raramente, mortalidade. (IDRIS et al., 1997; ZULPO et al., 2007). Produtores interessados na manutenção de uma boa coloração da pele, bem como criações de aves de postura devem estar preocupados com infecções subclínicas porque o efeito dessa espécie está relacionado à absorção de xantofila e pigmentos carotenóides pelo intestino delgado (Mc DOUGALD, 2007).

As lesões principais são as hemorragias na porção média do intestino, mais especificamente na região de jejuno e íleo (ZULPO et al., 2007). Há enterite catarral, o conteúdo intestinal é viscoso com presença de muco, apresentando-se marrom-alaranjado. Gametócitos ou oocistos amarelados grandes podem ser vistos em esfregaços da mucosa intestinal (ALLEN; JENKINS e MISKA, 2005). A histopatologia é caracterizada por edema e infiltração celular, desenvolvimento de esquizontes a partir do 4º dia pós-infecção (dpi) (FERNANDO; ROSE e MILLARD, 1987), e estágios sexuais (macrogametas e microgametas) nos tecidos profundos nos dias 5-8 (Mc DOUGALD, 2007).

Segundo Johnson e Reid (1970), os escores de lesão são classificados entre 0 e 4, baseados nos números comparativos de petéquias, quantidade de muco sanguíneo, grau de espessamento e inchaço da porção média do intestino delgado. Alguns estudos já foram realizados com intuito de saber as alterações fisiopatológicas em aves infectadas por *Eimeria* spp. Voeten, Orthel e Rigen (1988) ao inocular, simultaneamente, *E. maxima* e *E. acervulina* em frangos de corte observaram queda no ganho de peso corporal devido a uma má absorção de nutrientes.

A enterite sanguinolenta que afeta a digestão, prejudica a absorção de eletrólitos, conforme as pesquisas desenvolvidas por Turk (1973) que observou redução na absorção de cálcio, ferro (TURK, 1981), magnésio (TURK; GUNJI e MOLITORIS, 1982). Posteriormente, Turk (1986) observou que as concentrações de macro e de microelementos também reduziram durante a infecção causada por coccídios.

2.6 Imunologia

A coccidiose provoca no hospedeiro a ativação das respostas imune humoral e celular, sendo esta última a principal responsável pela proteção contra a enfermidade (HONG et al., 2006; GALHA; BONDAN e LALLO, 2008; LILLEHOJ et al., 2004; YUN; LILLEHOJ e LILLEHOJ, 2000). A principal forma de imunidade envolvida nessa proteção é realizada principalmente por células T residentes no tecido linfóide associado à mucosa intestinal (GALT). Os linfócitos T parecem responder à coccidiose tanto pela produção de citocinas como por ataque citotóxico direto nas células afetadas (ALLEN e FETTERER, 2002).

E. maxima é altamente imunogênica e requer apenas um pequeno número de oocistos capaz de induzir imunidade (LILLEHOJ E LILLEHOJ, 2000; YUN, LILLEHOJ e LILLEHOJ, 2000). Laurent et al. (2001) utilizando método de extração de RNA observou que a resposta imune em *E. maxima* ocorre principalmente na parte mais apical da mucosa.

As citocinas têm uma função importante como reguladora da resposta imune e sua concentração depende da dose de inoculação (ALLEN e FETTERER, 2002). São produzidas pelos macrófagos de animais infectados e, no caso de *Eimeria maxima*, as principais envolvidas são interleucina 1 (IL-1), uma citocina pró-inflamatória que estimula a secreção de quimiocinas por fibroblastos, macrófagos e células epiteliais (ALLEN, 1997) e, fator de necrose tumoral (FNT) (YUN; LILLEHOJ e LILLEHOJ, 2000) que juntamente com IFN- γ , estimula a produção de óxido nítrico (NO_2^- e NO_3^-) pela iNOS (ALLEN e FETTERER, 2002; KIM et al., 2008; LAURENT et al., 2001) e a síntese de mais citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (HONG, 2008).

Segundo Cornelissen et al. (2009) a infecção por *E. maxima* induz uma resposta de células T CD4^+ e macrófagos, tendo um aumento de IL-8 IL-10 e IFN- γ durante a infecção. Os macrófagos estimulados pela infecção inicial são os principais produtores de citocinas (ALLEN, 1997).

Durante infecção por *E. maxima*, existe uma maior variação na expressão de resposta Th1 e IFN- γ nos dias 3° e 13° dpi (CORNELISSEN et al., 2009). A presença de uma grande quantidade de IFN na mucosa é capaz de estimular a síntese de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (HONG, 2008; LAURENT et al., 2001).

Um grande número de linfócitos e macrófagos também estão presentes em mucosa de frangos infectados com *E.maxima* (CORNELISSEN, et al., 2009). Heterófilos geralmente são ausentes, o que indica que essas células não desempenham um papel importante na produção de radicais livres durante a resposta imune à infecção por *E.maxima* (ALLEN, 1997). Segundo Allen, Jenkins e Miska (2005), os altos escores de lesão e altas quantidades de NO_2^- e NO_3^- estão associados com o aumento da patologia da doença (ALLEN, JENKINS e MISKA, 2005).

2.7 Diagnóstico

O diagnóstico específico da coccidiose tem sido tradicionalmente feito pela morfologia e contagem de oocistos nas fezes das aves; localização e morfologia dos parasitos no intestino das aves; presença, característica, localização e intensidade das lesões macroscópicas no intestino; período mínimo de pré-patência e pelo tempo de esporulação dos oocistos, embora a maioria dos autores reconheçam que esses métodos de diagnóstico são primitivos, demorados e, frequentemente ineficientes na identificação das espécies de *Eimeria*. (LONG et al., 1976; LONG e JOYNER, 1984; TSUJI, 1997)

Goodwin; Brown e Bounous (1998), estudando os diferentes métodos de detecção para *E. maxima*, conclui que o método de avaliação pelo escore de lesão, individualmente, não confere grande valor diagnóstico, sendo o grau de lesão histopatológico o melhor método diagnóstico seguido da contagem microscópica de oocistos. Idris et al. (1997) também confirma que a microscopia é um método mais sensível e objetivo de avaliação das infecções coccidianas quando comparado com o grau de escore de lesão.

Uma valiosa ferramenta moderna como sucessor aos tradicionais métodos de diagnóstico, são os métodos moleculares como o Real Time PCR uma vez que são rápidos, confiáveis e podem ser aplicados em pesquisa para coccidiose, em controle de qualidade em laboratórios e durante fabricação de vacinas vivas (VRBA; BLAKE e POPLSTEIN, 2010). Entretanto, o PCR ainda não se mostra eficiente no diagnóstico da enfermidade a campo para material coletado de fezes (PRADO, 2005).

2.8 Prevenção e Controle

Espécies de *Eimeria* spp são potencialmente patogênicas e capazes de induzir uma forte resposta imune (ALLEN e FETTERER, 2002; YUN; LILLEHOJ e LILLEHOJ, 2000;). Existem diferenças entre os isolados de *Eimeria* spp. em todo o mundo (DANFORTH, 1998; MARTIN et al., 1997; MUAZU et al., 2008), não existindo imunidade cruzada entre as espécies nas aves (SHAH et al., 2010). Sendo assim, uma vacina produzida para uma única espécie, não confere imunidade eficiente contra todas as espécies de *Eimeria*, e surtos posteriores podem ocorrer por espécies diferentes.

Infecção mista causada por mais de uma espécie de *Eimeria* e acometendo simultaneamente o mesmo hospedeiro, também pode ocorrer. Assim, isolar e avaliar as variações regionais de *Eimeria* spp. podem ser alternativas muito importantes para verificar a sua patogenicidade, e a possível utilização na produção de vacinas vivas atenuadas (ALLEN, JENKINS e MISKA, 2005) .

A variação antigênica observada e isolada em *E. maxima* foi descrita em amostras coletadas de diferentes regiões geográficas (ALLEN; JENKINS e MISKA, 2005; DANFORTH, 1998; MARTIN et al., 1997). Shah et al. (2010) utilizando vacina contra as espécies *E. tenella*, *E. necatrix* e *E. maxima* simultaneamente, observaram que a vacina conferiu, respectivamente, uma boa, média e baixa imunidade nos animais imunizados, comprovando que é improvável a ocorrência de melhoras significativas da condição corporal em galinhas vacinadas e desafiadas contra *E. maxima*, sendo necessário mais investigações no sentido de encontrar um antígeno que confira imunidade para mais de uma espécie de *Eimeria* spp. conjuntamente, incluindo *E. maxima*.

As vacinas vivas atenuadas administrada por via oral são estimulantes poderosos da imunidade mediada por células intestinais, mas a variabilidade antigênica entre as espécies de *Eimeria* presentes no campo podem limitar a sua aplicação comercial (LILLEHOJ e LILLEHOJ, 2000).

Quatro vacinas vivas estão disponíveis atualmente: duas vacinas vivas compostas virulentas: vacina Coccivac[®] (Scientific American Laboratories Inc., EUA) e vacina Immunocox[®] (Vetech Laboratories, Canadá), e duas atenuadas: vacina Paracox[®] (Schering Plough Saúde Animal, Reino Unido) e vacina Livacox[®] (Biopharm, Czech Republic) (SCHNITZLER e SHIRLEY, 1999).

O controle da coccidiose também se dá através de medicamentos anticoccidianos nas rações (BRADAN, 2006), porém com a habilidade dos parasitos de desenvolver resistência a droga, e à luz da crescente preocupação pública sobre resíduos nos alimentos, os pesquisadores estão envolvidos na concepção de métodos alternativos de prevenção e controle (ALLEN e FETTERER, 2002).

Costa et al (2000), relata que aves com desafios baixos ou moderados de *E. maxima*, como em frangos criados em cama de primeiro uso e aves de uma única idade apresentam resultados melhores quando se utiliza medicação anticoccidiana a partir dos 14 dias de idade, apresentando-se mais vantajosa em relação aos programas de vacinação a partir do primeiro dia.

A gestão dos aviários desempenha um papel importante na disseminação da coccidiose, uma vez que os oocistos são onipresentes nas granjas e de fácil disseminação no ambiente, principalmente nos métodos de criação atuais (KHAN et al., 2008). Práticas progressivas de limpeza completa entre os lotes ajuda a controlar a ameaça amplamente difundida nas granjas, uma vez que a eficácia dos anticoccidianos continua a diminuir. Medidas de controle biológico, como troca de roupas entre um galpão e outro, tratamento adequado da cama, podem minimizar a disseminação de oocistos infectantes (KHAN et al., 2008; TOLEDO et al., 2011).

Considerando que os oocistos necessitam de condições climáticas favoráveis de umidade, temperatura e oxigenação para que ocorra a esporulação, Waldenstedt et al. (2001) relata que camas com menor umidade são mais predispostas a desenvolver oocistos de *Eimeria* spp. O que contradiz os resultados encontrados por Toledo et al. (2011) que observou que o aumento da esporulação de oocistos em camas que possuem maior umidade é maior.

Os métodos atuais de criação de frangos de corte favorecem a reprodução de parasitos do gênero *Eimeria* e o estabelecimento da eimeriose clínica (GALHA, BONDAN e LALLO, 2008), devido à alta densidade populacional nas granjas, o uso indevido dos medicamentos anticoccidianos e o manejo inadequado das camas, sendo necessária uma intervenção para melhor controle da doença.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

- Avaliar as alterações patológicas e metabólicas em frangos de corte infectados experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria maxima*.

3.2 Objetivos específicos:

- Avaliar o desempenho zootécnico em frangos de corte experimentalmente infectados
- Avaliar o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas em frangos de corte experimentalmente infectados
- Avaliar a biologia parasitária em frangos de corte experimentalmente infectados
- Avaliar as alterações hematológicas e patológicas em frangos de corte experimentalmente infectados

4 MATERIAS E MÉTODOS

4.1 Local do Estudo

A pesquisa foi desenvolvida na Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), localizada no município de Araguaína – TO, onde foram realizados o protocolo experimental e as análises zootécnicas; no Laboratório de Histologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em Manaus-AM, onde foram realizadas a confecção e análise das lâminas histológicas; e no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Regional de Coari, município de Coari – AM, onde foram feitas as análises bioquímicas.

4.2 Animais e protocolo experimental

Para realização do trabalho, foram utilizados 150 frangos de corte da linhagem Coob, machos, com dez dias de idade. As aves foram randomizadas de acordo com o peso e distribuídos em dois grupos experimentais: grupo controle, sendo inoculado com 0,5 ml de água destilada; grupo infectado, inoculado com 0,5ml de solução contendo 5×10^4 oocistos esporulados de *Eimeria maxima* (Figura 1). Para a inoculação, todas as aves do experimento foram contidas manualmente e inoculadas, com o auxílio de uma pipeta automática, por via oral.

Figura 1 - Oocistos esporulados de *Eimeria maxima* utilizados na infecção dos animais experimentais.



Fonte: Elaboração própria

Cada grupo foi instalado em gaiolas de ferro com dimensões de 1m de comprimento x 2m de largura x 1,5m de altura. Os comedouros e bebedouros utilizados contendo, respectivamente, água limpa e ração balanceada sem anticoccidianos, eram do tipo calha (Figura 2), sendo lavados com água e detergente neutro e flambados a cada 12 horas para que o risco de reinfecção fosse evitado.

Figura 2 - Gaiolas de ferro utilizadas no experimento apresentando comedouro (a) e bebedouro (b) do tipo calha.



Fonte: Elaboração própria

A composição da ração utilizada (à base de milho e farelo de soja) obedeceu às normas e padrões nutricionais estabelecidas pela NRC (1998), sendo fornecida às aves “*ad libitum*”.

4.3 Avaliação dos sinais clínicos e determinação dos períodos parasitários

No decorrer do período experimental, foram realizados, diariamente, exames clínicos nos animais e análises parasitológicas em suas fezes, por meio de isolamento pela técnica de centrífugo-flutuação, sendo a amostra coletada com auxílio de espátula, armazenada em recipientes plásticos e posteriormente, analisada para determinar os períodos de pré-patência (espaço de tempo entre o momento da infecção do hospedeiro e a detecção do agente nos tecidos, secreções ou excretas) e patência (intervalo de tempo compreendido entre o início da eliminação de oocistos pelas aves e o término da infecção) de *E. maxima*.

4.4 Avaliação do desempenho zootécnico

O desempenho zootécnico foi avaliado no 0 (dia da inoculação), 5°, 10°, 15°, 25° e 35° dpi, sendo abatidas, por deslocamento cervical, quinze aves/grupo, conforme resolução da Comissão de Ética e Bem Estar Animal da UFAM (Protocolo nº). Nos dias de coleta foram avaliados o peso vivo, peso de carcaça e rendimento de carcaça, sendo utilizada uma balança de 0,1 g de resolução.

Figura 3 - Registro de dados zootécnicos obtidos dos animais experimentais.



Fonte: Elaboração própria

No intuito de determinar a conversão alimentar, foi avaliado o consumo de ração, sendo pesada diariamente antes de ser fornecida para as aves em balança comercial comum com peso máximo de 25 quilos e resolução de 0,5g. O cálculo foi feito pela diferença de peso entre o alimento fornecido e o seu consumo. Este valor foi obtido descontando-se as sobras de ração do total de ração fornecida, durante a limpeza diária dos comedouros.

Para a determinação do rendimento de carcaça, os frangos foram submetidos a seis horas de jejum, sendo sacrificados por decapitação entre os ossos occipital e atlas utilizando-se faca previamente esterilizada. As aves foram sangradas por 2 minutos em cone adaptado ao abate de frangos. Foi feita a retirada da pele e penas manualmente, e as aves foram evisceradas por meio de corte abdominal realizado com tesoura. Para o cálculo de rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça eviscerada (sem vísceras, pés, cabeça e gordura abdominal). Em relação

ao peso vivo, a conversão alimentar foi estimada através da relação consumo de alimento (kg/ave/dia) dividido pelo ganho de peso (kg/ave/dia), Figura 3.

4.5 Avaliação patológica

A avaliação histopatológica foi realizada no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia da UFAM, onde foram retirados fragmentos de duodeno, jejuno, íleo no 5^o, 10^o, 15^o, 25^o e 35^o dpi, sendo coletadas, abertas longitudinalmente, lavadas em solução tampão fosfato (0,1 M, pH 7,4) e, fixadas em solução de formol 10% por 36 horas (**Figura 4**). Em seguida, foram lavados em álcool 70% para a retirada do fixador e, posteriormente, desidratados em séries crescentes de álcoois, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Após a microtomia semi-seriada, a uma espessura de 7µm, 7 cortes histológicos foram colocados em cada lâmina, sendo corados com hematoxilina e eosina, e observados a microscopia de luz (JUNQUEIRA, 2007).

Figura 4 - Copos coletores contendo formol à 10% para conservação de fragmentos intestinais para confecção de lâminas histológicas.



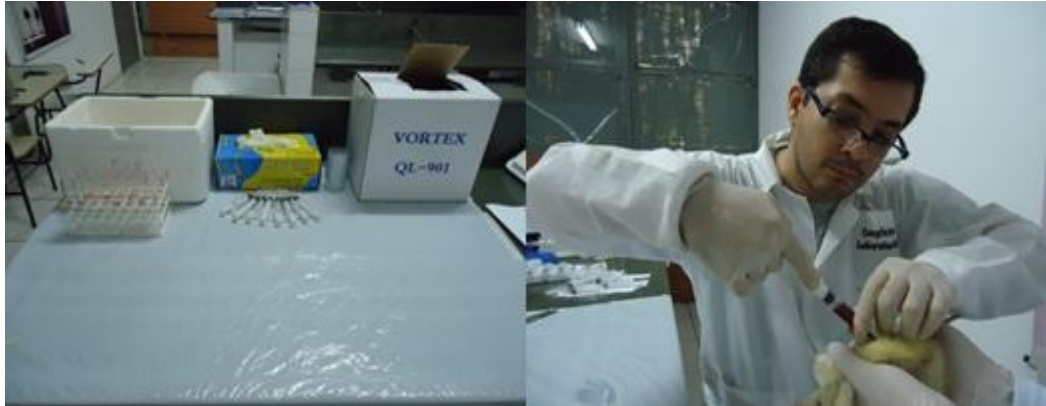
Fonte: Elaboração própria

4.6 Avaliação das alterações bioquímicas

Para avaliar o hematócrito e o metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos, 5 ml de sangue foram colhidos, após jejum de 6 horas, via intracardíaca (**Figura 5**), utilizando-se seringas e agulhas descartáveis, sendo depositado 1 ml em tubos de ensaios estéreis contendo ácido etileno-diaminotetracético sódico (EDTA - sódico), 1 ml em tubos de ensaios estéreis contendo ácido etileno-diaminotetracético fluoreto de sódio (EDTA - fluoreto) e 3 ml

em tubos de ensaio estéreis sem anticoagulantes para obtenção do sangue total, plasma e soro, respectivamente.

