

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA E ZOOTECNIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: SISTEMAS DE PRODUÇÃO ANIMAL

EIMERÍDEOS PARASITAS DE BÚFALOS

Aluno: ANTONIO CARLOS FACONTI DE NORONHA JR.

Orientadora: Profa. Dra. WILMA APARECIDA STARKE BUZETTI

Ilha Solteira
2002

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: SISTEMAS DE PRODUÇÃO ANIMAL

EIMERÍDEOS PARASITAS DE BÚFALOS

ANTONIO CARLOS F. DE NORONHA JR.

Orientadora: Profa. Dra. WILMA APARECIDA STARKE BUZETTI

Dissertação apresentada no curso de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira-Unesp, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia

Ilha Solteira
2002

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EIMERÍDEOS PARASITAS DE BÚFALOS

AUTOR: ANTONIO CARLOS FACONTI DE NORONHA JR.

ORIENTADORA: Dra. WILMA APARECIDA STARKE BUZETTI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA – ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: SISTEMA DE PRODUÇÃO ANIMAL pela Comissão Examinadora.

Dra. WILMA APARECIDA STARKE BUZETTI

Dra. MARIA CONCEIÇÃO ZOCOLLER SENO

Dra. NEUZA SALTIEL STOBBE

Data de realização: 05/07/2002

Dra. WILMA APARECIDA STARKE BUZETTI
Orientadora

Dedico

À Deus e a minha irmã Nicole que por intermédio Dele me proporcionou saúde e qualidade de vida novamente, possibilitando-me a oportunidade de realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual Paulista - UNESP/FEIS, em especial ao Departamento de Biologia e Zootecnia, pela oportunidade que tive de cursar a pós- graduação.

A minha orientadora Dra. Wilma Aparecida Starke Buzetti, pela paciência, atenção e sobretudo pela confiança e incentivo durante a realização do curso e do experimento. Agradeço pelos preciosos ensinamentos, dando-me exemplos de dedicação e inspiração à pesquisa.

Aos funcionários da Fazenda de Ensino e Pesquisa - UNESP, pelo manejo e cuidados com os animais, bem como pelas incontáveis colheitas de materiais dos mesmos, os quais foram necessários para a realização deste experimento. Aos técnicos do Laboratório de Imunoparasitologia Aparecida Duarte Cardoso e João Augusto da Paixão, pelos valiosos auxílios nas horas e dias mais imprevisíveis.

A FAPESP pela concessão da Bolsa de Estudos e financiamento da pesquisa.

A prof.(a) Dra Maria Conceição Zocoller Seno pela paciência e atenção ao nosso trabalho, bem como pelas suas dicas e valiosas sugestões.

A prof.(a) Dra. Rosângela Zacarias Machado (UNESP/Jaboticabal-SP), pelas orientações e auxílio na realização das fotomicrografias.

Ao Dr. Donald W. Duszynski (New México University-USA), por sua colaboração na identificação dos oocistos.

A Seção de Pós-Graduação da FEIS.

Aos amigos e colegas de curso Maria Francisca Neves, Silvia Helena Silvestre de Paula Lemos, Fabiano Pan Ferreira e demais alunos do curso de pós- graduação em zootecnia.

A secretária Meiri Sayuri Cruz por sua atenção a nós pós-graduandos e a auxiliar acadêmica Zeneide Ribeiro Campos pelo auxílio na digitação da dissertação.

Enfim a todos os companheiros da Pós-Graduação em Zootecnia que convivi.

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	IX
1.INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 ANIMAIS E LOCAL.....	13
3.2EXAMES COPROPARASITOLÓGICOS.....	14
3.3 IDENTIFICAÇÃO DOS OOCISTOS.....	14
3.4 DADOS CLIMÁTICOS.....	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
5. CONCLUSÕES	40
6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - Números e percentagens (%) de bezerros búfalos positivos para <i>Eimeria</i> spp. relacionados com a faixa etária e o OOPG no primeiro ano de vida (n = 18). (Bezerros nascidos em 2000).....	20
TABELA 2 - Números e percentagens (%) de bezerros búfalos positivos para <i>Eimeria</i> spp. relacionados com a faixa etária e o OOPG no primeiro ano de vida (n = 18). (Bezerros nascidos em 2001)	21
TABELA 3- Números e percentagens (%) de bezerros búfalos positivos para <i>Eimeria</i> spp. distribuídos de acordo com a data de colheita e o OOPG durante o primeiro ano do experimento	24
TABELA 4 - Números e percentagens (%) de bezerros búfalos positivos para <i>Eimeria</i> spp. distribuídos de acordo com a data de coleta e o OOPG durante o segundo ano do experimento	25
TABELA 5 - Número médio de oocistos contados para cada espécie de <i>Eimeria</i> identificada de acordo com a idade dos bezerros búfalos.....	37
TABELA 6 - Medidas dos oocistos e esporocistos das espécies de <i>Eimeria</i> identificadas nas fezes de bezerro búfalos	38