Figura 5 - Coleta de sangue dos animais experimentais. a) Material utilizado para coleta de sangue. b) Contenção do animal e punção intra-cardíaca para coleta de sangue em animal experimental.



Fonte: Elaboração própria

Figura 6 - Determinação de hematócrito utilizando centrífuga de tubos de microhematócrito.



Fonte: Elaboração própria

A dosagem da glicose plasmática foi realizada pelo método enzimático. Foram determinadas as contagens globais de hematócrito obtido por centrifugação em tubos capilares (Figura 6).

Os lipídios séricos avaliados no soro foram: triacilgliceróis das lipoproteínas e colesterol total.

O metabolismo proteico foi avaliado por meio das concentrações de proteínas totais. Todos os parâmetros bioquímicos relacionados foram determinados por meio de “kits” comerciais (Labtest Sistemas de Diagnósticos Ltda – Belo Horizonte/MG).

4.7 Análise Estatística

Os dados foram apresentados por meio de tabelas, onde se calculou a média e o desvio-padrão (DP), pois os dados apresentavam variâncias homogêneas e distribuição normal ao nível de 5% de significância por meio dos testes de *Bartlett's* e *Shapiro-Wilk* respectivamente. Na comparação das médias foi aplicado o teste t - *Student* (ARANGO, 2001; VIEIRA, 2004).

O software utilizado na análise foi o programa Epi-Info versão 7 para *Windows* desenvolvido e distribuído gratuitamente pelo CDC (www.cdc.org/epiinfo). O nível de significância fixados nos testes foi de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os primeiros sinais clínicos foram percebidos no 5º dpi, onde as aves apresentaram apatia seguida de diarreia fétida, mucóide, penas eriçadas e ganho de peso inferior quando comparadas com as aves do grupo controle (Figura 7).

Figura 7 - Animal infectado apresentando debilidade física no 6º dpi.

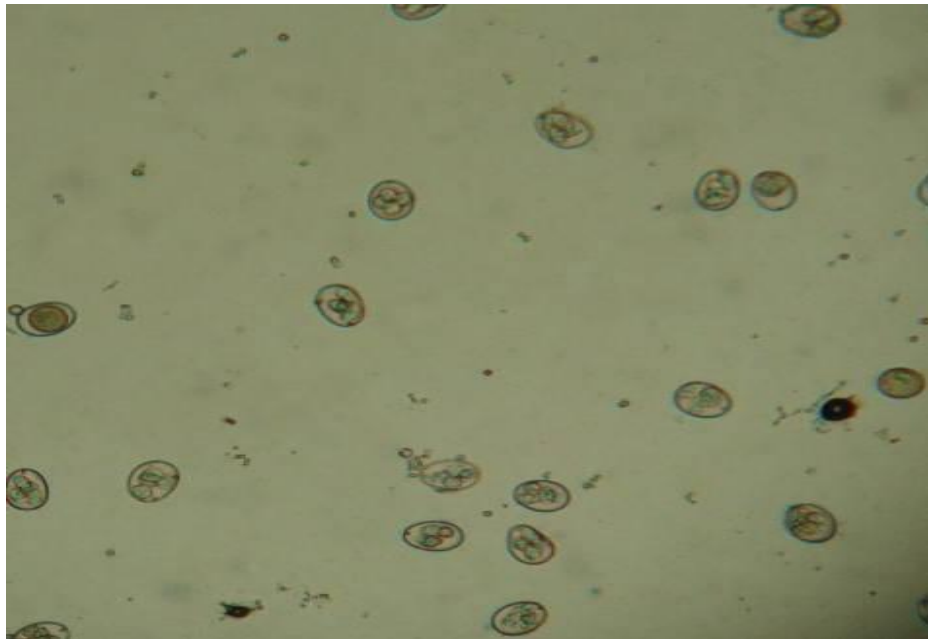


Fonte: Elaboração própria

O grupo infectado apresentou um período de pré-patência e patência de 5 e 12 dias, respectivamente. O término do período patente foi confirmado pelo exame parasitológico das fezes e análise histopatológica do intestino delgado (Figura 8); os animais do grupo controle permaneceram negativos quanto à presença de oocistos durante todo o período experimental. Tais características diferem dos achados em outros estudos com resultados de cinco e sete dias de período pré-patente e patente (JEURISSEN ET AL. (1996), YOUN&NOH (2001), E GABRIEL ET AL.(2006).

O período pré-patente observado na presente pesquisa assemelha-se aos resultados encontrados por Zulpo et al. (2007), que ao estudar a patogenicidade de cepas de *E. maxima*, usando uma dose de 2×10^4 , verificou um período pré-patente de 168 horas (7º dpi). Idris et al. (1997) também observou um período pré-patente de 168 horas em frangos inoculados com $2,5 \times 10^4$ oocistos esporulados de *E. maxima*. O menor período de pré-patência pode estar relacionado à alta excitação dos esporozoítos de *E. maxima*, conforme dados de Shiotani et al. (1992).

Figura 8 - Oocistos isolados das fezes dos animais do grupo infectado durante o período de patência e esporulados "in vitro" para confirmação da espécie.



Fonte: Elaboração própria

Ao final do experimento o grupo controle produziu 28,839 kg de carne e o grupo infectado 28,053kg de carne (Gráfico 1). Silva et al. (2005) avaliando o desempenho de frangos de corte criados em ambientes com oocistos e sem oocistos, observaram um menor peso corporal e uma pior conversão alimentar aos 14 dias de vida. Já Persia et al. (2006) relataram que a infecção por coccidiose pode levar a uma queda no desempenho, devido a uma diminuição da energia metabolizável da dieta e menor digestibilidade dos aminoácidos.

Figura 9 – Gráfico de Produção de carne do 5° ao 35° dpi em kilograma

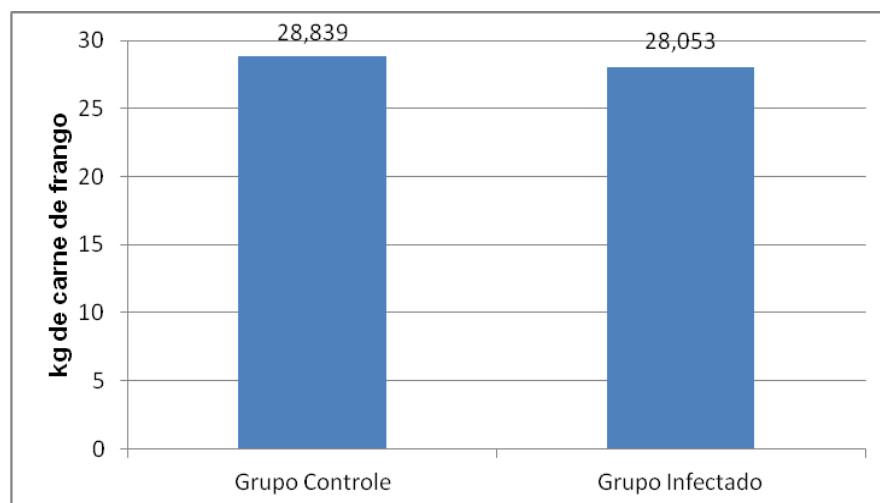


Figura 9 – Gráfico de Produção de carne do 5° ao 35° dpi em kilograma

Na tabela 1 são apresentados os resultados das médias do peso vivo, peso de carcaça, fígado, coração e moela dos grupos controle e infectado nos 10°, 15°, 25° dpi.

Zulpo et al. (2007), que não obtiveram diferenças significativas para o ganho de peso, porém médias sempre mais baixas para o grupo infectado. O trabalho de Mori (2008) corrobora com o anterior ao referir que ao utilizar uma dose individual de 4×10^2 de oocistos vivos atenuados de *E. maxima*, *E. acervulina*, *E. mitis*, *E. tenella* o grupo infectado apresentou diminuição em todos os parâmetros avaliados em relação ao grupo controle.

O peso do coração e da moela dos animais experimentais não apresentou diferença significativa, já o fígado teve diferença no dia 5°, 15° e 35° dpi.

Tabela 1 - Parâmetros zootécnicos de frangos do grupo controle e infectado experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria maxima*.

Dias Experimentais	Grupos Experimentais				p*
	Controle		Infectado		
	Média	DP	Média	DP	
10° dpi					
Peso vivo	386,67	57,26	365,13	45,49	0,264
Peso da carcaça	274,47	42,34	265,60	48,66	0,599
Peso do coração	2,40	0,33	2,50	0,34	0,432
Peso do fígado	16,24	3,22	17,14	2,96	0,430
Peso da moela	13,16	1,69	12,62	0,96	0,287
15° dpi					
Peso vivo	493,33	56,32	451,42	71,34	0,100
Peso da carcaça	365,00	46,92	328,83	56,57	0,081
Peso do coração	3,00	0,32	2,73	0,53	0,123
Peso do fígado	13,42	1,57	16,97	3,02	0,001
Peso da moela	13,68	1,60	13,09	1,89	0,389
25° dpi					
Peso vivo	633,80	62,79	668,47	71,34	0,169
Peso da carcaça	473,13	47,86	485,87	56,57	0,511
Peso do coração	3,47	0,48	3,81	0,48	0,062
Peso do fígado	25,04	4,00	23,85	3,91	0,418
Peso da moela	17,82	1,96	18,39	2,70	0,517

Fonte: Elaboração própria

* Teste *t* - Student; DP = desvio-padrão.

Valor de "p" em negrito itálico indica diferença estatística entre as médias ao nível de 5%.

5.1 Desempenho sobre hematócrito e dados bioquímicos

Quanto aos dados de hematócritos, no presente trabalho os grupos não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) desde o início do experimento até o final, 5° - 35°dpi, conforme Tabela 2.

Nas condições do nosso estudo verificou – se uma diferença significativa ($p < 0,05$) nos níveis de glicose em todos os dias de coleta, favoráveis ao grupo controle. Portanto, os valores plasmáticos normais para glicose podem estar ligados à glicogenólise hepática realizada pela ave, onde a glicose é mantida em seus níveis basais através da quebra do glicogênio hepático mediante a liberação de glucagon pelo pâncreas. Segundo Chapman, Fernandes e Davison (1982), a capacidade que a ave possui de manter a normoglicemia em situações onde as reservas de glicogênio hepático estão esgotadas, é devido a uma gliconeogênese ou uma utilização reduzida da glicose pela mesma.

Resultados semelhantes obtiveram Chapman, Fernandes e Davison. (1982) ao inocular 10^5 oocistos esporulados de *E. maxima*, dosagem superior a utilizada neste experimento, onde observou que as concentrações de glicose permaneceram quase análogos entre os do grupo infectado e os do grupo controle. Porém, resultados divergentes foram encontrados por Ruff (1980), estudando a absorção de glicose em aves infectadas por *E. maxima*, onde observou que a mesma provoca alterações na absorção de glicose na fase aguda da doença, entretanto, aos 21 dias pós-infecção não são mais observadas alterações nas concentrações plasmáticas de glicose.

Os níveis de proteínas mantiveram- se significantes ($p < 0,05$) em todos os dias de coleta. Turk (1978) sugere que durante infecções coccidianas, a perda de proteínas plasmáticas diminui os efeitos da absorção dos nutrientes pela ave. Resultados semelhantes obteve Chapman, Fernandes e Davison (1981) ao trabalhar com 10^5 oocistos esporulados de *E. maxima*, observaram que as aves apresentaram uma leve hipoproteinemia na fase aguda da doença (4° dpi), não retornando aos valores normais até o 10° dpi. Sendo o fígado o órgão responsável pela produção de albumina (MEYER et al., 1995), as concentrações normais dessa proteína encontrada no presente trabalho é esperada uma vez que o parasita não provoca danos no referido órgão.

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) nos animais experimentais nos níveis de triglicerídeos somente no 25° dpi e colesterol total nos 25° e 35° dpi. A coccidiose é uma das enfermidades que mais provocam reduções plasmáticas de lipídios devido às alterações provocadas na mucosa do epitélio intestinal (Feterrer, 2002). A redução significativa na absorção de triglicerídeos foi acompanhada da redução do colesterol total, que apresentaram médias menores no grupo infectado, mesmo que não significativas. Isso mostra que a dose utilizada de *E. maxima* causou redução da absorção de lipídios. Resultados semelhantes foram encontrados por Allen e Feterrer (2002), que observaram diminuição na absorção de lipídios em aves infectadas com *E. maxima*.

Freitas et al. (2008) ao pesquisar as alterações no metabolismo em frangos de corte infectados experimentalmente com acervulina, parasita entérico, observou que todas as classes de lipídios no soro e as lipoproteínas apresentaram-se reduzidas nos animais infectados.

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos e bioquímicos de frangos do grupo controle e infectado experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria máxima*.

Dias experimentais	Grupos Experimentais				p*
	Controle		Infectado		
	Média	DP	Média	DP	
5° dpi					
Glicose	209,17	38,70	173,52	33,36	0,012
Triglicerídeos	122,66	57,47	121,25	46,81	0,942
Colesterol total	104,77	40,39	130,31	102,78	0,378
Proteína total	3,37	0,52	2,61	0,39	<0,001
Hematócrito	-	-	-	-	-
10° dpi					
Glicose	231,24	25,33	206,59	26,01	0,014
Triglicerídeos	192,96	87,02	181,12	67,23	0,680
Colesterol total	126,71	32,28	133,49	46,04	0,644
Proteína total	3,58	0,70	2,50	0,19	<0,001
Hematócrito	29,35	1,47	27,88	2,92	0,163
15° dpi					
Glicose	233,73	39,10	197,68	22,48	0,004
Triglicerídeos	135,67	62,13	132,21	45,99	0,864
Colesterol total	130,36	27,39	119,57	29,29	0,306
Proteína total	3,44	0,43	2,50	0,36	<0,001
Hematócrito	28,96	2,71	29,00	2,49	0,976

25° dpi					
Glicose	266,59	72,09	139,52	32,92	<0,001
Triglicerídeos	116,50	16,06	100,56	17,60	0,022
Colesterol total	137,92	17,04	119,86	14,06	0,006
Proteína total	3,46	0,57	2,57	0,24	<0,001
Hematócrito	28,25	2,17	28,63	3,10	0,721
35° dpi					
Glicose	252,92	35,14	121,85	35,45	<0,001
Triglicerídeos	111,14	24,07	101,10	17,67	0,220
Colesterol total	148,47	16,21	135,24	13,37	0,026
Proteína total	2,99	0,35	2,52	0,29	0,001
Hematócrito	29,30	3,47	31,46	3,44	0,111

Fonte: Elaboração própria

* Teste t - *Student*; DP = desvio-padrão.

Valor de “p” em negrito itálico indica diferença estatística entre as médias ao nível de 5%.

5.2 Análise histopatológica

A avaliação patológica evidenciou mucosa congesta e presença de grande quantidade de muco no 6º dpi. A incisão transversal do jejuno viabilizou a observação de mucosa hemorrágica caracterizando a principal área afetada pelo parasito. Microhemorragias foram observadas pela serosa somente no 1º dpi, sendo encontradas, principalmente, na região do duodeno e terço proximal do jejuno. Na presente pesquisa, o grupo controle não apresentou alterações clínicas e nem lesões sugestivas de infecção.

Utilizando uma dose de 2×10^4 oocistos esporulados de *E. maxima* (ZULPO et al., 2007), também observaram escores de lesão moderados. Jenkins, Fetterer e Miska (2009) também observaram escores com média moderada de 1,9, utilizando uma dose mais baixa, de 10^3 oocistos esporulados de *E. maxima*. Entretanto, resultados diferentes foram observados por Galha et al. (2010) que encontrou escores de lesão moderados, porém em aves infectadas naturalmente. Galha et al. (2010) ao estudar a coccidiose clínica em frangos de corte infectados naturalmente, observou que os principais sinais clínicos observados foram diarreia e apatia, associado a presença dos oocistos de *E. maxima* nas fezes. Santos et al. (2003), ao estudar a ocorrência de *E. maxima* em aves infectadas naturalmente, observou lesões caracterizadas por petéquias na serosa do jejuno, hiperemia da mucosa e exsudado mucoso de coloração alaranjada. Jenkins et al. (2008) usando a dose de

10^4 oocistos esporulados de *E. maxima*, observou que as aves apresentavam lesões características como numerosos pontos hemorrágicos na serosa, espessamento da parede intestinal e distensão.

Segundo Yun, Lillehoj e Lillehoj (2000), a magnitude dos sinais clínicos decorrentes da infecção por *Eimeria* spp é modelada por fatores como idade, sexo, linhagem, nutrição e fatores genéticos do hospedeiro. Em produções industriais de frangos de corte, a mortalidade não é o maior problema causado pela coccidiose, mas a redução dos índices de desempenho provocados pela diarreia e, às vezes, anemia (Borges, 2000). Tais resultados mostram que é possível que isolados de *E. maxima* variem em sua capacidade para induzir lesões intestinais (CONWAY et al., 1993; IDRIS et al., 1997).