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1- Número de bezerros búfalos positivos para <i>Eimeria</i> spp. durante o ano de 2000 de acordo com a faixa etária e o grau de parasitismo classificado de + a +++ de acordo com o OOPG	22
FIGURA 2- Número de bezerros búfalos positivos para <i>Eimeria</i> spp. durante o ano de 2001 de acordo com a faixa etária e o grau de parasitismo classificado de + a +++ de acordo com o OOPG	23
FIGURA 3 – Número de bezerros búfalos positivos para <i>Eimeria</i> spp. durante ano de 2000, de acordo com a data de colheita e o grau de parasitismo classificado de + a +++ de acordo com o OOPG	26
FIGURA 4 - Número de bezerros búfalos positivos para <i>Eimeria</i> spp. durante o ano de 2001 de acordo com a data da colheita e o grau de parasitismo classificado de + a +++ de acordo com o OOPG	27
FIGURA 5 - Médias mensais de bezerros búfalos positivos em relação a temperatura média mensal e precipitação pluviométrica no primeiro ano de experimento, no município de Selvíria- MS.....	31
FIGURA 6 - Médias mensais de bezerros búfalos positivas relacionadas com as médias mensais de temperatura e com precipitação pluviométrica durante o segundo ano do experimento, no município de Selvíria-MS	32
FIGURA 7 - Fotomicrografias de oocistos esporulados de <i>Eimeria alabamensis</i> (1), <i>E. zuernii</i> (2), <i>E. cylindrica</i> (3), <i>E. brasiliensis</i> (4), <i>E. auburnensis</i> (5) e <i>E. ellipsoidalis</i> (6) parasitas de bezerros búfalos. Aumento 100x	39

RESUMO

A coccidiose é uma doença parasitária que tem como agentes etiológicos várias espécies de protozoários, incluindo as do gênero *Eimeria* Schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae). O estudo teve como objetivo identificar as espécies de protozoários do gênero *Eimeria* que parasitam búfalos, assim como verificar a presença de espécies patogênicas e suas frequências através de exames coproparasitários, além de acompanhar a evolução do parasitismo nos bezerros e nas búfalas adultas durante o ano. Foram analisadas fezes de dois lotes (um lote por ano de experimento) de 18 bezerros búfalos do nascimento aos 365 dias de idade, de ambos os sexos e suas respectivas mães, criados na Fazenda de Ensino e Pesquisa (FEP) da Unesp- Campus das espécies de *Eimeria* spp. foi feita através das características morfomicrométricas de Ilha Solteira no município de Selvíria- MS. A identificação dos oocistos esporulados. Os bezerros búfalos iniciaram o parasitismo patente entre os 6 a 29 dias de idade com a maior concentração de eliminação de oocistos nas fezes de 188 a 292 dias de vida. As búfalas adultas não eliminaram oocistos nas fezes em nenhuma época do ano, e mesmo entre os bezerros infectados não houve manifestação de sintomatologia clínica característica de coccidiose. Observou-se em ambos os anos analisados, que o maior índice parasitário ocorreu durante o período chuvoso, ou seja de setembro a janeiro nos dois anos (2000 e 2001). As espécies identificadas foram as seguintes: *E. ellipsoidalis*, *E. zuernii*, *E. auburnensis*, *E. brasiliensis*, *E. alabamensis* e *E. cylindrica*. As espécies prevalentes foram *E. ellipsoidalis* e *E. cylindrica* que predominavam nos animais mais jovens (6 a 133 dias). A *E. zuernii*, por outro lado, apresentou-se em baixo índice parasitário e somente nos animais mais velhos (208 – 283 dias).

Palavras chave: Coccidiose; Eimeriose; Oocistos; Búfalos

ABSTRACT

Coccidiosis is a parasitic disease that has as etiologic agents some protozoan species, including the genus *Eimeria* Schneider 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae). The objective of this study was to identify the species of *Eimeria* that most commonly affect the water buffalo. Feces of two groups (a groups per year of experiment) of 18 buffalo calves were analyzed for 12 months after the birth and feces of 18 buffalo cows were analyzed four times a year (January, April, July and October). The identification of the species was made through the morphological examination of sporulated oocysts. The buffalo calves started shedding oocysts through their feces between 6 and 29 days of age with the highest concentration of the oocysts between 188 and 292 days of age. The buffalo cows were negative to *Eimeria* spp. The animals were found more infected during the rainy season, (September to January) in both years. The species identified were: *E. ellipsoidalis*, *E. zuernii*, *E. auburnensis*, *E. brasiliensis*, *E. cylindrica* and *E. alabamensis*. The prevalent species were *E. ellipsoidalis* and *E. cylindrica* that predominated in the youngest animals (6 to 133 days). *E. zuernii*, on the other hand, was found only in low numbers in the feces of older calves (208-283 days).

Key words: Coccidiosis; Eimeriosis; Oocysts; Water Buffalo

1. INTRODUÇÃO

A coccidiose é uma doença parasitária que tem como agentes etiológicos várias espécies de protozoários, incluindo as do gênero *Eimeria* Schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae).

A eimeriose em búfalos é considerada causadora de alta mortalidade e morbidade especialmente em bezerros (SANYAL & RUPRAH, 1984). Esta parasitose resulta em uma infecção aguda, caracterizada por enterite, com fezes líquidas e sanguinolentas e pela intensa inflamação na mucosa intestinal (GRIFFITHS, 1974; SANYAL & RUPRAH, 1984; LAU, 1990), podendo ocorrer inclusive sintomatologia nervosa em alguns casos descritos por ISLER et al. (1987) em bovinos. Por outro lado, a susceptibilidade dos animais a eimeriose pode depender de predisposição genética, resistência imunológica inata ou adquirida, nível de estresse, manejo, desmama, fatores climáticos ambientais e outros (HAYAT et al., 1994).

As principais espécies já identificadas acometendo os bubalinos são: *Eimeria zuernii*, *E. bovis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. auburnensis*, *E. subspherica*, *E.*

bareillyi, *E. canadensis*, *E. ankarensis* e *E. bukidonensis* (LAU, 1990; REBOUÇAS et al., 1990; HAYAT et al., 1994 ; BAHIRATHAN et al., 1995).