No grupo infectado, o exame histopatológico evidenciou processo inflamatório crescente nas vilosidades intestinais caracterizado por infiltrado linfocitário difuso nas regiões laterais e apicais dos vilos associado com atrofia de vilosidades e presença das diversas formas parasitárias de *E. maxima*. As lesões histopatológicas são semelhantes as lesões encontradas por Zulpo et al. (2007), onde aves induzidas por 2×10^4 oocistos esporulados de *E. maxima* apresentaram atrofia discreta das vilosidades, proliferação de células epiteliais, hemorragia discreta e o parasito em vários estágios de desenvolvimento. (LAURENT et al., 2001; SHIOTANI, 1992).

Os efeitos patogênicos do parasitismo incluem principalmente o retardo no crescimento e redução na eficiência alimentar (IDRIS et al., 1997; LAURENT et al., 2001). Todas as lesões decorrentes da reprodução parasitária interferem diretamente na absorção de nutrientes, desencadeando uma série de distúrbios no metabolismo de carboidratos, proteínas, lipídeos, macro e micro-minerais (GABRIEL et al., 2003).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A dose de 5×10^3 de *E. maxima* inoculada no grupo experimental foi suficiente para ocasionar danos ao organismo animal. As vilosidades intestinais afetadas por *E. maxima* são de suma importância para o processo de absorção e digestão dos nutrientes pela ave, comprometendo dessa forma, o ganho de peso animal

- Não houve diferença significativa em relação ao desempenho zootécnico, apesar da produção de carne de frango ter sido maior no grupo controle.

- A infecção causada pela *E. máxima* surtiu significância relativa aos exames bioquímicos referentes a proteínas, colesterol total e triglicerídeos nas aves do grupo controle nos últimos dpi, não sendo superadas durante todo o período do experimento pelos frangos do grupo infectado.

- Durante o período experimental não foram observadas alterações nos níveis hematócritos

- A avaliação patológica evidenciou mucosa congesta e presença de grande quantidade de muco no 6º dpi.

- Medidas de prevenção e controle são fundamentais, uma vez que se trata de uma enfermidade subclínica onde os prejuízos são principalmente econômicos, gerando perdas para o produtor e, conseqüentemente para a cadeia produtiva avícola.

REFERÊNCIAS

ALBINO, L.F.T.; TAVERNARI, F.C. **Produção e manejo de frangos de corte**. Viçosa: UFV, 2008.

ALLEN P.C.; FETTERER R.H. Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. **Clinical Microbiology Review**. v. 15, n. 1, p. 58-65, 2002.

_____. JENKINS, M.C.; MISKA, K.B. Cross protection studies with *Eimeria maxima* strains. **Parasitology Research**, v. 97, p. 179–185, 2005.

_____. MCMURTRY, J. P. Changes in pancreatic hormones associated with coccidiosis. **Poultry Science**, v. 63, n. 6, p. 1129-1135, 1984.

_____. Production of Free Radical Species During *Eimeria maxima* Infections in Chickens. **Poultry Science**, v. 76, p. 814–821, 1997.

ALLEN, W.M., BERRETT, S., HEIN, H.; HEBERT, C.N. Some physiopathological changes associated with experimental *Eimeria brunetti* infection in the chicken. **Journal of Comparative Pathology**, v. 83, p. 369-375, 1973.

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA- ANUALPEC. Balanço da avicultura no Brasil. [S.l.], 2010. p.232.

ARANGO, Héctor Gustavo. **Bioestatística teórica e computacional**. Guanabara Koogan, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Referências: Elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10520**: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14724**: Informação e documentação: trabalhos acadêmicos: apresentação. Rio de Janeiro, 2011.

AVISITE. Revista Produção Animal-Avicultura. 48. ed. Abr. 2013. Disponível em < <http://www.avisite.com.br/economia/>>. Acesso em: 1 jul. 2013.

BORDIN, E. L. Patologia da coccidiose. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE, 1994, Santos, SP. **Anais...**, Santos, SP: FACTA, 1994.

CARDOZO S. P.; YAMAMURA, M. Y. Identificação de espécies de *Eimeria* sp e avaliação do escore de lesões intestinais entre frangos vacinados e tratados com anticoccidiano, produzidos no sistema colonial/caipira. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 261-270, 2006.

CARMO, R. B. A. A viabilidade econômica da avicultura de corte na Bahia. Compact Disc. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL – SOBER, 39., 2001, Recife, PE. **Anais...** Recife, PE, 2001.

CASTRO, A. G. M. Situação atual da coccidiose no Brasil e importância econômica. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE, 1994, Santos, SP. **Anais...** Santos, SP, 1994.

CHAPMAN, H. D. Practical use of vaccines for the control of coccidiosis in the chicken. **World's Poultry Science Journal**, v. 56, 2000.

CONWAY, D. P. et al. Effects of different levels of oocyst inocula of *Eimeria acervulina*, *E. tenella*, and *E. maxima* on plasma constituents, packed cell volume, lesion scores, and performance in chickens. **Avian Diseases**, v. 37, n. 1, p. 118-123, 1993.

CORNELISSEN, J.B.W.J.; SWINKELS, W.J.C.; BOERSMA, W.A.; REBEL, J.M.J. Host response to simultaneous infections with *Eimeria acervulina*, *maxima* and *tenella*: A cumulation of single responses. **Veterinary Parasitology**. n. 162, p. 58–66, 2009.

COSTA, C. A. F. et al. Coccidiose e desempenho em frangos com anticoccidianos na ração a partir de diferentes idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 52, n. 2, p. 144-149, 2000.

DALLOUL, A. A.; LILLEHOJ, H. S. Avian Coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. **Expert Review of Vaccines**, v. 5, n. 1, p.143-163, 2006.

DANFORTH; H. D. Use of live oocyst vaccines in the control of avian coccidiosis: experimental studies and field trials. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 7, p.1099-1109, jul. 1998.

ENTZEROTH, R.; MATTIG, F.R.; MEIER, R.W. Structure and function of the parasitophorous vacuole in *Eimeria* species. **International Journal for Parasitology**, v. 7, p. 1015-1018, 1998.

EPI-INFO, Versão 7 para Windows, produzido e distribuído gratuitamente pelo Centro de Controle de Doenças – CDC. Califórnia, 1997. Disponível em <http://wwwn.cdc.gov/epiinfo/>. Acesso em: 1 jun 2013.

FERNANDO, M. A.; ROSE, M. E; MILLARD, B. J. *Eimeria* spp. of domestic fowl: the migration of sporozoites intra-and extra-enterically. **Journal Parasitology**, v. 73, n. 3, p.561-567, 1987.

FREITAS, F. L. C. et al. Espécies do gênero *Eimeria* (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) em tamanduás-bandeira (*Mymecophaga tridactyla* LINNAEUS, 1758) em cativeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 29-32, 2006.

GABRIEL, I. et al. Effects of whole wheat feeding on the development of coccidial infection in broiler chickens until market-age. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, 2006.

GALHA V., BONDAN E. F.; LALLO M. A. Relação entre imunossupressão e coccidiose clínica em frangos de corte criados comercialmente. **Revista Instituto de Ciências da Saúde**, v. 26, n. 4, p.432-437, 2008.

GARDNER, S. L.; UPTON, S. J.; LAMBERT, C. R. JORDAN, O. C. Redescription of *Eimeria escomeli* (Rastegaieff, 1930) from *Myrmecophaga tridactyla*, and a first report from Bolivia. **Journal of the Helminthological Society of Washington**, v. 58, n. 1, p. 16-18, 1991.

GODOY, J. C. Milagre do consumo. In: **Anuário da avicultura industrial**, n. 1062, São Paulo, SP, dez. 1998/jan. 1999.

GOODWIN, M. A.; BROWN, J.; BOUNOUS, D. I. Use of microscopic lesion scores, gross lesion scores and oocyst count scores to detect *Eimeria maxima* in chickens. **Avian Pathology**, v. 27, p. 405-08, 1998.

HONG, Y.H., H.S. LILLEHOJ, S.H. LEE, R.A. DALLOUL AND E.P. LILLEHOJ. Analysis of chicken cytokine and chemokine gene expression following *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella* infections. **Vet. Immunology Immunopathology**., v. 114, p. 209-223, 2006.

IDRIS, A. B.; BOUNOUS, D. I.; GOODWIN, M. A.; BROWN E ELIZABETH, J.; KRUSHINSKIE, A. Quantitative pathology of small intestinal coccidiosis caused by *Eimeria maxima* in young broilers. **Avian Pathology**, v. 26, n. 4, p. 731-747, 1997.

JANG, S. I. et al. *Eimeria maxima* recombinant Gam82 gametocyte antigen vaccine protects against coccidiosis and augments humoral and cell-mediated immunity. **Vaccine**. v. 28, p. 2980–2985, 2010.

JENKINS, M.; FETTERER, R.; MISKA. Co-infection of chickens with *Eimeria praecox* and *Eimeria maxima* does not prevent development of immunity to *Eimeria maxima*. **Veterinary Parasitology**, v. 161, p. 320–323, 2009.

JEURISSEN, S. H. M. et al. *Eimeria tenella* infections in chickens: aspects of host-parasite interactions. **Veterinary Immunology Immunopathology**, Amsterdam, v. 54, p. 231- 238, 1996.

JOHNSON, J. AND REID, W. M. Anticoccidial drugs: Lesion scoring techniques in battery and floor pen experiments with chickens. **Experimental Parasitology**, v. 28, p. 30-36, 1970.

JOHNSTON, W. T.; SHIRLEY, M. W.; SMITH, A. L. Modelling host cell availability and the crowding effect in *Eimeria* infections. **International Journal Parasitology**. v. 31, p. 1070-1081, 2001.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: JUNIOR, A. B.; SILVA, E. N. **Doença das aves**. [S. l.: s.n], 2009. p.835-855.

KHAN M. Q. et al. Eimeriosis in poultry of Rawalpindi/Islamabad area. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 26, n. 2, p. 85-87, 2006.

KIM, D. K. et al. Immune-related gene expression in two B-cpmlplex disparate genetically inbred fayoumi chickens lines following *Eimeria maxima* infection. **Poultry Science**, v. 87, n. 1, p. 433-443, 2008.

KOPKO, S. H.; MARTIN, D. S.; BARTA, J. R. Responses of chickens to a recombinant refractile body antigen of *Eimeria tenella* administered using various immunizing strategies. **Poultry Science**, v. 79, n.3, p.336-342, 2000.

LAURENT, F et al. Analysis of Chicken Mucosal Immune Response to *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* Infection by Quantitative Reverse Transcription-PCR. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 4, p. 2527–2534, 2001.

LEVINE, P.P. A new coccidium pathogenic for chickens, *Eimeria brunetti*. **Cornell Veterinarian**, v. 32, p. 430-439, 1942.

LILLEHOJ, H. E; LILLEHOJ E.P. AVIAN COCCIDIOSIS. A review of acquired intestinal immunity and vaccinaton strategies. **Avian Diseases**, v. 44, p. 408-425, 2000.

LILLEHOJ, H. S; MIN, W.; Dalloul, o progresso RA recentes sobre a regulação de citocinas da resposta imune intestinal de *Eimeria*. **Poultry Science**, v. 83, n. 4, p. 611-623, 2004.

LONG, P. L. et al. A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian cocidiosis. **Folia Vet. Latina**, v. 6, p. 201-217, 1976.

LUCHESE, F. C ET al. Prevalência de espécies de *Eimeria* em frangos de criação industrial e alternativa. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 81-86, 2007.

MARTIN, A. G. et al. Analysis of immunological crossprotection and sensitivities to anticoccidial drugs among five geographical and temporal strains of *Eimeria maxima*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 527-533, 1997.

Mc DOUGALD, L.R. Protozoal Infections. In: A. M. Fadly. **Diseases Avian**. USA: Blackwell Publishing Professional, 2007.

MICHAEL, E.; HODGES, R.D. The pathogenic effects of *Eimeria acervulina*: a comparison of single and repeated infections. **Veterinary Record**, v. 89, n. 1, p.329-333, 1971.

MOHAMMED ALI A. et al. Cross immunity of DNA vaccine pVAX1-csZ2-IL-2 to *Eimeria tenella*, *E. necatrix*, and *E. maxima*. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 330-333, 2010.

MORI, A. **Relação entre o ensaio de digestibilidade de nutrientes e a integridade intestinal de frangos de corte submetidos adesafios químicos e microbiológicos**. 2008. 44 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)– Universidade Federal de Goiás, Escola de Medicina Veterinária, Goiania, GO, 2008.

MUAZU A. et al. Prevalence and Identification of Species of *Eimeria* Causing Coccidiosis in Poultry Within Vom, Plateau State, Nigeria. International, **Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 9, p. 917-918, 2008.

NAIDOO; V. et al. The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. **Veterinary Parasitology**, v. 153, n. 3-4; p. 214-219, 2008.

NORTON, C.C.; CHARD, M.J. The oocyst sporulation time of *Eimeria* species from the fowl. **Parasitology**, v.86, p.193-198, 1983.

PENHA, Guilherme de Almeida. Coccidiose aviária. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, Ano 6, n. 11, p. 1-5, jul. 2008.

PRADO, O. R. **Ocorrência de *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* e *E. mitis* em frangos de corte na região oeste de santa Catarina**. 2005. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

RAMOS, L. S. N.; LOPES, J. B.; SILVA, S. M. M. S. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores decrescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 8, p. 1738-1744, 2011.

REID, M. W.; LONG, P. L.; MCDUGALD, L. R. **Coccidiosis: diseases of poultry**. 8. ed. Iowa: Iowa State University Press, 1984.

RUFF, M.D.; ALLEN, P.C.; CHUTE, M.B. Composition of heart, liver, and skeletal muscle from broilers with coccidiosis. **Poultry Science**. v. 60, p. 1807-1811, 1981.

SANTOS, R. F. S. et al. Ocorrência de *Eimeria* sp. em frangos de corte no estado de São Paulo. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 19, n. 3, p.230-234, 2003.

SCHNITZLER, B.E. e SHIRLEY, M. W. Immunological aspects of infections with *Eimeria maxima*: a short review. **Avian Pathology**, v. 28, p.537-543, 1999.

SHARMAN, P. A. et al. Chasing the golden egg: vaccination against poultry coccidiosis. **Parasite Immunology**, v. 32, p. 590–598, 2010.

SHIOTANI, A. N. et al. Distribution of oocysts, sporocysts and sporozoites of *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* in the digestive tract of chicken. **Veterinary Parasitology**, v. 41 p. 17-22, 1992.

SHIRLEY, M. W. (1994). Epizootiologia. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE, 3., 1994, Santos, SP. **Anais...** Santos, SP, p.11-22.

TERRA, A. T. et al. Frequência de espécies do gênero *Eimeria* em frangos de corte abatidos industrialmente no Município de Monte Alegre do Sul, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 10, n. 2, p. 87-90, 2001.

TOLEDO, G. A. et al. Coccidiosis in broiler chickens raised in the Araguaína region, State of Tocantins, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 2, 2011.

TSUJI, N. et al. Discrimination of eight chicken *Eimeria* species using twostep Polymerase Chain Reaction. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 5, p. 966-970, 1997.

TURK, D. E. Calcium absorption during coccidial infections in chicks. **Poultry Science**, v. 52, n. 1, p. 854-857, 1973.

TURK, D. E. Coccidial infections and iron absorption. **Poultry Science**, v. 60, n. 2, p. 323-326, 1981.

TURK, D. E. Macroelements in the circulation of coccidiosis infected chicks. **Poultry Science**, v. 65, n. 1, p. 462-468, 1986.

TURK, D. E.; GUNJI, D. S.; MOLITORIS, P. Coccidial infections and manganese absorption. **Poultry Science**, v. 61, n. 1, p. 2430-2434, 1982.

TYZZER, E.E. Coccidiosis in gallinaceous birds. **The American Journal of Higiene**. v. 10, n. 2, p. 269-383, 1929.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA-UBABEF. **Balanço da avicultura no Brasil**. 2013. Disponível em: <http://www.ubabef.com.br/estatisticas/frango/consumo_per_capita>. Acesso em 1 jul. 2013.

VERDUZCO, G. G.; CUEVAS, A.C.; COELLO, C.L. Dietary supplementation of mannan-oligosaccharide enhances neonatal immune responses in chickens during natural exposure to *Eimeria* spp. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, n. 11, p. 1-7, 2009.

VIEIRA, Sonia. **Bioestatística, tópicos avançados**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

VOETEN, A. C.; ORTHEL, F. W.; RIJEN, M. A. Analysis of losses due to subclinical small intestinal coccidiosis caused by *Eimeria acervulina* and *Eimeria maxima* under field conditions. **Tijdschr Diergeneeskd**, v. 113, n. 18, p. 989-998, 1988.

VRBA, V.; BLAKE, D.P.; POPLSTEIN, M. Quantitative real-time PCR assays for detection and quantification of all seven *Eimeria* species that infect the chicken, **Veterinary Parasitology**, 2010.

WALDENSTEDT, L. et al. Sporulation of *Eimeria maxima* Oocysts in Litter with Different Moisture Contents. **Poultry Science**, v. 80, p. 1412–1415, 2001.

WILLIAMS, R. B. Epidemiological studies of coccidiosis in the domesticated fowl (*Gallus gallus*): II. Physical condition and survival of *Eimeria acervulina* oocysts in poultry-house litter. **Applied Parasitology**. n. 36 p. 90–96, 1995.

YOUN, H. J.; NOH, J. W. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 96, n. 4, p. 257-263, apr. 2001.

YUN, C. H.; LILLEHOJ, H. S. e LILLEHOJ, E. P. Intestinal immune responses to coccidiosis. **Developmental e Comparative Immunology**, v. 24, p. 303-324, 2000.

ZULPO, D.L. et al. Pathogenicity and histopathological observations of commercial broiler chicks experimentally infected with isolates of *Eimeria tenella*, *E. acervulina* and *E. maxima*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 97-104, 2007.

APÊNDICES

APÊNDICE A - USO DE ADJUVANTE PROBIÓTICO COMO ESTIMULANTE DA IMUNIDADE PROTETORA CONTRA *EIMERIA maxima* EM FRANGOS DE CORTE: UMA REVISÃO¹.