No Brasil, os dados sobre coccidiose em bovinos são inúmeros, mas para bubalinos ainda são incipientes. O clima brasileiro, quente e úmido, favorece a expansão da bubalinocultura, mas também propicia a grande incidência de parasitoses em bubalinos , principalmente nos animais mais jovens.

Considerando-se isto, o aprofundamento dos conhecimentos no que diz respeito aos parasitas desses animais faz-se necessário. Desta maneira, o estudo aqui proposto teve como objetivos principais: i) o acompanhamento da evolução do parasitismo dos bezerros búfalos do nascimento aos 12 meses de idade, verificando a influência do fator idade e das condições climáticas na evolução desta parasitose, ii) a ocorrência do parasitismo nas búfalas adultas mães desses bezerros, durante quatro períodos do ano: janeiro, abril, julho, outubro representando todas as estações climáticas do ano, iii) a identificação das espécies de protozoários do gênero *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) que parasitavam búfalos nascidos e criados na Fazenda de Ensino e Pesquisa (FEP) da Unesp campus de Ilha Solteira localizada no município de Selvíria -MS.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Eimeriose em búfalos é uma doença causada pelo protozoário do gênero *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) parasita intracelular da mucosa intestinal. É transmitida através de oocistos que necessitam umidade e temperatura adequadas para seu desenvolvimento e esporulação. Os oocistos podem ser identificados de acordo com o formato e o tamanho. Os formatos mais comuns são esféricos, ovais ou elipsóides e o tamanho das espécies comuns varia de 15 a 50 μm . Os oocistos possuem uma casca refrátil e algumas espécies possuem um pequeno poro numa extremidade, o micrópilo, freqüentemente coberto por um tampão polar, que pode ser proeminente. O tempo de esporulação em condições de temperatura controlada também pode ser utilizado como um auxílio para a identificação. O hospedeiro adquire a infecção pela ingestão de água ou alimento em locais que contém oocistos esporulados (URQUHART et al. 1987).

HAYAT et al. (1994), examinando amostras de fezes de bovinos e bubalinos com e sem sinais clínicos (diarréia), identificaram as espécies *Eimeria zuernii*, *E. bovis*, *E. cylindrica* e *E. ellipsoidalis*. O tamanho médio do oocisto de *E. bovis* foi 28,5x19,0 μm , o

de *E. zuernii* 17,85x15,25 **mm**, o de *E. cylindrica* 23,25x 14,45 **mm** e o de *E. ellipsoidalis* 17,0x 13,5 **mm**.

As características morfomicrométricas de algumas espécies de eimerídeos observados em búfalos, bem como os tempos de esporulação, foram semelhantes aos encontrados para os eimerídeos da mesma espécie descritos em bovinos (REBOUÇAS et al., 1990).

GRIFFITHS (1974) afirmou que esta infecção foi bastante comum e de magnitude suficiente para causar doença em bezerros búfalos criados em condições sanitárias precárias. Na Índia e no Sri Lanka, a eimeriose foi a principal causa de mortalidade de bezerros búfalos.

Das várias espécies descritas em búfalos no Brasil, as prevalentes foram: *E. zuernii*, *E. auburnensis*, *E. ellipsoidalis* e *E. subspherica* (LÁU, 1999).

LÁU (1990) estudando as doenças que acometiam os búfalos na região amazônica, relatou que as parasitoses foram as prevalentes, e considerou a infecção causada por espécies do gênero *Eimeria* como um dos fatores para o impedimento do desenvolvimento da bubalinocultura naquela região.

A identificação das espécies de eimerídeos parasitas de ruminantes tem sido baseada nas características morfológicas dos oocistos esporulados (LONG & JOYNER, 1984; LEVINE & IVENS, 1970), bem como na espécie de hospedeiro, localização dos estágios endógenos e imunidade cruzada (FAYER, 1980). Além disso, o índice morfométrico (razão do diâmetro maior pelo menor), segundo LONG & JOYNER (1984) tende a ser constante entre as espécies, embora o tamanho do oocisto seja variável, permitindo uma maior precisão na comparação inter e até mesmo intraespecífica. Ainda, segundo estes autores, o oocisto apresenta variações de medidas e tende atingir seu tamanho máximo em torno da metade do período de patência.

Alguns estudos determinaram a prevalência da coccidiose em búfalos e em bovinos de diferentes regiões do Brasil e do mundo. ROSSANIGO (1997) estudou a prevalência da coccidiose em bezerros bovinos pós-demama na província de San Luis, Argentina. A morbidade variou entre 1% e 23% com uma mortalidade média de 1%. As quantidades de oocistos por grama de fezes (OOPG) nos animais com sintomas clínicos foram entre 10 e 27 mil. As espécies observadas foram *Eimeria zuernii* e *E. bovis*.

HASBULLAH et al. (1990) examinaram mensalmente a presença de oocistos nas fezes de um rebanho bovino no Japão, de abril de 1986 a janeiro de 1987. Foram examinados animais com menos de 2 anos de idade e animais adultos. Os animais não apresentavam sinais clínicos de coccidiose, mas 19,3% das amostras examinadas encontravam-se positivas com 12,9% de positividade no período de pastejo e 26,7% durante o período de estabulação. Os autores identificaram 13 espécies de eimerídeos com *E. bovis* a mais dominante (25%), seguido de *E. auburnensis* (17,6%), *E. canadensis* (14,5%), *E. alabamensis* (9,75%), *E. ellipsoidalis* (8,1%) e *E. zuernii* (7,0%). As outras espécies tiveram menos de 6% de prevalência e a porcentagem de positivos foi maior nos animais jovens.