Luciana da Silva Brito², Vinícius Bentovóglia³, Fagner Luis da Costa Freitas⁴.

Resumo

A avicultura é considerada uma importante atividade econômica em diversos países. Apesar de ser uma doença relativamente antiga, a coccidiose ainda é uma das principais enfermidades causadoras de perdas econômicas em frangos de corte e reprodutoras. Como uma maneira de prevenção e diminuição da utilização de anticoccidianos agressivos aos frangos, como antibióticos, pesquisadores vem estudando o uso de probióticos na produção avícola. Precisamente os probióticos são organismos vivos não patogênicos e não tóxicos presentes na natureza, que quando ingerido são favoráveis a saúde do hospedeiro. Para essa revisão foram consultados os dados contidos no portal de Periódicos da Capes sem delimitação de tempo para as publicações. Esta revisão foi realizada descrevendo e discutindo a participação dos probióticos como promotores da imunidade protetora da mucosa de frangos de corte.

Palavras-Chave: Coccidiose, *Eimeria maxima*, Probiótico, Frangos de Corte, Imunidade protetora.

Abstract

The poultry industry is an important economic activity in many countries. Despite being a relatively old disease, coccidiosis is still one of the main diseases causing economic losses in broiler and breeders. As a way of preventing and reducing the use of anticoccidial for chickens aggressive, such as antibiotics, researchers have been studying the use of probiotic in poultry production. Precisely probiotics are living organisms non-pathogenic and non-toxic found in nature, which is favorable

¹Parte da dissertação de Mestrado da primeira autora, no Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil.

²Mestranda em Imunologia Básica e Aplicada e Docente da Universidade Federal do Amazonas.

³Graduando em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Tocantins.

⁴Docente da Universidade Federal da Fronteira Sul, Orientador no Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas. Av. Gal. Rodrigo Otávio 3000, Coroado II, Manaus, Amazonas.

blew when ingested host health. For this review were queried data in the portal Journals Capes with out bound a ries of time for publications. This review was conduct ed describing and discussing the participation of probiotics as promoters of protective mucosa l immunity in broilers.

Key-words: Coccidiosis, *Eimeria maxima*, Probiotic, Broilers, Protective immunity.

1 Introdução

A avicultura é considerada uma importante atividade econômica em diversos países. Em instalações de grande escala de criação, onde aves são expostas a fatores estressantes, problemas relacionados a doenças e deterioração das condições ambientais ocorrem freqüentemente e resultam em graves perdas econômicas (LUTFUL KABIR, 2009). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne de frango, perdendo apenas para EUA e China (ANUALPEC, 2010), evoluindo de forma significativa nos últimos anos, sobretudo com rendimentos no mercado internacional. Com o aumento de pesquisas científicas e respectivos avanços nas áreas de nutrição, houve um crescimento significativo dos índices alimentares e redução dos custos, oferecendo assim uma possibilidade na ampliação da produção (CARMO, 2001; GODOY, 1999; SCHORR, 1999).

Esse crescente avanço da produção de frangos, tanto para importação quanto para exportação, preocupa no sentido de se manter os padrões da produção brasileira, levando em consideração aspectos como local de criação e manejo das aves, a fim de evitar infecções por parasitos e perda de massa muscular das aves, predispondo desequilíbrio na microflora das aves e uma diminuição do mecanismo de defesa de seu organismo (JIN et al., 1997). No intuito de melhorar tais qualidades, inclusive a nutrição, foram criadas medidas profiláticas de modo a prevenir e controlar doenças parasitárias e infecciosas com um novo conceito biotecnológico, destacando-se os probióticos. Nurmi e Rantala (1973) descreveram, pela primeira vez, em seus estudos que os probióticos eram capazes de proteger frangos jovens por *Salmonella enteritidis* a partir de uma dose de conteúdo estomacal derivado de frangos adultos saudáveis.

Para tanto, o termo era muito obscuro, sem rumos e sem muitas explicações de como aconteciam seus mecanismo de ação. Somente em 1989, Fuller propôs uma definição, após vários estudos, para os probióticos, definindo-os como um suplemento alimentar microbiano vivo que afeta beneficemente o animal hospedeiro, melhorando o

equilíbrio microbiano intestinal. Posteriormente, os probióticos foram redefinidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefício à saúde do hospedeiro (FAO/OMS, 2001). Precisamente os probióticos são organismos vivos não patogênicos e não tóxicos presentes na natureza, que quando ingerido são favoráveis a saúde do hospedeiro (SILVA, 2011).

Até o ano de 2006, era comum na União Européia o uso de antibióticos na suplementação alimentar de frangos de corte, porém seu uso foi vedado nesse mesmo ano, pois observou-se que essas substâncias criam nos animais uma tendência para produzir resistência e resíduos em produtos de origem animal e, nesse contexto, os probióticos surgiram como os principais aditivos na suplementação alimentar dos frangos de corte dessa área comercial, zona do Euro (STEINER, 2006).

As linhagens probióticas fundamentais compreendem aos gêneros *Streptococcus*, *Aspergillus*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces* e *Bacillus* (TANNOCK, 2001), sendo os três últimos gêneros as principais estirpes aplicadas em frangos atualmente nas granjas (JIN et al., 1996; YEO e KIM, 1997; ZHANG et al., 2005). Uma dieta com suplementação a base de *Saccharomyces cerevisiae* pode melhorar o desempenho do crescimento de frangos (LODDI et al., 2000). Outros estudos também apontaram que a alimentação de frangos de corte com uma dieta composta por *S. cerevisiae* têm efeito benéfico sobre o desempenho na modulação da microflora intestinal e inibição de patógenos, as alterações histológicas intestinais, imunomodulação, alguns parâmetros hematológicos e bioquímicos, melhorando características sensoriais na carne de frangos de corte (KARAUGLU e DOUGLAS 2005 ; LUTFUL KABIR, 2009; ZHANG et al. 2005).

A introdução dos probióticos na avicultura serviu para amenizar as perdas dos produtores com enfermidades de origem infecciosa e parasitárias nas granjas do Brasil. Atualmente, muitas enfermidades já podem ser controladas com a utilização dos probióticos e antibióticos, porém alguns patógenos ainda persistem nas criações, destacando-se os parasitos do gênero *Eimeria* (NAIDOO et al., 2008), tendo em vista que os métodos atuais de criação de frangos de corte favorecem a reprodução deste parasito, sendo necessária uma intervenção para o controle da doença (KAWAZOE, 2009).

Apesar de ser uma doença relativamente antiga, a coccidiose ainda é uma das principais enfermidades causadoras de perdas econômicas em frangos de corte e reprodutoras (CHAPMAN, 2000), sendo causada pelas espécies *Eimeria tenella*, *E. maxima*, *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. necatrix*, *E. praecox* e *E. mitis* (SHARMAN et al.,

2010), tendo como principal característica a capacidade de parasitar o epitélio intestinal, causando redução da eficiência da conversão alimentar levando a diminuição no ganho de peso (JANG et al., 2010; JENKINS; FETTERER e MISKA, 2009; JONES; HUNT e KING, 2000).

2 Metodologia

Para elaboração desta revisão foram utilizadas as palavras-chaves coccidiose, *Eimeria maxima*, frangos de corte, imunidade protetora, probióticos e promotores de crescimento. Foi procedida pesquisa bibliográfica no portal de busca *Periódico Capes*, sem delimitação de tempo de publicação.

3 Revisão

3.1 Gênero *Eimeria*

Rivolta e Silvestrini (1873) classificaram como *Eimeria avium* as espécies de coccídia apresentando oocistos tetraesporocísticos, achados em diversas espécies de aves. Em 1891, Railliet e Lucet, delinearam o *Coccidium tenellum*, posteriormente denominado *E. tenella* por Fanttam em 1909, como espécie parasita de pintos, causadora de doença no ceco, baseando as espécies nas medidas dos oocistos e em infecções experimentais em pintos normais (TYZZER, 1929).

Posteriormente, Tyzzer (1929) descreveu três novas espécies do gênero *Eimeria* causadoras da enfermidade em aves: *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. mitis*. Duas outras espécies, *E. necatrix* e *E. praecox*, foram descritas mais tarde por Johnson (1930). Logo em seguida, Levine (1942) descreveu outra espécie a qual denominou de *E. brunetti* (REID; LONG e MCDOUGALD, 1984).

Segundo Entzeroth; Mattig e Meier (1998), as espécies do gênero *Eimeria*, pertencem ao filo Apicomplexa, classe Sporozoea e família Eimeriidae. O filo Apicomplexa apresenta um conjunto de organelas características denominadas de complexo apical e constituídas por anéis polares, conóide (organela de penetração), microtúbulos subpeliculares, roptrias (formação do vacúolo parasitóforo), micronemas (responsável pela adesão e reconhecimento da célula hospedeira) e grânulos densos (remodelação metabólica para o desenvolvimento do parasita) (TYZZER, 1929).

Sete espécies de *Eimeria* são geralmente consideradas como agentes causadores da coccidiose aviária: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox* e *E. tenella*. As diferenças atribuídas à espécie são em relação à sua biologia, tais como local de desenvolvimento, aparência morfológica, os estágios do ciclo de vida, os períodos pré-patente e patente e especificidade imunológica (SCHNITZLER e SHIRLEY, 1999). Dentre as espécies citadas, *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella* são consideradas as mais importantes para a indústria avícola, devido sua onipresença nas granjas, patogenicidade inata e características imunológicas (CARDOZO e YAMAMURA, 2006; LILLEHOJ et al., 2004; PRADO, 2005), sendo *E. maxima* considerada, dentre as demais espécies, uma das que possui maior patogenicidade (SHARMAN, 2010).

De acordo com Mc Dougald (2007) os oocistos de *E. maxima* são ovóides, com parede lisa ou um pouco rugosa e apresentam duas camadas. Reid, Long & Mcdougald (1984) descreveram que os maiores oocistos medem 42,5µm por 29,8µm e os menores de 21,5µm por 16,5µm, com uma média de 30,5 x 20,7 µm de cor dourada, superando desta forma o tamanho dos oocistos de outras espécies. Apesar do tamanho grande dos oocistos, descreve que o oocisto maduro é menor que o microgametócito, e que os merozoítos são menores do que os das espécies *E. mitis* e *E. acervulina*. Segundo Tyzzer (1929) *E. maxima* acomete principalmente a região média do intestino delgado, além de apresentarem lesões também no duodeno e no íleo, e o nome dessa espécie se deve ao tamanho grande dos seus oocistos (SANTOS et al., 2003; SHIOTANI et al., 1992).

Esta espécie deveria ser classificada como moderada a severamente patogênica; mortalidade leve a moderada tem sido relatada tanto de experimentos a campo quanto de infecções experimentais, e em vários casos há extremo emagrecimento, palidez, engrossamento das penas e anorexia (REID; LONG e MCDUGALD, 1984). Bordin (1994) e Idris et al. (1997) descreve que a infecção causa enterite hemorrágica associada ao espessamento da parede intestinal, e as lesões estão confinadas geralmente à metade superior das vilosidades. O primeiro autor relata ainda que no epitélio, os esquizontes aparecem acima do núcleo e também na lâmina própria, de acordo com a severidade da doença e que as fases de merogonia e gametogamia são consideradas importantes como geradoras de lesões.

Segundo REID et al. (1984), os escores de lesão estão entre 0 e 4 e são baseados nos números comparativos de petéquias, quantidade de muco sanguíneo, grau de espessamento e inchaço da porção média do intestino delgado.

3.2 Biologia Parasitária

A coccidiose aviária é transmitida mediante as fezes do animal infectado, onde os coccídios completam seu ciclo de vida dentro das células do intestino do hospedeiro (FERNANDO; ROSE e MILLARD, 1987). No ambiente, o animal infectado elimina oocistos não esporulados juntos as fezes e, em condições climáticas favoráveis de umidade, temperatura e oxigenação (WALDENSTED et al., 2001), estes sofrem esporulação tornando-se assim infectantes podendo suportar, durante meses, condições adversas até que seja ingerido por um hospedeiro (KAWAZOE, 2009).

Um dos principais fatores que contribuem para a resistência no meio ambiente é a espessura da parede do oocisto. De maneira geral, os oocistos com paredes mais espessas são mais resistentes às condições adversas favorecendo a manutenção dos oocistos nas instalações (GARDNER et al., 1991).

O término da esporogonia, segundo Norton e Chard (1983), é indicado pelo aparecimento de dois grandes grânulos polares e o corpo Stieda no esporocisto. Segundo Waldenstedt et al. (2001), o tempo mínimo de esporulação para *E. maxima* é um dos maiores quando comparado com outras espécies parasitas de frangos com um tempo médio de 36 horas.

Após ingestão do oocisto esporulado, os esporozoítos invadem a célula hospedeira, mais precisamente os enterócitos (FERNANDO; ROSE e MILLARD, 1987). A membrana do oocisto se rompe pela ação mecânica inicial da moela e pelos estímulos de temperatura e gás carbônico liberando os esporocistos. No duodeno, a ação da tripsina digere uma estrutura chamada corpo de Stieda e os sais biliares estimulam a mobilidade dos esporozoítos, promovendo a excitação e sua liberação para a luz intestinal. Uma vez livres na luz intestinal, os esporozoítos invadem ativamente a célula hospedeira, formando um vacúolo parasitóforo, nas células da lâmina própria ou criptas epiteliais transformando-se em trofozoítos ou merontes uninucleados com forma arredondada (ENTZEROTH; MATTIG e MEIER, 1998); o período pré-patente é de 120 horas para *E. maxima* (BORDIN, 1994; JOHNSTON et al., 2001).

O ciclo assexuado ocorre primeiramente com a formação de merozoítos por um processo de merogonia onde ocorre a divisão sucessiva do núcleo, com formação final de merozoítos dentro do meronte. Este produz no seu interior um número variável de merozoítos, dependendo da espécie de *Eimeria*. Após romperem a célula hospedeira, os merozoítos atingem a luz intestinal tornando assim os chamados esporozoítos que

invadem novas células epiteliais intestinais formando uma nova geração de merozoítos (LONG, 1987).

Fernando et al. (1987), estudando a migração dos esporozoítos intra e extra-entericamente, observaram que estágios iniciais de *E. maxima*, não são confinados somente ao intestino, mas que estágios infectantes podem ser encontrados no sangue, nos sinusóides do fígado e baço. Segundo os mesmos autores, as células responsáveis por carrear esporozoítos de *E. maxima* são os linfócitos intra-epiteliais, cerca de 6 horas após infecção. Alguns desses merozoítos, pelo mesmo processo, originam uma terceira e quarta geração de merontes, enquanto outros ao penetrarem em novas células iniciam a fase sexuada com formação de gametas masculinos (microgametas) e femininos (macrogametas).

3.3 Imunopatogênia da *Eimeria máxima*

A doença é espécie específica e afeta o hospedeiro de várias formas, dependendo da preferência tecidual do parasito especificamente envolvido e do número de oocistos ingeridos na infecção inicial (CONWAY et al., 1993; SHAH et al., 2010).

Segundo Mc Dougald (2007), mínimos danos teciduais ocorrem nos primeiros dois ciclos assexuais, que desenvolvem-se superficialmente nas células epiteliais da mucosa. Quando no estágio sexual, desenvolvem-se mais profundamente nos tecidos nos dias 5-8 após infecção, lesões se desenvolvem devido à congestão e edema, infiltração celular e espessamento da mucosa (SHARMAM, 2010).

E. maxima é moderadamente patogênica e considerada dentre as demais espécies como a mais imunogênica (ALLEN, JENKINS e MISKA, 2005; SHARMAM, 2010), causando queda no ganho de peso, elevada morbidade, diarreia e, raramente, mortalidade (IDRIS et al., 1997; ZULPO et al., 2007). Produtores interessados na manutenção de uma boa coloração da pele, bem como criações de aves de postura devem estar preocupados com infecções subclínicas porque o efeito dessa espécie está relacionada à absorção de xantofila e pigmentos carotenóides pelo intestino delgado (Mc DOUGALD, 2007).

As lesões principais são as hemorragias na porção média do intestino, mais especificamente na região de jejuno e íleo (ZULPO et al., 2007). Na enterite catarral o conteúdo intestinal é viscoso com presença de muco apresentando-se marrom-

alaranjado. Gametócitos ou oocistos amarelados grandes podem ser vistos em esfregaços da mucosa intestinal (ALLEN; JENKINS e MISKA, 2005).

A histopatologia é caracterizada por edema e infiltração celular, desenvolvimento de esquizontes a partir do 4º dia pós-infecção (dpi) (FERNANDO; ROSE e MILLARD, 1987), e estágios sexuais (macrogametas e microgametas) nos tecidos profundos nos dias 5-8 (Mc DOUGALD, 2007).

Segundo Johnson e Reid (1970), os escores de lesão são classificados entre 0 e 4, baseados nos números comparativos de petéquias, quantidade de muco sanguíneo, grau de espessamento e inchaço da porção média do intestino delgado. Alguns estudos já foram realizados com intuito de saber as alterações fisiopatológicas em aves infectadas por *Eimeria* spp. Voeten, Orthel e Rigen (1988) ao inocular, simultaneamente, *E. maxima* e *E. acervulina* em frangos de corte observaram queda no ganho de peso corporal devido a má absorção de nutrientes.

De acordo com Turk (1973), a enterite sanguinolenta afeta a digestão prejudicando na absorção de eletrólitos. Seus estudos observaram redução na absorção de cálcio, ferro e magnésio (TURK, 1981; TURK, GUNJI e MOLITORIS, 1982). Posteriormente, Turk (1986) observou que as concentrações de macro e de microelementos também reduziram durante a infecção causada por coccídios.