REBOUÇAS et al. (1994) determinaram a prevalência e a distribuição das espécies de eimerídeos de bovinos na região de São Carlos-SP. Foram identificadas 10 espécies: *E. bovis*, *E. subspherica*, *E. zuernii*, *E. cylindrica*, *E. canadensis*, *E. ellipsoidalis*, *E. bukidonensis*, *E. brasiliensis*, *E. alabamensis* e *E. wiomingensis*. Os oocistos foram encontrados em 43,6% do total das amostras fecais examinadas.

BAHIRATHAN et al. (1995) determinaram a prevalência e a abundância de *Eimeria* spp. por idade e a relação entre excreção de oocistos e diarreia em 45 bezerros búfalos do nascimento aos 130 dias de idade, em uma fazenda com sistema intensivo de manejo (estabulado) no Sri Lanka. Foram identificadas nove espécies de *Eimeria*: *E.*

subspherica, *E. zuernii*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. canadensis*, *E. auburnensis* e *E. ankarensis*. Casos de diarreia ocorreram em 32 animais entre 8 e 48 dias de idade que tiveram uma alta contagem inicial de oocistos ($3,37 \times 10^6$ OOPG). Somente oocistos de *E. bareillyi* e *E. subspherica* foram encontrados nas fezes dos bezerros durante os episódios de diarreia.

BARBOSA et al. (1992) estudaram a infecção natural por parasitas gastrintestinais, em bubalinos criados confinados e fora de lugares alagadiços na região de Botucatu, SP. Foram examinados 48 bubalinos da raça Mediterrânea, sendo 24 búfalas e seus respectivos bezerros. Os 24 bezerros foram examinados ao longo das 30 primeiras semanas de vida, e houve 100% de positividade para presença de coccídios nas fezes. Os coccídios foram observados precocemente nas fezes dos bezerros, pois na terceira semana de vida 14 animais já eliminavam oocistos nas fezes (58,33%) e até a sexta semana todos os 24 bezerros já encontravam-se parasitados.

REBOUÇAS et al. (1990) examinaram amostras de fezes de búfalos entre 15 dias a 12 meses, nascidos e criados em propriedades localizadas na região do Vale do Ribeira e 36,4% dos animais examinados estavam positivos para eimeriose. As espécies identificadas e suas respectivas frequências foram: *E. zuernii* (10,0%), *E. bovis* (8,3%), *E. ellipsoidalis* (4,7%), *E. cylindrica* (4,4%), *E. subspherica* (4,0%), *E. canadensis* (3,1%), *E. auburnensis* (1,5%) e *E. bukidonensis* (0,3%).

SANYAL et al. (1985) encontraram parasitando búfalos na Índia as espécies *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. subspherica*, *E. ellipsodalis*, *E. zuernii*, *E. cylindrica*, *E. wyomingensis*, *E. alabamensis*, *E. canadensis* e *E. auburnensis*. Já na Iugoslávia, PAVLOVIC (1975) registrou as espécies *E. subspherica*, *E. zuernii*, *E. ellipsoidalis*, *E. cylindrica*, *E. bovis*, *E. auburnensis* e *E. bukidonensis*.

LÁU (1982) identificou as espécies *E. zuernii*, *E. subspherica*, *E. auburnensis* e *E. ellipsoidalis* em búfalos no estado do Pará.

E. zuernii, *E. bovis* e *E. ellipsoidalis* são as espécies consideradas patogênicas para bovinos (BLOOD & RADOSTITS, 1991).

Animais com infecção clínica de coccidiose apresentam diarreia, desidratação, pelos arrepiados, perda de peso, anemia, debilidade, baixa conversão alimentar e redução na produção de leite resultando em perdas econômicas. A doença frequentemente inicia-se de forma aguda e caracteriza-se por enterite com fezes líquidas misturadas com sangue e pela formação de falsas membranas no intestino (GRIFFITHS, 1974; LÁU, 1999), podendo, segundo ROSSANIGO (1997) os sintomas clínicos coincidiram com altas contagens de OOPG (10000 a 27000). De acordo com BAHIRATHAN et al. (1995) em nove de onze bezerros que morreram de coccidiose entre 23 a 48 dias de idade, as mortes ocorreram durante o curso de diarreia.

A patologia da doença foi estudada por SANYAL & RUPRAH (1984) que infectaram experimentalmente bezerros búfalos com *Eimeria zuernii*, dando aproximadamente 50 mil oocistos via oral por bezerro.. O período pré-patente de *E. zuernii* foi de 17 a 18 dias com uma média máxima de 40,4 mil oocistos por grama de fezes. Os bezerros apresentaram diarreia 15 dias após a infecção. Aos 20 dias pós-infecção, apresentavam fraqueza e anorexia, e dois deles encontravam-se em decúbito lateral, com o óbito ocorrendo quatro dias após. Os animais infectados apresentavam anemia e leucopenia. Um bezerro sacrificado sete dias após a infecção não apresentou lesões macroscópicas no intestino, e outro sacrificado aos 14 dias após a infecção apresentou mucosa intestinal edematosa e inflamada. Neste animal o conteúdo intestinal era fluido com traços ocasionais de sangue. Entretanto, lesões marcantes foram encontradas no bezerro sacrificado aos 21 dias após a infecção, onde o conteúdo do ceco e cólon estava

vermelho brilhante. A mucosa apresentava-se inflamada, edematosa, hemorrágica e coberta por uma membrana diftérica. Hemorragia petequiral foi observada na mucosa do cólon e ceco. Esquizontes foram detectados na lâmina própria do íleo do bezerro sacrificado aos sete dias após a infecção. Estes esquizontes estavam cercados por células mononucleares. No bezerro sacrificado 14 dias após a infecção os autores observaram os estágios sexuais, macrogametócitos e oocistos no cólon e na parte terminal do íleo. O epitélio glandular e criptas de Lieberkuhn também estavam parasitados, os vilos estavam hipertrofiados, com os vasos sanguíneos da submucosa e mucosa congestionados e hemorrágicos. A lâmina própria estava edematosa e infiltrada por muitos neutrófilos, linfócitos, macrófagos e células plasmáticas, e em algumas áreas, o epitélio estava coberto de uma camada de fibrina misturada com hemácias, neutrófilos, células mononucleares e oocistos. Em outras áreas o epitélio estava completamente ausente expondo a lâmina própria.