A coccidiose provoca no hospedeiro a ativação das respostas imune humoral e celular, sendo esta última a principal responsável pela proteção contra a enfermidade (GALHA; BONDAN e LALLO, 2008; HONG et al., 2006; YUN; LILLEHOJ e LILLEHOJ, 2000; LILLEHOJ et al., 2004). A principal forma de imunidade envolvida nessa proteção é realizada principalmente por células T residentes no tecido linfóide associado à mucosa intestinal (GALT). Os linfócitos T parecem responder à coccidiose tanto pela produção de citocinas como por ataque citotóxico direto nas células afetadas (ALLEN e FETTERER, 2002).

E. maxima é altamente imunogênica e apenas um número pequeno de oocistos são capazes de induzir imunidade (LILLEHOJ E LILLEHOJ, 2000; YUN, LILLEHOJ e LILLEHOJ, 2000). Laurent et al. (2001), utilizando método de extração de RNA, observou que a resposta imune em *E. maxima* ocorre principalmente na parte mais apical da mucosa.

Talebi & Mulchy (1995) infectaram frangos de corte com uma dose única (1×10^4) de oocistos esporulados de *E. maxima* por injeção direta. Utilizado um método de imunoensaio de captura de anticorpos (ELISA) e a proliferação de linfócitos para determinar as

respostas humoral e celular, respectivamente. Ambas as respostas imunes foram aumentadas durante o experimento e chegou a seu nível mais alto em duas semanas pós-inoculação e, posteriormente, começou a declinar. Houve uma correlação negativa significativa entre a proliferação de linfócitos e o número de oocistos. Este estudo demonstra que o método da proliferação de linfócitos no sangue total é relativamente simples, sensível, reprodutível e útil na determinação quantitativa das respostas de linfócitos T circulantes, uma vez que a determinação da proliferação de linfócitos e resposta humoral pode ser usada para verificar o estado do rebanho em surtos de coccidiose e avaliar os programas de vacinação das aves.

As citocinas têm uma função importante como reguladora da resposta imune, tendo concentrações dependentes da quantidade de oocistos inoculados na ave, sendo produzidas pelos macrófagos (ALLEN e FETTERER, 2002). No caso de *E. maxima*, as principais citocinas envolvidas são: interleucina 1 (IL-1), citocina pró-inflamatória que estimula a secreção de quimiocinas por fibroblastos, macrófagos e células epiteliais (ALLEN, 1997); e, fator de necrose tumoral (FNT) (YUN; LILLEHOJ e LILLEHOJ, 2000) que juntamente com IFN- γ , estimula a produção de óxido nítrico (NO_2^- e NO_3^-) pela iNOS (LAURENT et al., 2001; ALLEN e FETTERER, 2002; KIM et al., 2008) e a síntese de mais citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (HONG, 2008).

Segundo Cornelissen et al. (2009) a infecção por *E. maxima* induz uma resposta de células T CD4^+ e macrófagos, tendo um aumento de IL-8 IL-10 e IFN- γ durante a infecção. Os macrófagos estimulados pela infecção inicial são os principais produtores de citocinas (ALLEN, 1997).

Durante a infecção por *E. maxima*, existe uma maior variação na expressão de resposta Th1 e IFN- γ nos dias 3° e 13° dpi (CORNELISSEN et al., 2009). A presença de uma grande quantidade de IFN na mucosa é capaz de estimular a síntese de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (HONG, 2008; LAURENT et al., 2001).

Um grande número de linfócitos e macrófagos também estão presentes na mucosa de frangos infectados com *E. maxima* (CORNELISSEN, et al., 2009). Heterófilos geralmente são ausentes, o que indica que essas células não desempenham um papel importante na produção de radicais livres durante a resposta imune à infecção por *E. maxima* (ALLEN, 1997). Segundo Allen, Jenkins e Miska (2005), os altos escores de lesão e altas quantidades de NO_2^- e NO_3^- estão associados com o aumento da patologia da doença (ALLEN; JENKINS e MISKA, 2005).

3.4 Uso de probióticos na dieta de frangos de corte

Na produção avícola, o objetivo fundamental é a obtenção de alta produção, aliada à qualidade dos produtos finais dos frangos que serão abatidos. Alguns estudos indicam o uso de probióticos na alimentação de frangos de corte na tentativa de aumentar sua produção. Esses organismos são inseridos como aditivos na ração e contribuem para um melhor estabelecimento e conservação de populações microbianas no trato digestório dos animais que vão competir com microorganismos indesejáveis, especialmente os patogênicos, por espaço e nutrientes (LODDI et al., 2000).

Quando são usados na nutrição de aves, os probióticos aumentam a eficiência alimentar, proporcionam melhor qualidade ao alimento, atuam como agente natural de crescimento, atenuam as perdas devido a doenças infecciosas e diminuem os sintomas de estresse (KOZASA, 1989).

Pesquisas que utilizaram probióticos (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*) na dieta de frangos de corte por quatro semanas, apresentaram melhores resultados de ganho de peso e conversão alimentar comparados ao grupo controle durante as duas primeiras semanas (FLEMMING e FREITAS, 2005).

Fernandez e Crespo (2003) afirmam em seus estudos que ao substituir o uso de antibióticos por probiótico na nutrição de frangos, estes evidenciaram ganho de peso decorrente de uma boa eficiência alimentar.

Grigoletti et al. (2002) verificaram evolução significativa no desempenho de frangos de corte quando alimentados com dietas contendo leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. Flemming et al. (2005) empregando leveduras vivas do gênero *Saccharomyces cerevisiae* associadas a parede celular de leveduras (SCCW) mencionam melhora no desempenho das aves provavelmente devido à ação da parede celular que apresenta um sítio ligante competitivo com as bactérias. No entanto outros autores destacam que estes microorganismos ao se ligarem à SCCW não podem se acoplar aos enterócitos, movimentado - se com o bolo fecal e não colonizando o trato intestinal, desempenhando, portanto, uma ação similar àquela do antibiótico (ITO et al. 2004).

Apesar de estudos concluírem que a utilização de probióticos na dieta de frangos produzam resultados significativos em relação a outros promotores de crescimentos alguns não retratam os mesmo resultados, como é o caso dos estudos de Lima et. al. (2003) onde se verificou que não houve efeito significativo sobre o desempenho das aves.

3.5 Ação probiótica contra *Eimeria máxima*

A coccidiose é a principal doença parasitária de aves e é causada pelo parasita *Eimeria apicomplexan*. Medicamentos e vacinas são utilizados como recurso principal no combate a essa enfermidade aviária. No entanto, devido à crescente preocupação com o uso de drogas profiláticas e o alto custo das vacinas, são necessários métodos alternativos de controle da doença. Evidências recentes de que vários suplementos dietéticos microbianos podem influenciar a imunidade do hospedeiro contra doenças entéricas levou a investigação sobre o uso de probióticos como adjuvante na imunidade protetora contra ascocidioses em frangos de corte (KABIR et al., 2004; TALEBI e MULCHY, 1995).

Em conclusão de seus estudos Lee et al. (2007) demonstram que uma base de probiótico *P. acidilactici* (MitoGrow®) melhora a resistência das aves e protege parcialmente contra a coccidiose para os gêneros *Eimeria acervulina* e *E. tenella*. No entanto, os seus mecanismos de ação e proteção não são plenamente compreendidos e devem ser esclarecidos, especialmente à luz da grande variedade de células imunes ativadas por bactérias probióticas. Em particular, a análise das diferentes citocinas e quimiocinas induzidas por MitoGrow® na alimentação forneceu novas informações valiosas sobre sua imunidade protetora para coccidiose. Além disso, os modos exatos da ação deste probiótico e sua atividade contra diferentes espécies de *Eimeria*, como *Eimeria maxima* precisam ser exploradas em trabalhos futuros.

O efeito da alimentação com probiótico *Lactobacillus* baseada em linfócitos intra-epiteliais intestinais (IEL) e de subpopulações de proteção contra a coccidiose subsequente foi investigada em frangos de corte infectados com *E. acervulina* e demonstrou que as bactérias probióticas impactaram na resposta imune local, caracterizada pela alteração das subpopulações IEL e aumento da resistência das aves infectadas com *E. acervulina* (DALLOU et al., 2003).

Dallou et al. (2003) demonstram em estudo pioneiro que um probiótico *Lactobacillus* melhora a imunidade e a produção de vitamina D em aves infectadas com *E. acervulina*. Este estudo também é o primeiro a destacar que o efeito probiótico na imunidade local melhor se manifesta pela invasão na parede intestinal inferior dos frangos infectados por *Eimeria acervulina*, com base no aumento de IL-2 e uma menor secreção de oocistos produzidos por *E.a.*

Após uma infecção por *E. maxima*, frangos alimentados com probióticos mostraram uma maior resistência a doenças, com maior ganho de peso corporal e diminuição das

lesões intestinais em comparação com as aves do grupo controle não infectados , segundo Lee et al., (2010).

Lillehoj (2013) usando uma análise de expressão gênica de alto rendimento descreve que genes imuno-relacionados a infecção por *E. maxima*, especialmente aqueles associados com a resposta inflamatória, foram regulados no intestino dos frangos tratados com probiótico.

4 Considerações finais

Com base nos dados obtidos, pode-se concluir que o uso de probióticos como adjuvante na alimentação de frangos de corte garante significativa melhora no desempenho da eficiência alimentar e no ganho de peso corporal, assim como na resistência a infecções e diminuição das lesões intestinais. Porém, observa-se que seus mecanismos de ação e proteção não são inteiramente conhecidos.

Apesar de tais informações, nossa busca pela literatura não alcançou um número de resultados satisfatórios associando o uso de probióticos contra infecções causadas por *Eimeria maxima*, indicando a necessidade de novos estudos, especialmente por ser a estirpe mais prevalente nas camas de produtores avícolas e a mais imunogênica, em relação às demais espécies de *Eimeria*.

Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. O(s) autor(es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista Scientia Amazonia detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

Referências

ALBINO, L.F.T; TAVERNARI, F.C. **Produção e manejo de frangos de corte**. Viçosa: UFV, 2008.

ALLEN P.C.; FETTERER R.H. Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. **Clinical Microbiology Review**. v.15, n.1, p.58-65, 2002.

_____. JENKINS, M.C.; MISKA, K.B. Cross protection studies with *Eimeria maxima* strains. **Parasitology Research**, v.97, p.179–185, 2005.

_____. MCMURTRY, J. P. Changes in pancreatic hormones associated with coccidiosis. **Poultry Science**, v.63, n.6, p.1129-1135, 1984.

_____. Production of Free Radical Species During *Eimeria maxima* Infections in Chickens. **Poultry Science**, v.76, p. 814–821, 1997.

ALLEN, W.M., BERRETT, S., HEIN, H.; HEBERT, C.N. Some physiopathological changes associated with experimental *Eimeria brunetti* infection in the chicken. **Journal of Comparative Pathology**, v.83, p.369-375, 1973.

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA- ANUALPEC. Balanço da avicultura no Brasil. [S.l.], 2010.

ARANGO, Héctor Gustavo. **Bioestatística teórica e computacional**. Guanabara Koogan, 2001.

AVISITE. Revista Produção Animal-Avicultura. 48.ed. abr. 2013. Disponível em <<http://www.avisite.com.br/economia/>>. Acesso em: 1 jul. 2013.

BORDIN, E. L. Patologia da coccidiose. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE, 1994, Santos, SP. **Anais...**, Santos, SP: FACTA, 1994.

CARDOZO S. P.; YAMAMURA, M. Y. Identificação de espécies de *Eimeria* sp e avaliação do escore de lesões intestinais entre frangos vacinados e tratados com anticoccidiano, produzidos no sistema colonial/caipira. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 261-270, 2006.

CARMO, R. B. A. A viabilidade econômica da avicultura de corte na Bahia. Compact Disc. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL – SOBER, 39., 2001, Recife, PE. **Anais...** Recife, PE, 2001.

CASTRO, A. G. M. Situação atual da coccidiose no Brasil e importância econômica. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE, 1994, Santos, SP. **Anais...** Santos,SP, 1994.

CHAPMAN, H. D. Practical use of vaccines for the control of coccidiosis in the chicken. **World's Poultry Science Journal**, v. 56, 2000.

CONWAY, D. P. et al. Effects of different levels of oocyst inocula of *Eimeria acervulina*, *E. tenella*, and *E. maxima* on plasma constituents, packed cell volume, lesion scores, and performance in chickens. **Avian Diseases**, v. 37, n. 1, p. 118-123, 1993.

CORNELISSEN, J.B.W.J.; SWINKELS, W.J.C.; BOERSMA, W.A.; REBEL. J.M.J. Host response to simultaneous infections with *Eimeria acervulina*, *maxima* and *tenella*: A cumulation of single responses. **Veterinary Parasitology**. n. 162, p. 58–66, 2009.

COSTA, C. A. F. et al. Coccidiose e desempenho em frangos com anticoccidianos na ração a partir de diferentes idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 2, p. 144-149, 2000.

DALLOUL, A. A.; LILLEHOJ, H. S. Avian Coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. **Expert Review of Vaccines**, v. 5, n. 1, p.143-163, 2006.

DALLOUL, R. A. et al. Enhanced Mucosal Immunity Against *Eimeria acervulina* in Broilers Fed a Lactobacillus-Based Probiotic, **Poultry Science**, v. 82, p. 62–66. 2003.

DALLOUL, R. A. et al. Intestinal Immunomodulation by Vitamin A Deficiency and Lac. tobacillus-Based Probiotic in *Eimeria acervulina*–Infected Broiler Chickens. **Avian Diseases**, v. 47, n. 4, p. 1313-1320. Oct. 2003.

DANFORTH; H. D. Use of live oocyst vaccines in the control of avian coccidiosis: experimental studies and field trials. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 7, p.1099-1109, jul. 1998.

ENTZEROTH, R.; MATTIG, F. R.; MEIER, R. W. Structure and function of the parasitophorous vacuole in *Eimeria* species. **International Journal for Parasitology**, v. 7, p. 1015-1018, 1998.

FERNANDEZ, J.; CRESPO, N. New avances in the application of probiotics. **International Pig Topics, Driffield**, v. 18, n. 7, p. 11-13, 2003.

FERNANDO, M.A.; ROSE, M.E; MILLARD, B.J. *Eimeria* spp. of domestic fowl: the migration of sporozoites intra-and extra-enterically. **Journal Parasitology**, v. 73, n. 3, p.561-567, 1987.

FLEMMING, J.S.; FREITAS, R.J.S. Avaliação do efeito de prebiótico (MOS), probióticos (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Arch Vet.Scie**, Curitiba, v. 10, n. 2, p. 41-47. 2005.

FREITAS, F. L. C. et al. Espécies do gênero *Eimeria* (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla* LINNAEUS, 1758) em cativeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p.29-32, 2006.

GABRIEL, I. et al. Effects of whole wheat feeding on the development of coccidial infection in broiler chickens until market-age. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, 2006.

GALHA V., BONDAN E. F.; LALLO M. A. Relação entre imunossupressão e coccidiose clínica em frangos de corte criados comercialmente. **Revista Instituto de Ciências da Saúde**, v. 26, n. 4, p.432-437, 2008.

GARDNER, S. L.; UPTON, S. J.; LAMBERT, C. R. JORDAN, O. C. Redescription of *Eimeria escomeli* (Rastegaieff, 1930) from *Myrmecophaga tridactyla*, and a first report from Bolivia. **Journal of the Helminthological Society of Washington**, v.58, n. 1, p. 16-18, 1991.

GODOY, J. C. Milagre do consumo. In: **Anuário da avicultura industrial**, n. 1062, São Paulo, SP, dez. 1998/jan.1999.

GOODWIN, M. A.; BROWN, J.; BOUNOUS, D. I. Use of microscopic lesion scores, gross lesion scores and oocyst count scores to detect *Eimeria maxima* in chickens. **Avian Pathology**, v.27, p.405-08, 1998.

GRIGOLETTI, C. et al. *Saccharomyces cerevisiae* na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 7, n. 2, p. 151-157, 2002.

HONG, Y.H., H.S. LILLEHOJ, S.H. LEE, R.A. DALLOUL AND E.P. LILLEHOJ. Analysis of chicken cytokine and chemokine gene expression following *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella* infections. **Vet. Immunology Immunopathology**, v. 114, p. 209-223, 2006.

IDRIS, A. B.; BOUNOUS, D.I.; GOODWIN, M.A.; BROWN E ELIZABETH, J.; KRUSHINSKIE, A. Quantitative pathology of small intestinal coccidiosis caused by *Eimeria maxima* in young broilers. **Avian Pathology**, v. 26, n. 4, p. 731-747, 1997.

ITO, N. M. K. et al. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais. In: PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE, 2004, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2004. p. 206-260.

JANG, S. I. et al. *Eimeria maxima* recombinant Gam82 gametocyte antigen vaccine protects against coccidiosis and augments humoral and cell-mediated immunity. **Vaccine**. v. 28, p. 2980–2985, 2010.

JENKINS, M. et al. PARKER, C.; O'BRIEN,C. ; MISKA, K.; FETTERER, R..Differing Susceptibilities Of *Eimeria Acervulina*, *Eimeria Maxima*, And *Eimeria Tenella* Oocysts To Dessication. **Journal of Parasitology** 1645/13-192.1, 2013.

JENKINS, M.; FETTERER, R.; MISKA. Co-infection of chickens with *Eimeria praecox* and *Eimeria maxima* does not prevent development of immunity to *Eimeria maxima*. **Veterinary Parasitology**, v. 161, p. 320–323, 2009.

JEURISSEN, S. H. M. et al. *Eimeria tenella* infections in chickens: aspects of host-parasite interactions. **Veterinary Immunology Immunopathology**, Amsterdam, v. 54, p. 231- 238, 1996.

JOHNSON, J. AND REID, W. M. Anticoccidial drugs: Lesion scoring techniques in battery and floor pen experiments with chickens. **Experimental Parasitology**, v. 28, p. 30-36, 1970.

JOHNSTON, W. T.; SHIRLEY, M. W.; SMITH, A. L. Modelling host cell availability and the crowding effect in *Eimeria* infections. **International Journal Parasitology**. v. 31, p. 1070-1081, 2001.