As células parasitadas pelos coccídios se alteram com o crescimento dos parasitos e são destruídas. Alguns efeitos são decorrentes da pressão exercida pelo parasito, que cresce rapidamente, e outros são provavelmente, causados por modificações induzidas pelo parasito em desenvolvimento (RYLEY, 1980).

As alterações funcionais causadas pela eimeriose dependem da localização das espécies envolvidas e do grau de destruição dos tecidos, podendo ser alterações locais ou sistêmicas.

As células alteradas são eliminadas e aparecem áreas de microulcerações. No caso de destruição de células das vilosidades, que são colunares com numerosas microvilosidades na superfície apical, ocorre substituição por outras que migram das áreas adjacentes das vilosidades e das criptas; essas células são cuboidais e de superfície lisa. A lâmina própria se contrai e reduz o tamanho das vilosidades e, como consequência, a superfície de absorção do epitélio. A contínua demanda de células determina uma

hiperplasia do epitélio das criptas. As capacidades digestivas e de absorção da mucosa estão reduzidas em decorrência da atrofia das vilosidades e da redução do número de células absorventes. Além disso, as células restantes possuem menor capacidade digestiva porque não se encontram completamente diferenciadas. O conteúdo digestivo e as secreções normais não são absorvidos e sofrem degradação bacteriana e fermentação na luz intestinal. Esta degradação determina um aumento na osmolaridade do conteúdo intestinal e passagem de líquido para a luz intestinal. O conjunto das alterações funcionais resultantes dessas lesões denomina-se síndrome da má absorção (MOON, 1980; NIELSEN, 1982)

As células diferenciadas das vilosidades são responsáveis pela absorção e as células indiferenciadas das criptas, pela secreção. Um aumento de secreção causado pela hiperplasia das criptas leva a um desbalanceamento da proporção absorção/ secreção e pode causar diarreia. O aumento na secreção pode provocar um aumento plasmático de hormônios inibidores do apetite como a colecistoquinina e somatostatina. As células epiteliais possuem estruturas responsáveis pela fusão das membranas plasmáticas entre células adjacentes. Os eletrólitos e a água atravessam por difusão essa união, que serve de barreira para as macromoléculas. Nas infecções por coccídios pode haver separação das junções entre essas células e ocorrer a passagem de proteínas para a luz intestinal e, assim, afetar o funcionamento do tubo intestinal (NIELSEN, 1982; TITCHEN, 1982) .

ISLER et al. (1987) analisando casos de coccidiose bovina no Canadá, relataram que alguns bezerros exibiram desordens no sistema nervoso central durante infecção entérica por coccídios. A síndrome denominada “coccidiose nervosa” poderia ocorrer em 30% (ocasionalmente mais) dos bezerros infectados. Apesar da terapia intensiva a média de casos fatais seria muito maior nos animais com sintomas nervosos do que nos sem sintomas. Estes variavam em severidade e frequência de incoordenação muscular e

deambulação, para acessos contínuos ou intermitentes. Cegueira aparente e hiperexcitabilidade foram notadas ocasionalmente. Durante os acessos o animal colapsava em decúbito lateral e apresentava algum ou todos os seguintes sintomas: opistótono, tetania, estrabismo médio-ventral, nistagmo, movimentos de pedalagem e exagerado piscar das pálpebras. O animal podia espumar pela boca e ocasionalmente mugir. A respiração tornava-se rápida e irregular. O bezerro podia aparentar normalidade entre os acessos, mas apresentar convulsões quando estressado. A patogênese da coccidiose nervosa é ainda desconhecida e muitas hipóteses foram propostas: toxemia, anemia, hipovitaminose A, hipoglicemia, desbalanço eletrolítico, absorção anormal de material através da parede intestinal lesada, produção de toxinas pelos coccídios e a resposta imune do hospedeiro aos coccídios. Os resultados desse estudo falharam em confirmar a maioria das hipóteses previamente sugeridas para a patogênese dos sintomas nervosos que ocasionalmente ocorrem em associação a coccidiose entérica bovina.

Epidemiologicamente, a coccidiose é uma doença cosmopolita mas sua ocorrência tem mais importância onde os animais são estabulados ou confinados (URQUHART et al. 1987).

HAYAT et al. (1994) examinaram amostras de fezes de bovinos e bubalinos de quatro grupos de idade. A incidência foi maior em animais com menos de seis meses e menor nos animais mais velhos. A prevalência da infecção foi maior no outono e primavera e menor no verão e inverno e da mesma forma mais alta em animais criados a pasto do que naqueles estabulados e alimentados no cocho. Sanidade, clima e manejo são possíveis fatores que influenciam a infecção por coccídios. A incidência foi maior em gado bovino de cruzamento industrial devido possivelmente a menor resistência desses animais contra infecções já que o clima quente leva as raças exóticas a um maior estresse térmico.