KABIR, S. M. L. et al. The Dynamics of Probiotics on Growth Performance and Immune Response in Broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 3, n. 5, p. 361-364, 2004.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: JUNIOR, A. B.; SILVA, E. N. **Doença das aves**. [S. l.: s.n], 2009.

KHAN M. Q. et al. Eimeriosis in poultry of Rawalpindi/Islamabad area. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 26, n. 2, p. 85-87, 2006.

KIM, D. K. et al. Immune-related gene expression in two B-cpmplex disparate genetically inbred fayoumi chickens lines following *Eimeria maxima* infection. **Poultry Science**, v. 87, n. 1, p. 433-443, 2008.

KOPKO, S. H.; MARTIN, D. S.; BARTA, J. R. Responses of chickens to a recombinant refractile body antigen of *Eimeria tenella* administered using various immunizing strategies. **Poultry Science**, v. 79, n.3, p.336-342, 2000.

KOZASA, M. Probiotics for animal use in Japan. **Revue Scientifique et Technique de L Office International des Epizooties**, v. 8, n. 2, p. 517-531, 1989.

LAURENT, F et al. Analysis of Chicken Mucosal Immune Response to *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* Infection by Quantitative Reverse Transcription-PCR. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 4, p. 2527–2534, 2001.

LEE, K W.; LILLEHOJ, H.S; SIRAGUSA, G.R. Direct-Fed Microbials and Their Impact on the Intestinal Microflora and Immune System of Chickens. **Poul. Sci.**, v. 47, p. 106-114. 2010.

LEE, S. H.; LILLEHOJ, H. S.; DALLOUL,R. A.; PARK, D. W. ; HONG, Y. H.; LIN, J. J. Influence of *Pediococcus*-Based Probiotic on Coccidiosis in Broiler Chickens. **Poultry Science** v. 86, p. 63–66, 2007.

LEVINE, P.P. A new coccidium pathogenic for chickens, *Eimeria brunetti*. **Cornell Veterinarian**, v. 32, p. 430-439, 1942.

LILLEHOJ, H. E; LILLEHOJ E.P. AVIAN COCCIDIOSIS. A review of acquired intestinal immunity and vaccinaton strategies. **Avian Diseases**, v. 44, p. 408-425, 2000.

LILLEHOJ, H. S. Coccidiosis – New trends for control. In: Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 14., e Brasil Sul Poultry Fair , 5., 2013. **Anais...** Chapecó,SC, 2013.

LILLEHOJ, H. S; MIN, W.; Dalloul, o progresso RA recentes sobre a regulação de citocinas da resposta imune intestinal de *Eimeria*. **Poultry Science**, v. 83, n. 4, p. 611-623, 2004.

LIMA, Andréa Cristina Frizzas de et al . Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 32, n. 1, Feb. 2003.

LODDI, M. M. GONZALES, E., TAKITA, T. S., MENDES, A. A., ROÇA, R. de O. **Uso de Probiótico e Antibiótico sobre o Desempenho, o Rendimento e a Qualidade de Carcaça de Frangos de Corte**. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 29, n. 4, p. 1124-1131, 2000.

LONG, P. L. et al. A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. **Folia Vet. Latina**, v. 6, p. 201-217, 1976.

LUCHESE, F. C ET al. Prevalência de espécies de *Eimeria* em frangos de criação industrial e alternativa. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 81-86, 2007.

LUCHESE, F. C. et al. Prevalência de espécies de *Eimeria* em frangos de criação industrial e alternativa. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**. v. 44, n. 22, p. 81-86, 2007.

MARTIN, A. G. et al. Analysis of immunological crossprotection and sensitivities to anticoccidial drugs among five geographical and temporal strains of *Eimeria maxima*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 527-533, 1997.

Mc DOUGALD, L.R. Protozoal Infections. In: A. M. Fadly. **Diseases Avian**. USA: Blackwell Publishing Professional, 2007.

MICHAEL, E.; HODGES, R.D. The pathogenic effects of *Eimeria acervulina*: a comparison of single and repeated infections. **Veterinary Record**, v. 89, n. 1, p.329-333, 1971.

MOHAMMED ALI A. et al. Cross immunity of DNA vaccine pVAX1-csZ2-IL-2 to *Eimeria tenella*, *E. necatrix*, and *E. maxima*. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 330-333, 2010.

MORI, A. **Relação entre o ensaio de digestibilidade de nutrientes e a integridade intestinal de frangos de corte submetidos a desafios químicos e microbiológicos**. 2008. 44 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)–Universidade Federal de Goiás, Escola de Medicina Veterinária, Goiania, GO, 2008.

MUAZU A. et al. Prevalence and Identification of Species of *Eimeria* Causing Coccidiosis in Poultry Within Vom, Plateau State, Nigeria. International, **Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 9, p. 917-918, 2008.

NAIDOO; V. et al. The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. **Veterinary Parasitology**, v. 153, n. 3-4; p. 214-219, 2008.

NORTON, C.C.; CHARD, M.J. The oocyst sporulation time of *Eimeria* species from the fowl. **Parasitology**, v.86, p.193-198, 1983.

PARIS, N. E.; WONG, E. A. Expression of digestive enzymes and nutrient transporters in the intestine of *Eimeria maxima*-infected chickens. **Poult. Sci.** May 2013, v. 92, n. 5 p. 1331-1335.

PENHA, Guilherme de Almeida. Coccidiose aviária. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, Ano 6, n. 11, p. 1-5, jul. 2008.

PRADO, O. R. **Ocorrência de *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* e *E. mitis* em frangos de corte na região oeste de santa Catarina**. 2005. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

- RAMOS, L. S. N.; LOPES, J. B.; SILVA, S. M. M. S. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores decrescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 8, p. 1738-1744, 2011.
- REID, M. W.; LONG, P. L.; MCDOUGALD, L. R. **Coccidiosis: diseases of poultry**. 8. ed. Iowa: Iowa State University Press, 1984.
- RUFF, M.D.; ALLEN, P.C.; CHUTE, M.B. Composition of heart, liver, and skeletal muscle from broilers with coccidiosis. **Poultry Science**. v. 60, p. 1807-1811, 1981.
- SANTOS, R. F. S. et al. Ocorrência de *Eimeria* sp. em frangos de corte no estado de São Paulo. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 19, n. 3, p.230-234, 2003.
- SCHNITZLER, B.E. e SHIRLEY, M. W. Immunological aspects of infections with *Eimeria maxima*: a short review. **Avian Pathology**, v. 28, p.537-543, 1999.
- SHARMAN, P. A. et al. Chasing the golden egg: vaccination against poultry coccidiosis. **Parasite Immunology**, v. 32, p. 590–598, 2010.
- SHIOTANI, A. N. et al. Distribution of oocysts, sporocysts and sporozoites of *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* in the digestive tract of chicken. **Veterinary Parasitology**, v. 41 p. 17-22, 1992.
- SHIRLEY, M. W. Epizootiologia. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE, 3., 1994, Santos, SP. **Anais...** Santos, SP, p.11-22, 1994.
- TALEBI, A.; MULCAHY G. Correlation between immune responses and oocyst production in chickens monospecifically infected with *Eimeria maxima*. **Avian Pathol.** 24:485–495. 1995.
- TERRA, A. T. et al. Frequência de espécies do gênero *Eimeria* em frangos de corte abatidos industrialmente no Município de Monte Alegre do Sul, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 10, n. 2, p. 87-90, 2001.
- TOLEDO, G. A. et al. Coccidiosis in broiler chickens raised in the Araguaína region, State of Tocantins, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 2, 2011.
- TSUJI, N. et al. Discrimination of eight chicken *Eimeria* species using twostep Polymerase Chain Reaction. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 5, p. 966-970, 1997.
- TURK, D. E. Calcium absorption during coccidial infections in chicks. **Poultry Science**, v. 52, n. 1, p. 854-857, 1973.
- TURK, D. E. Coccidial infections and iron absorption. **Poultry Science**, v. 60, n. 2, p. 323-326, 1981.
- TURK, D. E. Macroelements in the circulation of coccidiosis infected chicks. **Poultry Science**, v. 65, n. 1, p. 462-468, 1986.
- TURK, D. E.; GUNJI, D. S.; MOLITORIS, P. Coccidial infections and manganese absorption. **Poultry Science**, v. 61, n. 1, p. 2430-2434, 1982.

TYZZER, E.E. Coccidiosis in gallinaceous birds. **The American Journal of Higiene**. v. 10, n. 2, p. 269-383, 1929.

VERDUZCO, G. G.; CUEVAS, A.C.; COELLO, C.L. Dietary supplementation of mannan-oligosaccharide enhances neonatal immune responses in chickens during natural exposure to *Eimeria* spp. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, n. 11, p. 1-7, 2009.

VIEIRA, Sonia. **Bioestatística, tópicos avançados**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

VOETEN, A. C.; ORTHEL, F. W.; RIJEN, M. A. Analysis of losses due to subclinical small intestinal coccidiosis caused by *Eimeria acervulina* and *Eimeria maxima* under field conditions. **Tijdschr Diergeneeskd**, v. 113, n. 18, p. 989-998, 1988.

VRBA, V.; BLAKE, D.P.; POPLSTEIN, M. Quantitative real-time PCR assays for detection and quantification of all seven *Eimeria* species that infect the chicken, **Veterinary Parasitology**, 2010.

WALDENSTEDT, L. et al. Sporulation of *Eimeria maxima* Oocysts in Litter with Different Moisture Contents. **Poultry Science**, v. 80, p. 1412–1415, 2001.

WILLIAMS, R. B. Epidemiological studies of coccidiosis in the domesticated fowl (*Gallus gallus*): II. Physical condition and survival of *Eimeria acervulina* oocysts in poultry-house litter. **Applied Parasitology**. n. 36 p. 90–96. 1995.

YOUN, H. J.; NOH, J. W. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 96, n. 4, p. 257-263, apr. 2001.

YUN, C. H.; LILLEHOJ, H. S. e LILLEHOJ, E. P. Intestinal immune responses to coccidiosis. **Developmental e Comparative Immunology**, v. 24, p. 303-324, 2000.

ZULPO, D.L. et al. Pathogenicity and histopathological observations of commercial broiler chicks experimentally infected with isolates of *Eimeria tenella*, *E. acervulina* and *E. maxima*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 97-104, 2007.

APENDICE B - INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM OOCISTOS ESPORULADOS DE *Eimeria maxima* (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) EM FRANGOS DE CORTE

Experimental infection with sporulated oocysts of *Eimeria maxima* (apicomplexa: eimeriidae) in broiler

Luciana da Silva Brito⁵, Fagner Luis da Costa Freitas⁶.

RESUMO

A coccidiose ainda é uma das principais enfermidades causadoras de perdas econômicas em frangos de corte e reprodutoras. O presente trabalho visa avaliar as alterações patológicas e metabólicas em frangos de corte infectados experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria maxima*. Para realização do experimento, foram utilizados 150 frangos de corte da linhagem Coob, machos, com dez dias de idade, randomizados de acordo com o peso e distribuídos em dois grupos experimentais: grupo controle, sendo inoculado com 0,5 ml de água destilada; grupo infectado, inoculado com 0,5ml de solução contendo 5×10^4 oocistos esporulados de *Eimeria maxima*. O desempenho zootécnico foi avaliado no 0 (dia da inoculação), 5°, 10°, 15°, 25° e 35° dpi, sendo abatidas, por deslocamento cervical, quinze aves/grupo. Os primeiros sinais clínicos foram perceptíveis no 5° dpi, onde as aves apresentaram apatia seguida de diarreia fétida, mucóide, penas eriçadas e ganho de peso inferior quando comparado com as aves do grupo controle. Ao final do experimento o grupo controle produziu 28,839 kg de carne e o grupo infectado 28,053kg de carne dos frangos utilizados no trabalho. Apesar da somatória na produção da carne ter sido maior no grupo controle O peso do coração e da moela dos animais experimentais não apresentou diferença significativa, já o fígado teve diferença no dia 5°, 15° e 35° dpi. Quanto ao hematócrito os frangos experimentais não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) desde o início do experimento até o final, 5° - 35°dpi. Os níveis de proteínas mantiveram-se significantes ($p < 0,05$) em todos os dias de coleta. A avaliação patológica evidenciou mucosa congesta e presença de grande quantidade de muco no 6° dpi. Diante disso, conclui-se que a dose de 5×10^3 de *E. maxima* inoculada no grupo experimental foi suficiente para ocasionar danos ao organismo animal.

Palavras –chave: Coccidiose, *Eimeria maxima*, frangos de corte, *Eimeria spp*

ABSTRACT

Coccidiosis is still one of the main diseases causing economic losses in broilers and breeders. This study aims to evaluate the metabolic and pathological changes in broilers experimentally infected with oocysts of *Eimeria maxima*. To perform the experiment, we used 150 broiler strain cooB males, with ten days of age were randomized according to weight and randomly assigned to two experimental groups: control group was inoculated with 0.5 ml of distilled water; infected group inoculated with 0.5 ml of solution containing 5×10^4 sporulated oocysts of *Eimeria maxima*. The live performance was evaluated at 0 (day of inoculation), 5 °, 10 °, 15 °, 25 ° and 35 ° dpi, being slaughtered by cervical dislocation, fifteen birds / group. The first clinical signs were noticeable on the 5th dpi, where the birds showed apathy followed by fetid diarrhea, mucoid, ruffled feathers and

⁵Mestranda em Imunologia Básica e Aplicada e Docente da Universidade Federal do Amazonas.

⁶ Docente da Universidade Federal da Fronteira Sul, Orientador no Programa de Pós- graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas. Av. Gal. Rodrigo Otávio 3000, Coroado II, Manaus, Amazonas .

lower weight gain compared with the control group of birds. At the end of the experiment the control group produced 28.839 kg of meat infected group and 28.053 kg of meat of chickens used in the study. Although the sum in beef production was higher in the control group The weight of the heart and gizzard of the experimental animals showed no significant difference, because the liver had difference on day 5 °, 15 ° and 35 ° dpi. As for the chickens experimental hematocrit showed no significant difference ($p > 0.05$) from baseline to the end of the experiment, 5 ° - 35 ° dpi. Protein levels remained significant ($p < 0.05$) on all days of collection. The pathologic evaluation showed congested mucosa and presence of large amounts of mucus at 6 dpi. Therefore, it is concluded that the dose of 5×10^3 E. Maximum inoculated in the experimental group was enough to cause harm to the animal organism.

Key-words: coccidiosis, *Eimeria maxima*, broilers, *Eimeria* spp

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas houve um aumento no consumo de carne de frango no Brasil e no mundo, isso por sua vez obrigou o desenvolvimento de tecnologias para serem empregadas na produção avícola industrial a fim de melhorar a alimentação e a precocidade dos frangos que são levados para o abate (LUCHESE et al., 2007).

O consumo interno de frango está em ascensão no Brasil, a média em 2011 foi de 47 quilos por habitante em comparação com o ano de 2010 que foi de 44 quilos por habitante, conquistando a terceira colocação no ranking mundial de consumo per capita de carne de frango, atrás apenas dos Estados Unidos e Arábia Saudita (UBABEF, 2013). Segundo Avisite (2013), dados preliminares da USDA apontam um volume de pouco mais de 4 (quatro) milhões de toneladas na exportação de carne de frango, o que representa um aumento de 4% em comparação com o ano de 2009.

Mesmo com uso de elevada tecnologia, o intensivo sistema de produção de frangos, não assegura que o ambiente de criação das aves esteja livre de patógenos. Os patógenos prejudicam a eficiência do aproveitamento dos nutrientes das rações, em consequência do provável aparecimento de desordens entéricas (RAMOS et al., 2011).

A principal parasitose encontrada na avicultura é ocasionada por protozoários do gênero *Eimeria*, também conhecidos como coccídeos, sendo responsáveis por sérios prejuízos econômicos, principalmente, devido a casos de diarreia e mortes em animais jovens (SANTOS et al., 2003; LUCHESE et al., 2007).

As eimerioses apresentam caráter endêmico nas granjas, sendo descritas sete espécies de *Eimeria* que causam coccidiose em aves: *E. acervulina*, *E. praecox*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. tenella*, *E. brunetti* (FREITAS, 2011; LUCHESE et al., 2007; PENHA et al., 2008).

Os agentes causadores da coccidiose são parasitos intracelulares que multiplicam - se no intestino, causando destruição tecidual e prejudicando a digestão e a absorção dos alimentos, resultando num quadro clínico de diarreia aquosa ou hemorrágica (KAWASOE, 2000). Para Allem (2002), os sinais clínicos da coccidiose variam de acordo com a espécie de coccídeos presentes na infecção. A *Eimeria maxima* é moderadamente patogênica e considerada dentre as demais espécies como amais imunogênica (ALLEN; JENKINS e MISKA, 2005; SHARMAM, 2010), causando queda no ganho de peso, elevada morbidade, diarreia e, raramente, mortalidade (IDRIS et al., 1997; ZULPO et al., 2007). Produtores interessados na manutenção de uma boa coloração da pele, bem como criações de aves de postura devem estar preocupados com infecções subclínicas porque o efeito dessa espécie está relacionado à absorção de xantofila e pigmentos carotenóides pelo intestino delgado (Mc DOUGALD, 2007).

Goodwin, Brown e Bounous (1998), estudando os diferentes métodos de detecção para *E. maxima*, concluíram que o método de avaliação pelo escore de lesão, individualmente, não confere grande valor diagnóstico, sendo o grau de lesão histopatológico o melhor método diagnóstico seguido da contagem microscópica de oocistos.

O estudo visa elucidar os mecanismos envolvidos na relação hospedeiro-parasito por meio da avaliação das alterações patológicas e metabólicas em animais infectados experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria maxima*.

2 MATERIAS E MÉTODOS

2.1 Local do Estudo

A pesquisa foi desenvolvida na Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), localizada no município de Araguaína – TO, onde foram realizados o protocolo experimental e as análises zootécnicas; no Laboratório de Histologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em Manaus-AM, onde foram realizadas a confecção e análise das lâminas histológicas; e no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Regional de Coari, município de Coari – AM, onde foram feitas as análises bioquímicas.