O estudo conduzido por BAHIRATHAN et al. (1995) evidenciou que coccidiose é uma parasitose comum em fazendas com sistema intensivo de manejo. *E. bareillyi* foi a espécie prevalecente e mais numerosa nos bezerros dos 15 aos 120 dias de idade. Na maior parte do ano, a região do estudo permaneceu quente e úmida e portanto o stress causado pela desmama precoce e pelas condições climáticas poderia ter favorecido o desenvolvimento de coccidiose clínica naqueles bezerros. O confinamento dos bezerros é outro fator que deve ser considerado. Os animais adultos são portadores de coccídios e são fontes potenciais de infecção para os bezerros recém-nascidos que podem contrair a infecção poucos dias após o nascimento enquanto estão com as mães. A temperatura ambiente ótima combinada ao confinamento dos bezerros pode proporcionar condições favoráveis para a esporulação dos oocistos e a contaminação dos animais.

HASBULLAH et al. (1990) observaram que o desenvolvimento dos sinais clínicos dependia do equilíbrio entre o desenvolvimento da resistência do hospedeiro e a velocidade de infecção. E que o número de oocistos eliminados pelas fezes dos animais infectados para o ambiente dependia da resistência desenvolvida pelo hospedeiro, da lotação animal e do stress causado pelo clima e pela desmama precoce.

Após a infecção, desenvolve-se uma imunidade espécie-específica para cada espécie de coccídio. Por essa razão, os animais jovens expostos aos coccídios pela primeira vez são muito mais susceptíveis a uma infecção aguda e a doença clínica do que os animais adultos (BLOOD & RADOSTITS, 1991).

ROSSANIGO (1997) concluiu que os focos de coccidiose sempre estavam associados a três fatores que se apresentavam simultaneamente: a) condições climáticas de outono, com umidade e temperatura favoráveis a esporulação dos oocistos no ambiente, b) confinamento com alto grau de contaminação, c) desmama como fator de stress e queda da imunidade. De acordo com este autor, a presença de espécies patogênicas no exame de

fezes não significava necessariamente que o animal estava enfermo e não justificava tratamento, no entanto, a administração de sulfas injetáveis no momento da aparição dos sintomas mostrou-se ser uma terapêutica efetiva e econômica em condições de campo.

A coccidiose é uma doença auto-limitante. Os sintomas clínicos regredem espontaneamente após o término do estágio de multiplicação do parasita. Muitos tratamentos têm sido recomendados sem levar em consideração esse fator, sendo improvável que algum dos agentes terapêuticos utilizados comumente para o tratamento da coccidiose clínica exerça algum efeito significativo sobre os estágios finais dos coccídios. A maioria das drogas usadas para o controle da coccidiose apresenta um efeito depressor sobre os esquizontes de primeiro estágio recém-formados. Quando ocorre um surto, os animais clinicamente acometidos devem ser, se possível, isolados e tratados adequadamente. Deve-se fazer uma tentativa de reduzir-se a quantidade de animais nos locais ou currais contaminados. A superlotação é uma ocorrência comum nas epidemias de coccidiose (BLOOD & RADOSTITS, 1991).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. ANIMAIS E LOCAL

Para essa pesquisa foram utilizados búfalos nascidos e criados na Fazenda de Ensino e Pesquisa (FEP) da Universidade Estadual Paulista (Unesp)- Campus de Ilha Solteira localizada no município de Selvíria-MS. Os animais foram mantidos em criação extensiva, onde os bezerros búfalos permaneceram junto às mães até o desmame natural, que geralmente ocorria aos oito meses de idade. O rebanho bubalino foi mantido em uma pastagem de *Brachiaria decumbens* numa área de 12 hectares contendo uma lagoa .

Foram colhidas amostras de fezes de dois lotes de 18 bezerros búfalos machos e fêmeas, mestiços Mediterrâneo x Murrah (pertencentes a um rebanho de 42 cabeças) do nascimento aos 12 meses de idade durante os anos de 2000 e 2001 (um lote por ano). Do nascimento aos seis meses, as amostras foram colhidas semanalmente e dos seis meses aos 12 meses, quinzenalmente. Das fêmeas adultas, foram coletadas amostras em quatro períodos do ano, nos meses de: janeiro, abril, julho e outubro, para representar todas as estações climáticas do ano (verão, outono, inverno e primavera).

Com a intenção de pesquisar a presença de espécies de eimerídeos em outras regiões, amostras de fezes de bezerros búfalos foram colhidas de um rebanho localizado no município de Nova Andradina- MS (Fazenda Santo Antonio), composto por aproximadamente 2000 cabeças. Para isso, colheu-se uma amostragem de cerca de 10%

dos animais das diferentes categorias (bezerros, novilhos e adultos). Os bezerros amostrados foram os bezerros ao pé das vacas que estavam em lactação e bezerros de desmama.

3.2. EXAMES COPROPARASITOLÓGICOS

A quantificação dos oocistos por grama de fezes (OOPG) foi feita pela técnica de GORDON & WHITLOCK (1939) modificada por WHITLOCK (1948) utilizando a câmara de McMaster.

A quantificação seguiu um critério de cruces onde:

+ = 50 a 2500 oocistos por grama de fezes (OOPG)

++ = 2550 a 5000 oocistos por grama de fezes (OOPG)

+++ = > 5000 oocistos por grama de fezes (OOPG)

3.3. IDENTIFICAÇÃO DOS OOSISTOS

As amostras fecais que apresentavam uma quantidade superior a 2550 OOPG (OOPG a partir de ++) eram colocadas em placas de Petri com solução de dicromato de potássio a 2% por seis a 10 dias em temperatura ambiente, para promover a esporulação dos oocistos. Após a esporulação, as fezes eram transferidas para frascos de vidro de boca larga, onde acrescentava-se mais solução de dicromato de potássio (em torno de 100 ml) onde eram mantidas a 4° C até posterior identificação dos oocistos. Em cada frasco, colocavam-se amostras fecais que pertenciam a animais de mesma faixa etária e com a mesma espécie de *Eimeria* ou amostras individuais. Este material em solução de dicromato de potássio pode ser conservado durante quatro a cinco anos em geladeira (DUSZYNSKI & CONDER, 1977).

Para a identificação, a contagem e a mensuração dos oocistos do material fecal em dicromato de potássio, colheu-se 3 ml por frasco e realizou-se a técnica da centrifugo-flutuação em solução saturada de sacarose, segundo técnica preconizada por SHEATHER (1923).

Esses oocistos esporulados foram identificados por suas características morfológicas, micrométricas e índice morfométrico (razão entre o diâmetro maior e o diâmetro menor do oocisto) segundo LEVINE & IVENS (1970) e LONG & JOYNER (1984). As mensurações foram realizadas em microscópio Nikon de luz branca com aumento de 100x (objetiva de imersão em óleo) e com auxílio de uma escala ocular micrométrica de 10x. Desta maneira, mediu-se o diâmetro maior e menor do oocisto, diâmetro maior e menor do esporocisto e observou-se a presença ou ausência de micrópila e demais características morfológicas.

Foram enviadas amostras de material (fezes e oocistos em solução de dicromato de potássio 2%) para o laboratório do Prof. Dr. Donald W. Duszynski em “New Mexico University” em Albuquerque, NM- USA, com intuito de auxílio e confirmação na identificação dos oocistos.

Para a contagem dos oocistos esporulados, presentes no material fecal, três amostras de 3 ml de cada frasco, previamente homogeneizadas, foram colhidas para a realização da técnica da centrifugo-flutuação em sacarose concentrada. Montou-se três lâminas e as contagens foram realizadas utilizando-se microscópio em aumento de 400 x. Todos os oocistos presentes nas lâminas foram contados. Após as contagens das três lâminas, calculou-se a média e o desvio padrão. O resultado foi apresentado como o número de oocistos/ 3 ml de solução de fezes em dicromato de potássio.

3.4. DADOS CLIMÁTICOS

Os dados climáticos mensais de precipitação total e temperatura média mensal foram obtidos da estação meteorológica localizada na Fazenda de Ensino e Pesquisa (FEP) da Unesp- campus de Ilha Solteira, localizada no município de Selvíria-MS.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1 e 2 e Figuras 1 e 2 apresentam a distribuição de oocistos de *Eimeria* em bezerros búfalos por faixa etária obtidos através da contagem de OOPG do nascimento até um ano de idade. Nota-se através destes dados que os bezerros búfalos mais jovens, ou seja, nos primeiros dois meses, apresentaram-se esporadicamente parasitados e com apenas uma cruz (+) na intensidade deste parasitismo (50 a 2500 OOPG). Já entre 55 a 212 dias de idade, o número de animais parasitados elevou-se mas novamente predominou a baixa intensidade de parasitismo (+), apesar de alguns apresentarem-se moderadamente e outros intensamente parasitados (++ e +++), ou seja, OOPG maior que 2550. A faixa etária em que maior número de bezerros búfalos encontravam-se parasitados, no entanto, compreendeu a de 218 a 307 dias (ano 2000) e 188 a 322 dias (ano 2001), quando predominou o parasitismo por apenas uma cruz (+). Porém cabe ressaltar aqui, que somente alguns animais apresentaram parasitismo com contagem de OOPG superior a 5000, sendo a espécie *E. cylindrica* predominante neste período considerada não patogênica, não causando manifestações clínicas ou subclínicas.

Os resultados de OOPG obtidos no presente estudo demonstraram também que os bezerros começavam a eliminar oocistos nas fezes (período pré-patente) dos seis aos 29 dias de idade (Tabelas 1 e 2 e Figuras 1 e 2). BARBOSA et al. (1992) mencionaram a possibilidade de que em búfalos os coccídios tenham comportamento semelhante ao que

apresentam em bovinos e nestes, a maioria das espécies tem período pré-patente de duas a três semanas. Se assim for, os bezerros búfalos podem infectar-se logo após o nascimento, possivelmente durante a amamentação, ingerindo oocistos aderidos ao úbere das vacas.

Já as Tabelas 3 e 4 e Figuras 3 e 4 mostram a distribuição de bezerros búfalos positivos de acordo com a data de realização do exame, demonstrando um maior grau de parasitismo entre os meses de setembro e janeiro (período chuvoso). Como os nascimentos dos bezerros búfalos concentram-se nos meses de janeiro a abril, esse maior número de animais parasitados coincidiu com a época que os animais estavam aproximadamente com as idades de 7 a 12 meses e apresentavam as maiores contagens de oocistos nas fezes (Tabelas 1 e 2 e Figuras 1 e 2). No período de setembro a novembro de 2000 (Tabela 3 e Figura 3) 11,1 a 58,8% dos bezerros encontravam-se infectados na intensidade de apenas uma cruz (+); 0 a 22,2% na intensidade de duas cruzes (++) e 0 a 5,88% de três cruzes (+++). No mesmo período do ano de 2001, estes índices parasitários elevaram-se, ou seja, variaram de 55,5 a 100% (+); 0 a 11,1% (++) e 0 a 16,7% (+++) (Tabela 4 e Figura 4). Neste período do ano, todas as espécies de *Eimeria* identificadas estavam presentes nos animais, mas com maior predominância de *E. brasiliensis*.