2.2 Animais e protocolo experimental

Para realização do trabalho, foram utilizados 150 frangos de corte da linhagem Coob, machos, com dez dias de idade. As aves foram randomizadas de acordo com o peso e distribuídos em dois grupos experimentais: grupo controle, sendo inoculado com 0,5 ml de água destilada; grupo infectado, inoculado com 0,5ml de solução contendo 5×10^4 oocistos esporulados de *Eimeria maxima*. Para a inoculação, todas as aves do experimento foram contidas manualmente e inoculadas, com o auxílio de uma pipeta automática, por via oral.

Cada grupo foi instalado em gaiolas de ferro com dimensões de 1m de comprimento x 2m de largura x 1,5m de altura. Os comedouros e bebedouros utilizados contendo, respectivamente, água limpa e ração balanceada sem anticoccidianos, eram do tipo calha, sendo lavados com água e detergente neutro e flambados a cada 12 horas para que o risco de reinfecção fosse evitado.

A composição da ração utilizada (à base de milho e farelo de soja) obedeceu às normas e padrões nutricionais estabelecidas pela NRC (1998), sendo fornecida às aves “*ad libitum*”.

2.3 Avaliação dos sinais clínicos e determinação dos períodos parasitários

No decorrer do período experimental, foram realizados, diariamente, exames clínicos nos animais e análises parasitológicas em suas fezes, por meio de isolamento pela técnica de centrífugo-flutuação, sendo a amostra coletada com auxílio de espátula, armazenada em recipientes plásticos e posteriormente, analisada para determinar os períodos de pré-patência (espaço de tempo entre o momento da infecção do hospedeiro e a detecção do agente nos tecidos, secreções ou excretas) e patência (intervalo de tempo compreendido entre o início da eliminação de oocistos pelas aves e o término da infecção) de *E. maxima*.

2.4 Avaliação do desempenho zootécnico

O desempenho zootécnico foi avaliado no 0 (dia da inoculação), 5°, 10°, 15°, 25° e 35° dpi, sendo abatidas, por deslocamento cervical, quinze aves/grupo, conforme resolução da Comissão de Ética e Bem Estar Animal da UFAM (Protocolo nº). Nos dias

de coleta foram avaliados o peso vivo, peso de carcaça e rendimento de carcaça, sendo utilizada uma balança de 0,1 g de resolução.

No intuito de determinar a conversão alimentar, foi avaliado o consumo de ração, sendo pesada diariamente antes de ser fornecida para as aves em balança comercial comum com peso máximo de 25 quilos e resolução de 0,5g. O cálculo foi feito pela diferença de peso entre o alimento fornecido e o seu consumo. Este valor foi obtido descontando-se as sobras de ração do total de ração fornecida, durante a limpeza diária dos comedouros.

Para a determinação do rendimento de carcaça, os frangos foram submetidos a seis horas de jejum, sendo sacrificados por decapitação entre os ossos occipital e atlas utilizando-se faca previamente esterilizada. As aves foram sangradas por 2 minutos em cone adaptado ao abate de frangos. Foi feita a retirada da pele e penas manualmente, e as aves foram evisceradas por meio de corte abdominal realizado com tesoura. Para o cálculo de rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça eviscerada (sem vísceras, pés, cabeça e gordura abdominal). Em relação ao peso vivo, a conversão alimentar foi estimada através da relação consumo de alimento (kg/ave/dia) dividido pelo ganho de peso (kg/ave/dia).

2.5 Avaliação patológica

A avaliação histopatológica foi realizada no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia da UFAM, onde foram retirados fragmentos de duodeno, jejuno, íleo no 5º, 10º, 15º, 25º e 35º dpi, sendo coletadas, abertas longitudinalmente, lavadas em solução tampão fosfato (0,1 M, pH 7,4) e, fixadas em solução de formol 10% por 36 horas. Em seguida, foram lavados em álcool 70% para a retirada do fixador e, posteriormente, desidratados em séries crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol e incluídos em parafina. Após a microtomia semi-seriada, a uma espessura de 7µm, 7 cortes histológicos foram colocados em cada lâmina, sendo corados com hematoxilina e eosina, e observados a microscopia de luz (JUNQUEIRA, 2007).

2.6 Avaliação das alterações bioquímicas

Para avaliar o hematócrito e o metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos, 5 ml de sangue foram colhidos, após jejum de 6 horas, via intra-cardíaca, utilizando-se

seringas e agulhas descartáveis, sendo depositado 1 ml em tubos de ensaios estéreis contendo ácido etileno-diaminotetracético sódico (EDTA - sódico), 1 ml em tubos de ensaios estéreis contendo ácido etileno-diaminotetracético fluoreto de sódio (EDTA - fluoreto) e 3 ml em tubos de ensaio estéreis sem anticoagulantes para obtenção do sangue total, plasma e soro, respectivamente.

A dosagem da glicose plasmática foi realizada pelo método enzimático. Foram determinadas as contagens globais de hematócrito obtido por centrifugação em tubos capilares.

Os lipídios séricos avaliados no soro foram: triacilgliceróis das lipoproteínas e colesterol total.

O metabolismo proteico foi avaliado por meio das concentrações de proteínas totais. Todos os parâmetros bioquímicos relacionados serão determinados por meio de “kits” comerciais (Labtest Sistemas de Diagnósticos Ltda – Belo Horizonte/MG).

2.7 Análise Estatística

Os dados foram apresentados por meio de tabelas, onde se calculou a média e o desvio-padrão (DP), pois os dados apresentavam variâncias homogêneas e distribuição normal ao nível de 5% de significância por meio dos testes de *Bartlett's* e *Shapiro-Wilk* respectivamente. Na comparação das médias foi aplicado o teste t - *Student* (ARANGO, 2001; VIEIRA, 2004).

O software utilizado na análise foi o programa Epi-Info versão 7 para *Windows* desenvolvido e distribuído gratuitamente pelo CDC (www.cdc.org/epiinfo). O nível de significância fixados nos testes foi de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os primeiros sinais clínicos foram percebidos no 5^o dpi, onde as aves apresentaram apatia seguida de diarreia fétida, mucóide, penas eriçadas e ganho de peso inferior quando comparadas com as aves do grupo controle.

O grupo infectado apresentou um período de pré-patência e patência de 5 e 12 dias, respectivamente. O término do período patente foi confirmado pelo exame parasitológico das fezes e análise histopatológica do intestino delgado; os animais do grupo controle permaneceram negativos quanto à presença de oocistos durante todo o período

experimental. Tais características diferem dos achados em outros estudos com resultados de cinco e sete dias de período pré-patente e patente (JEURISSEN ET AL. (1996), YOUN&NOH (2001), E GABRIEL ET AL.(2006).

O período pré-patente observado na presente pesquisa assemelha-se aos resultados encontrados por Zulpo et al. (2007), que ao estudar a patogenicidade de cepas de *E. maxima*, usando uma dose de 2×10^4 , verificou um período pré-patente de 168 horas (7° dpi). Idris et al. (1997) também observou um período pré-patente de 168 horas em frangos inoculados com $2,5 \times 10^4$ oocistos esporulados de *E. maxima*. O menor período de pré-patência pode estar relacionado à alta excitação dos esporozoítos de *E. maxima*, conforme dados de Shiotani et al. (1992).

Ao final do experimento o grupo controle produziu 28,839 kg de carne e o grupo infectado 28,053kg de carne (Gráfico 1). Silva et al. (2005) avaliando o desempenho de frangos de corte criados em ambientes com oocistos e sem oocistos, observaram um menor peso corporal e uma pior conversão alimentar aos 14 dias de vida. Já Persia et al. (2006) relataram que a infecção por coccidiose pode levar a uma queda no desempenho, devido a uma diminuição da energia metabolizável da dieta e menor digestibilidade dos aminoácidos.

Na tabela 1 são apresentados os resultados das médias do peso vivo, peso de carcaça, fígado, coração e moela dos grupos controle e infectado nos 10°, 15°, 25° dpi.

Zulpo et al. (2007), que não obtiveram diferenças significativas para o ganho de peso, porém médias sempre mais baixas para o grupo infectado. O trabalho de Mori (2008) corrobora com o anterior ao referir que ao utilizar uma dose individual de 4×10^2 de oocistos vivos atenuados de *E. maxima*, *E. acervulina*, *E. mitis*, *E. tenella* o grupo infectado apresentou diminuição em todos os parâmetros avaliados em relação ao grupo controle.

O peso do coração e da moela dos animais experimentais não apresentou diferença significativa, já o fígado teve diferença no dia 5°, 15° e 35° dpi.

Tabela 1 - Parâmetros zootécnicos de frangos do grupo controle e infectado experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria maxima*.

Dias Experimentais	Grupos Experimentais				p*
	Controle		Infectado		
	Média	DP	Média	DP	
10° dpi					
Peso vivo	386,67	57,26	365,13	45,49	0,264

Peso da carcaça	274,47	42,34	265,60	48,66	0,599
Peso do coração	2,40	0,33	2,50	0,34	0,432
Peso do fígado	16,24	3,22	17,14	2,96	0,430
Peso da moela	13,16	1,69	12,62	0,96	0,287
15° dpi					
Peso vivo	493,33	56,32	451,42	71,34	0,100
Peso da carcaça	365,00	46,92	328,83	56,57	0,081
Peso do coração	3,00	0,32	2,73	0,53	0,123
Peso do fígado	13,42	1,57	16,97	3,02	0,001
Peso da moela	13,68	1,60	13,09	1,89	0,389
25° dpi					
Peso vivo	633,80	62,79	668,47	71,34	0,169
Peso da carcaça	473,13	47,86	485,87	56,57	0,511
Peso do coração	3,47	0,48	3,81	0,48	0,062
Peso do fígado	25,04	4,00	23,85	3,91	0,418
Peso da moela	17,82	1,96	18,39	2,70	0,517

Fonte: Elaboração própria

* Teste *t* - *Student*; DP = desvio-padrão.

Valor de “p” em negrito itálico indica diferença estatística entre as médias ao nível de 5%.

3.1 Desempenho sobre hematócrito e dados bioquímicos

Quanto aos dados hematócritos, no presente trabalho os grupos não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) desde o início do experimento até o final, 5° - 35°dpi, conforme Tabela 2.

Nas condições do nosso estudo verificou – se uma diferença significativa ($p < 0,05$) nos níveis de glicose em todos os dias de coleta, favoráveis ao grupo controle. Portanto, os valores plasmáticos normais para glicose podem estar ligados à glicogenólise hepática realizada pela ave, onde a glicose é mantida em seus níveis basais através da quebra do glicogênio hepático mediante a liberação de glucagon pelo pâncreas. Segundo Chapman, Fernandes e Davison (1982), a capacidade que a ave possui de manter a normoglicemia em situações onde as reservas de glicogênio hepático estão esgotadas, é devido a uma gliconeogênese ou uma utilização reduzida da glicose pela mesma.

Resultados semelhantes obtiveram Chapman, Fernandes e Davison. (1982) ao inocular 10^5 oocistos esporulados de *E. maxima*, dosagem superior a utilizada neste experimento, onde observou que as concentrações de glicose permaneceram quase análogos entre os do grupo infectado e os do grupo controle. Porém, resultados divergentes foram encontrados por Ruff (1980), estudando a absorção de glicose em aves infectadas por *E. maxima*, onde observou que a mesma provoca alterações na absorção

de glicose na fase aguda da doença, entretanto, aos 21 dias pós-infecção não são mais observadas alterações nas concentrações plasmáticas de glicose.

Os níveis de proteínas mantiveram-se significantes ($p < 0,05$) em todos os dias de coleta. Turk (1978) sugere que durante infecções coccidianas, a perda de proteínas plasmáticas diminui os efeitos da absorção dos nutrientes pela ave. Resultados semelhantes obteve Chapman, Fernandes e Davison (1981) ao trabalhar com 10^5 oocistos esporulados de *E. maxima*, observaram que as aves apresentaram uma leve hipoproteinemia na fase aguda da doença (4° dpi), não retornando aos valores normais até o 10° dpi. Sendo o fígado o órgão responsável pela produção de albumina (MEYER et al., 1995), as concentrações normais dessa proteína encontrada no presente trabalho é esperada uma vez que o parasita não provoca danos no referido órgão.

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) nos animais experimentais nos níveis de triglicerídeos somente no 25° dpi e colesterol total nos 25° e 35° dpi. A coccidiose é uma das enfermidades que mais provocam reduções plasmáticas de lipídios devido às alterações provocadas na mucosa do epitélio intestinal (Feterrer, 2002). A redução significativa na absorção de triglicerídeos foi acompanhada da redução do colesterol total, que apresentaram médias menores no grupo infectado, mesmo que não significativas. Isso mostra que a dose utilizada de *E. maxima* causou redução da absorção de lipídios. Resultados semelhantes foram encontrados por Allen e Feterrer (2002), que observaram diminuição na absorção de lipídios em aves infectadas com *E. maxima*.

Freitas et al. (2008) ao pesquisar as alterações no metabolismo em frangos de corte infectados experimentalmente com acervulina, parasita entérico, observou que todas as classes de lipídios no soro e as lipoproteínas apresentaram-se reduzidas nos animais infectados.

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos e bioquímicos de frangos do grupo controle e infectado experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria máxima*.

Dias experimentais	Grupos Experimentais				p*
	Controle		Infectado		
	Média	DP	Média	DP	
5° dpi					
Glicose	209,17	38,70	173,52	33,36	0,012
Triglicerídeos	122,66	57,47	121,25	46,81	0,942
Colesterol total	104,77	40,39	130,31	102,78	0,378
Proteína total	3,37	0,52	2,61	0,39	<0,001
Hematócrito	-	-	-	-	-
10° dpi					

Glicose	231,24	25,33	206,59	26,01	0,014
Triglicerídeos	192,96	87,02	181,12	67,23	0,680
Colesterol total	126,71	32,28	133,49	46,04	0,644
Proteína total	3,58	0,70	2,50	0,19	<0,001
Hematócrito	29,35	1,47	27,88	2,92	0,163
15° dpi					
Glicose	233,73	39,10	197,68	22,48	0,004
Triglicerídeos	135,67	62,13	132,21	45,99	0,864
Colesterol total	130,36	27,39	119,57	29,29	0,306
Proteína total	3,44	0,43	2,50	0,36	<0,001
Hematócrito	28,96	2,71	29,00	2,49	0,976
25° dpi					
Glicose	266,59	72,09	139,52	32,92	<0,001
Triglicerídeos	116,50	16,06	100,56	17,60	0,022
Colesterol total	137,92	17,04	119,86	14,06	0,006
Proteína total	3,46	0,57	2,57	0,24	<0,001
Hematócrito	28,25	2,17	28,63	3,10	0,721
35° dpi					
Glicose	252,92	35,14	121,85	35,45	<0,001
Triglicerídeos	111,14	24,07	101,10	17,67	0,220
Colesterol total	148,47	16,21	135,24	13,37	0,026
Proteína total	2,99	0,35	2,52	0,29	0,001
Hematócrito	29,30	3,47	31,46	3,44	0,111

Fonte: Elaboração própria

* Teste t - *Student*, DP = desvio-padrão.

Valor de "p" em negrito itálico indica diferença estatística entre as médias ao nível de 5%.

3.2 Análise histopatológica

A avaliação patológica evidenciou mucosa congesta e presença de grande quantidade de muco no 6º dpi. A incisão transversal do jejuno viabilizou a observação de mucosa hemorrágica caracterizando a principal área afetada pelo parasito. Microhemorragias foram observadas pela serosa somente no 1º dpi, sendo encontradas, principalmente, na região do duodeno e terço proximal do jejuno. Na presente pesquisa, o grupo controle não apresentou alterações clínicas e nem lesões sugestivas de infecção.

Utilizando uma dose de 2×10^4 oocistos esporulados de *E. maxima* (ZULPO et al., 2007), também observaram escores de lesão moderados. Jenkins, Fetterer e Miska (2009) também observaram escores com média moderada de 1,9, utilizando uma dose mais baixa, de 10^3 oocistos esporulados de *E. maxima*. Entretanto, resultados diferentes

foram observados por Galha et al. (2010) que encontrou escores de lesão moderados, porém em aves infectadas naturalmente. Tais resultados mostram que é possível que isolados de *E. maxima* variem em sua capacidade para induzir lesões intestinais (CONWAY et al., 1993; IDRIS et al., 1997).

Galha et al. (2010) ao estudar a coccidiose clínica em frangos de corte infectados naturalmente, observou que os principais sinais clínicos observados foram diarréia e apatia, associado a presença dos oocistos de *E. maxima* nas fezes. Santos et al. (2003), ao estudar a ocorrência de *E. maxima* em aves infectadas naturalmente, observou lesões caracterizadas por petéquias na serosa do jejuno, hiperemia da mucosa e exsudado mucoso de coloração alaranjada. Jenkins et al. (2008) usando a dose de 10^4 oocistos esporulados de *E. maxima*, observou que as aves apresentavam lesões características como numerosos pontos hemorrágicos na serosa, espessamento da parede intestinal e distensão.

Segundo Yun, Lillehoj e Lillehoj (2000), a magnitude dos sinais clínicos decorrentes da infecção por *Eimeria* spp é modelada por fatores como idade, sexo, linhagem, nutrição e fatores genéticos do hospedeiro. Em produções industriais de frangos de corte, a mortalidade não é o maior problema causado pela coccidiose, mas a redução dos índices de desempenho provocados pela diarréia e, às vezes, anemia (Borges, 2000).

No grupo infectado, o exame histopatológico evidenciou processo inflamatório crescente nas vilosidades intestinais caracterizado por infiltrado linfocitário difuso nas regiões laterais e apicais dos vilos associado com atrofia de vilosidades e presença das diversas formas parasitárias de *E. maxima*. As lesões histopatológicas são semelhantes as lesões encontradas por Zulpo et al. (2007), onde aves induzidas por 2×10^4 oocistos esporulados de *E. maxima* apresentaram atrofia discreta das vilosidades, proliferação de células epiteliais, hemorragia discreta e o parasito em vários estágios de desenvolvimento. (LAURENT et al., 2001; SHIOTANI, 1992).

Os efeitos patogênicos do parasitismo incluem principalmente o retardo no crescimento e redução na eficiência alimentar (IDRIS et al., 1997; LAURENT et al., 2001). Todas as lesões decorrentes da reprodução parasitária interferem diretamente na absorção de nutrientes, desencadeando uma série de distúrbios no metabolismo de carboidratos, proteínas, lipídeos, macro e micro-minerais (GABRIEL et al., 2003).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que nas condições experimentais a dose inoculada de 5×10^4 de *Eimeria maxima*, causou alterações patológicas e metabólicas significativas em dados momentos do período experimental. Medidas de prevenção e controle são fundamentais, uma vez que se trata de uma enfermidade subclínica onde os prejuízos são principalmente econômicos, gerando perdas para o produtor e, conseqüentemente para a cadeia produtiva avícola.

REFERÊNCIAS

ALBINO, L.F.T; TAVERNARI, F.C. **Produção e manejo de frangos de corte**. Viçosa: UFV, 2008.

ALLEN P.C.; FETTERER R.H. Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. **Clinical Microbiology Review**. v.15, n.1, p.58-65, 2002.

_____. JENKINS, M.C.; MISKA, K.B. Cross protection studies with *Eimeria maxima* strains. **Parasitology Research**, v.97, p.179–185, 2005.

_____. MCMURTRY, J. P. Changes in pancreatic hormones associated with coccidiosis. **Poultry Science**, v.63, n.6, p.1129-1135, 1984.

_____. Production of Free Radical Species During *Eimeria maxima* Infections in Chickens. **Poultry Science**, v.76, p. 814–821, 1997.

ALLEN, W. M., BERRETT, S., HEIN, H.; HEBERT, C. N. Some physiopathological changes associated with experimental *Eimeria brunetti* infection in the chicken. **Journal of Comparative Pathology**, v.83, p.369-375, 1973.

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA- ANUALPEC. Balanço da avicultura no Brasil. [S.I.], 2010.

ARANGO, Héctor Gustavo. **Bioestatística teórica e computacional**. Guanabara Koogan, 2001.

AVISITE. Revista Produção Animal-Avicultura. Ed. 48 - Abril 2013. Disponível em < <http://www.avisite.com.br/economia/>>. Acesso em 1. jul. 2013.

BORDIN, E. L. Patologia da coccidiose. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE, 1994, Santos, SP. **Anais...**, Santos, SP: FACTA, 1994.

CARDOZO S. P.; YAMAMURA, M. Y. Identificação de espécies de *Eimeria* sp e avaliação do escore de lesões intestinais entre frangos vacinados e tratados com anticoccidiano, produzidos no sistema colonial/caipira. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 261-270, 2006.

CARMO, R. B. A. A viabilidade econômica da avicultura de corte na Bahia. Compact Disc. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL – SOBER, 39., 2001, Recife, PE. **Anais...** Recife, PE, 2001.

CASTRO, A. G. M. Situação atual da coccidiose no Brasil e importância econômica. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE, 1994, Santos, SP. **Anais...** Santos, SP, 1994.

CHAPMAN, H. D. Practical use of vaccines for the control of coccidiosis in the chicken. **World's Poultry Science Journal**, v. 56, 2000.

CONWAY, D. P. et al. Effects of different levels of oocyst inocula of *Eimeria acervulina*, *E. tenella*, and *E. maxima* on plasma constituents, packed cell volume, lesion scores, and performance in chickens. **Avian Diseases**, v. 37, n. 1, p. 118-123, 1993.

CORNELISSEN, J.B.W.J.; SWINKELS, W.J.C.; BOERSMA, W.A.; REBEL, J.M.J. Host response to simultaneous infections with *Eimeria acervulina*, *maxima* and *tenella*: A cumulation of single responses. **Veterinary Parasitology**. n. 162, p. 58–66, 2009.

COSTA, C.A.F. et al. Coccidiose e desempenho em frangos com anticoccidianos na ração a partir de diferentes idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 52, n. 2, p. 144-149, 2000.

DALLOUL, A. A.; LILLEHOJ, H. S. Avian Coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. **Expert Review of Vaccines**, v. 5, n. 1, p.143-163, 2006.

DANFORTH; H. D. Use of live oocyst vaccines in the control of avian coccidiosis: experimental studies and field trials. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 7, p.1099-1109, jul. 1998.

ENTZEROTH, R.; MATTIG, F.R.; MEIER, R.W. Structure and function of the parasitophorous vacuole in *Eimeria* species. **International Journal for Parasitology**, v. 7, p. 1015-1018, 1998.

EPI-INFO, Versão 7 para Windows, produzido e distribuído gratuitamente pelo Centro de Controle de Doenças - CDC, Califórnia, janeiro de 1997. Disponível em <http://wwwn.cdc.gov/epiinfo>>. Acesso em: 1 jul. 2013.

FERNANDO, M.A.; ROSE, M.E; MILLARD, B.J. *Eimeria* spp. of domestic fowl: the migration of sporozoites intra-and extra-enterically. **Journal Parasitology**, v. 73, n. 3, p.561-567, 1987.

FREITAS, F. L. C. et al. Espécies do gênero *Eimeria* (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) em tamanduás-bandeira (*Mymecophaga tridactyla* LINNAEUS, 1758) em cativeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p.29-32, 2006.

GABRIEL, I. et al. Effects of whole wheat feeding on the development of coccidial infection in broiler chickens until market-age. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, 2006.

GALHA V., BONDAN E. F.; LALLO M. A. Relação entre imunossupressão e coccidiose clínica em frangos de corte criados comercialmente. **Revista Instituto de Ciências da Saúde**, v. 26, n. 4, p.432-437, 2008.

GARDNER, S. L.; UPTON, S. J.; LAMBERT, C. R. JORDAN, O. C. Redescription of *Eimeria escomeli* (Rastegaieff, 1930) from *Myrmecophaga tridactyla*, and a first report from Bolivia. **Journal of the Helminthological Society of Washington**, v.58, n. 1, p. 16-18, 1991.

GODOY, J. C. Milagre do consumo. In: **Anuário da avicultura industrial**, n. 1062, São Paulo, SP, dez. 1998/jan.1999.

GOODWIN, M. A.; BROWN, J.; BOUNOUS, D. I. Use of microscopic lesion scores, gross lesion scores and oocyst count scores to detect *Eimeria maxima* in chickens. **Avian Pathology**, v.27, p.405-08, 1998.

HONG, Y.H., H.S. LILLEHOJ, S.H. LEE, R.A. DALLOUL AND E.P. LILLEHOJ. Analysis of chicken cytokine and chemokine gene expression following *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella* infections. **Vet. Immunology Immunopathology**, v. 114, p. 209-223, 2006.

IDRIS, A. B.; BOUNOUS, D.I.; GOODWIN, M.A.; BROWN E ELIZABETH, J.; KRUSHINSKIE, A. Quantitative pathology of small intestinal coccidiosis caused by *Eimeria maxima* in young broilers. **Avian Pathology**, v. 26, n. 4, p. 731-747, 1997.

JANG, S. I. et al. *Eimeria maxima* recombinant Gam82 gametocyte antigen vaccine protects against coccidiosis and augments humoral and cell-mediated immunity. **Vaccine**. v. 28, p. 2980–2985, 2010.

JENKINS, M.; FETTERER, R.; MISKA. Co-infection of chickens with *Eimeria praecox* and *Eimeria maxima* does not prevent development of immunity to *Eimeria maxima*. **Veterinary Parasitology**, v. 161, p. 320–323, 2009.

JEURISSEN, S. H. M. et al. *Eimeria tenella* infections in chickens: aspects of host-parasite interactions. **Veterinary Immunology Immunopathology**, Amsterdam, v. 54, p. 231- 238, 1996.

JOHNSON, J. AND REID, W. M. Anticoccidial drugs: Lesion scoring techniques in battery and floor pen experiments with chickens. **Experimental Parasitology**, v. 28, p. 30-36, 1970.

JOHNSTON, W. T.; SHIRLEY, M. W.; SMITH, A. L. Modelling host cell availability and the crowding effect in *Eimeria* infections. **International Journal Parasitology**, v. 31, p. 1070-1081, 2001.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: JUNIOR, A. B.; SILVA, E. N. **Doença das aves**. [S. l.: s.n], 2009.

KHAN M. Q. et al. Eimeriosis in poultry of Rawalpindi/Islamabad area. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 26, n. 2, p. 85-87, 2006.

KIM, D. K. et al. Immune-related gene expression in two B-cpmplex disparate genetically inbred fayoumi chickens lines following *Eimeria maxima* infection. **Poultry Science**, v. 87, n. 1, p. 433-443, 2008.

KOPKO, S. H.; MARTIN, D. S.; BARTA, J. R. Responses of chickens to a recombinant refractile body antigen of *Eimeria tenella* administered using various immunizing strategies. **Poultry Science**, v. 79, n.3, p.336-342, 2000.

LAURENT, F et al. Analysis of Chicken Mucosal Immune Response to *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* Infection by Quantitative Reverse Transcription-PCR. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 4, p. 2527–2534, 2001.

LEVINE, P.P. A new coccidium pathogenic for chickens, *Eimeria brunetti*. **Cornell Veterinarian**, v. 32, p. 430-439, 1942.

LILLEHOJ, H. E; LILLEHOJ E.P. AVIAN COCCIDIOSIS. A review of acquired intestinal immunity and vaccinaton strategies. **Avian Diseases**, v. 44, p. 408-425, 2000.

LILLEHOJ, H. S; MIN, W.; Dalloul, o progresso RA recentes sobre a regulação de citocinas da resposta imune intestinal de *Eimeria*. **Poultry Science**, v. 83, n. 4, p. 611-623, 2004.

LONG, P. L. et al. A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian cocidiosis. **Folia Vet. Latina**, v. 6, p. 201-217, 1976.

LUCHESE, F. C ET al. Prevalência de espécies de *Eimeria* em frangos de criação industrial e alternativa. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 81-86, 2007.

LUCHESE, F. C. et al. Prevalência de espécies de *Eimeria* em frangos de criação industrial e alternativa. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**. v. 44, n. 22, p. 81-86, 2007.

MARTIN, A. G. et al. Analysis of immunological crossprotection and sensitivities to anticoccidial drugs among five geographical and temporal strains of *Eimeria maxima*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 527-533, 1997.

Mc DOUGALD, L.R. Protozoal Infections. In: A. M. Fadly. **Diseases Avian**. USA: Blackwell Publishing Professional, 2007.

MICHAEL, E.; HODGES, R.D. The pathogenic effects of *Eimeria acervulina*: a comparison of single and repeated infections. **Veterinary Record**, v. 89, n. 1, p.329-333, 1971.

MOHAMMED ALI A. et al. Cross immunity of DNA vaccine pVAX1-csZ2-IL-2 to *Eimeria tenella*, *E. necatrix*, and *E. maxima*. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 330-333, 2010.

MORI, A. **Relação entre o ensaio de digestibilidade de nutrientes e a integridade intestinal de frangos de corte submetidos adesafios químicos e microbiológicos**. 2008. 44 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)–Universidade Federal de Goiás, Escola de Medicina Veterinária, Goiania, GO, 2008.

MUAZU A. et al. Prevalence and Identification of Species of *Eimeria* Causing Coccidiosis in Poultry Within Vom, Plateau State, Nigeria. International, **Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 9, p. 917-918, 2008.

NAIDOO; V. et al. The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. **Veterinary Parasitology**, v. 153, n. 3-4; p. 214-219, 2008.
NORTON, C.C.; CHARD, M.J. The oocyst sporulation time of *Eimeria* species from the fowl. **Parasitology**, v.86, p.193-198, 1983.

PENHA, Guilherme de Almeida. Coccidiose aviária. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, Ano 6, n. 11, p. 1-5, jul. 2008.

PRADO, O. R. **Ocorrência de *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* e *E. mitis* em frangos de corte na região oeste de Santa Catarina**. 2005. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

RAMOS, L. S. N.; LOPES, J. B.; SILVA, S. M. M. S. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores decrescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 8, p. 1738-1744, 2011.

REID, M. W.; LONG, P. L.; MCDUGALD, L. R. **Coccidiosis: diseases of poultry**. 8. ed. Iowa: Iowa State University Press, 1984.

RUFF, M.D.; ALLEN, P.C.; CHUTE, M.B. Composition of heart, liver, and skeletal muscle from broilers with coccidiosis. **Poultry Science**. v. 60, p. 1807-1811, 1981.

SANTOS, R. F. S. et al. Ocorrência de *Eimeria* sp. em frangos de corte no estado de São Paulo. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 19, n. 3, p.230-234, 2003.

SCHNITZLER, B.E. e SHIRLEY, M. W. Immunological aspects of infections with *Eimeria maxima*: a short review. **Avian Pathology**, v. 28, p.537-543, 1999.

SHARMAN, P. A. et al. Chasing the golden egg: vaccination against poultry coccidiosis. **Parasite Immunology**, v. 32, p. 590–598, 2010.

SHIOTANI, A. N. et al. Distribution of oocysts, sporocysts and sporozoites of *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* in the digestive tract of chicken. **Veterinary Parasitology**, v. 41 p. 17-22, 1992.

SHIRLEY, M. W. (1994). Epizootiologia. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE, 3., 1994, Santos, SP. **Anais...** Santos, SP, p.11-22.

TERRA, A. T. et al. Frequência de espécies do gênero *Eimeria* em frangos de corte abatidos industrialmente no Município de Monte Alegre do Sul, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 10, n. 2, p. 87-90, 2001.

TOLEDO, G. A. et al. Coccidiosis in broiler chickens raised in the Araguaína region, State of Tocantins, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 2, 2011.

TSUJI, N. et al. Discrimination of eight chicken *Eimeria* species using twostep Polymerase Chain Reaction. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 5, p. 966-970, 1997.

TURK, D. E. Calcium absorption during coccidial infections in chicks. **Poultry Science**, v. 52, n. 1, p. 854-857, 1973.

TURK, D. E. Coccidial infections and iron absorption. **Poultry Science**, v. 60, n. 2, p. 323-326, 1981.

TURK, D. E. Macroelements in the circulation of coccidiosis infected chicks. **Poultry Science**, v. 65, n. 1, p. 462-468, 1986.

TURK, D. E.; GUNJI, D. S.; MOLITORIS, P. Coccidial infections and manganese absorption. **Poultry Science**, v. 61, n. 1, p. 2430-2434, 1982.

TYZZER, E.E. Coccidiosis in gallinaceous birds. **The American Journal of Higiene**. v. 10, n. 2, p. 269-383, 1929.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA-UBABEF. **Balço da avicultura no Brasil**, 2013. Disponível em: <http://www.ubabef.com.br/estatisticas/frango/consumo_per_capita>. Acesso em: 1 jul. 2013.

VERDUZCO, G. G.; CUEVAS, A.C.; COELLO, C.L. Dietary supplementation of mannan-oligosaccharide enhances neonatal immune responses in chickens during natural exposure to *Eimeria* spp. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, n. 11, p. 1-7, 2009.

VIEIRA, Sonia. **Bioestatística, tópicos avançados**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

VOETEN, A. C.; ORTHEL, F. W.; RIJEN, M. A. Analysis of losses due to subclinical small intestinal coccidiosis caused by *Eimeria acervulina* and *Eimeria maxima* under field conditions. **Tijdschr Diergeneeskd**, v. 113, n. 18, p. 989-998, 1988.

VRBA, V.; BLAKE, D.P.; POPLSTEIN, M. Quantitative real-time PCR assays for detection and quantification of all seven *Eimeria* species that infect the chicken, **Veterinary Parasitology**, 2010.

WALDENSTEDT, L. et al. Sporulation of *Eimeria maxima* Oocysts in Litter with Different Moisture Contents. **Poultry Science**, v. 80, p. 1412–1415, 2001.

WILLIAMS, R. B. Epidemiological studies of coccidiosis in the domesticated fowl (*Gallus gallus*): II. Physical condition and survival of *Eimeria acervulina* oocysts in poultry-house litter. **Applied Parasitology**. n. 36 p. 90–96. 1995.

YOUN, H. J.; NOH, J. W. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 96, n. 4, p. 257-263, Apr. 2001.

YUN, C. H.; LILLEHOJ, H. S. e LILLEHOJ, E. P. Intestinal immune responses to coccidiosis. **Developmental e Comparative Immunology**, v. 24, p. 303-324, 2000.

ZULPO, D.L. et al. Pathogenicity and histopathological observations of commercial broiler chicks experimentally infected with isolates of *Eimeria tenella*, *E. acervulina* and *E. maxima*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 97-104, 2007.

ANEXOS

ANEXO A – Declaração do Comitê de Ética em Experimentação Animal - CEEA



Poder Executivo
Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Comitê de Ética em Experimentação Animal – CEEA



DECLARAÇÃO

Atendendo à solicitação do Prof. Dr. Fagner Luiz da Costa Freitas, declaramos para os devidos fins que o projeto intitulado como "ATIVIDADE PROBIÓTICA DE *Saccharomyces cerevisiae* EM FRANGOS DE CORTE INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE POR OOCISTO ESPORULADOS DE EIMERIA MAXIMA" foi recebido sob o **Protocolo CEEA N° 008/2013** e será analisado por este Comitê de Ética em Experimentação Animal quanto à adequação do mesmo à legislação pertinente (Lei 11.794, Decreto n° 6899, Resolução n° 035/2008). Declaramos ainda que, em virtude dos processos de finalização do referido formulário, o parecer do projeto ainda se encontra em análise.

Manaus, 03 de Maio de 2013.

Prof. Dr. Fábio Tonissi Moroni
Presidente do CEEA-UFAM