Os dados das figuras 5 e 6 comprovam a influência da estação chuvosa na epidemiologia da coccidiose como observaram HASBULLAH et al. (1990) e ROSSANIGO (1997). No entanto, outros autores demonstraram um aumento do parasitismo por espécies de *Eimeria* durante os períodos de estiagem, possivelmente devido a uma maior concentração dos animais em áreas menores em um período onde ocorre escassez e queda na qualidade do alimento, favorecendo a uma queda na imunidade dos animais (BAHIRATHAN et al. 1995). Sanidade, clima e manejo são possíveis fatores que influenciam a infecção por coccídios segundo afirmaram HAYAT et al. (1994). Devido o ano de 2000 ter sido atípico no que se refere ao regime de chuvas, onde os meses

de setembro e outubro apresentaram baixos índices pluviométricos, fato este incomum para a região em que se desenvolveu o experimento, podendo ter sido a causa do baixo índice parasitário dos animais no período analisado. Desta forma, decidiu-se repetir os exames coprológicos de um novo grupo de bezerros búfalos nascidos no ano de 2001, porém este ano também apresentou a ocorrência de estiagem nos meses de setembro e outubro o que levou ambos os anos do experimento a apresentarem curvas de precipitação bastante semelhantes (Figuras 5 e 6). Todos os animais nascidos no ano de 2000 e 2001 apresentaram a mesma curva de flutuação parasitária,. Observa-se que no ano de 2000, os animais encontraram-se parasitados de 0 a 70,6%; 0 a 22,2% e 0 a 12,5% apresentando a intensidade parasitária de +, ++ e +++, respectivamente. Já no ano de 2001, 0 a 100%; 0 a 11,1% e 0 a 16,7% dos animais encontravam-se parasitados de +, ++ e +++, respectivamente (Tabelas 3 e 4 e Figuras 3 e 4).

Todos os animais adultos examinados (fêmeas mães dos bezerros) encontravam-se negativos para *Eimeria* spp. nas quatro colheitas fecais realizadas nos anos de 2000 e 2001.

Tabela 1: Números e percentgens (%) de bezerros búfalos nascidos no ano de 2000 positivos para *Eimeria* spp. relacionados com a faixa etária e o OOPG no primeiro ano de vida (n = 18).

Idade (dias)	Número de bezerros búfalos positivos para <i>Eimeria</i> spp.					
	+	%	++	%	+++	%
1-7	0	0	0	0	0	0
8-14	0	0	0	0	0	0
15-21	0	0	0	0	0	0
22-29	1	5,55	0	0	0	0
30-38	0	0	0	0	0	0
39-46	1	5,55	0	0	0	0
47-54	0	0	0	0	0	0
55-63	3	16,67	0	0	2	11,11
64-72	0	0	0	0	0	0
73-80	2	11,11	0	0	0	0
81-88	2	11,11	0	0	0	0
89-96	2	11,11	0	0	0	0
97-103	3	16,67	0	0	0	0
104-111	1	5,55	0	0	0	0
112-126	0	0	0	0	1	5,55
127-141	4	22,22	1	5,55	0	0
142-156	3	16,67	1	5,55	0	0
157-172	8	44,44	0	0	0	0
173-187	3	16,67	1	5,55	0	0
188-202	2	11,11	0	0	0	0
203-217	5	27,78	2	11,11	0	0
218-232	10	55,55	1	5,55	2	11,11
233-247	6	33,33	0	0	0	0
248-262	11	61,11	0	0	0	0
263-277	11	61,11	0	0	0	0
278-292	12	66,67	0	0	0	0
293-307	9	50,00	0	0	0	0
308-322	6	33,33	0	0	0	0
323-337	7	38,89	0	0	0	0
338-352	5	27,78	0	0	0	0
353-367	5	27,78	0	0	0	0

+ = 50 a 2500 OOPG

++ = 2550 a 5000 OOPG

+++ = > 5000 OOPG

n = número de animais examinados

Tabela 2: Números e percentagens (%) de bezerros búfalos nascidos no ano de 2001 positivos para *Eimeria* spp. relacionados com a faixa etária e o OOPG no primeiro ano de vida (n = 18).

Idade (dias)	Número de bezerros búfalos positivos para <i>Eimeria</i> spp.					
	+	%	++	%	+++	%
1-7	2	11,11	0	0	0	0
8-14	0	0	0	0	0	0
15-21	0	0	0	0	1	5,55
22-29	0	0	0	0	2	11,11
30-38	1	5,55	1	5,55	3	16,67
39-46	0	0	0	0	0	0
47-54	2	11,11	0	0	0	0
55-63	3	16,67	0	0	0	0
64-72	3	16,67	0	0	1	5,55
73-80	3	16,67	0	0	0	0
81-88	3	16,67	2	11,11	0	0
89-103	8	44,44	0	0	1	5,55
104-111	4	22,22	1	5,55	0	0
112-126	1	5,55	0	0	0	0
127-141	1	5,55	0	0	0	0
142-156	2	11,11	0	0	3	16,67
157-172	5	27,77	0	0	0	0
173-187	7	38,88	1	5,55	0	0
188-202	10	55,55	1	5,55	3	16,67
203-217	11	61,11	1	5,55	0	0
218-232	14	77,77	1	5,55	0	0
233-247	9	50,00	1	5,55	0	0
248-262	16	88,88	0	0	0	0
263-277	13	72,22	0	0	0	0
278-292	11	61,11	0	0	0	0
293-307	14	77,77	0	0	0	0
308-322	12	66,66	0	0	0	0
323-337	9	50,00	0	0	0	0
338-352	7	38,88	0	0	0	0

+ = 50 a 2500 OOPG

++ = 2550 a 5000 OOPG

+++ = > 5000 OOPG

n = número de animais examinados

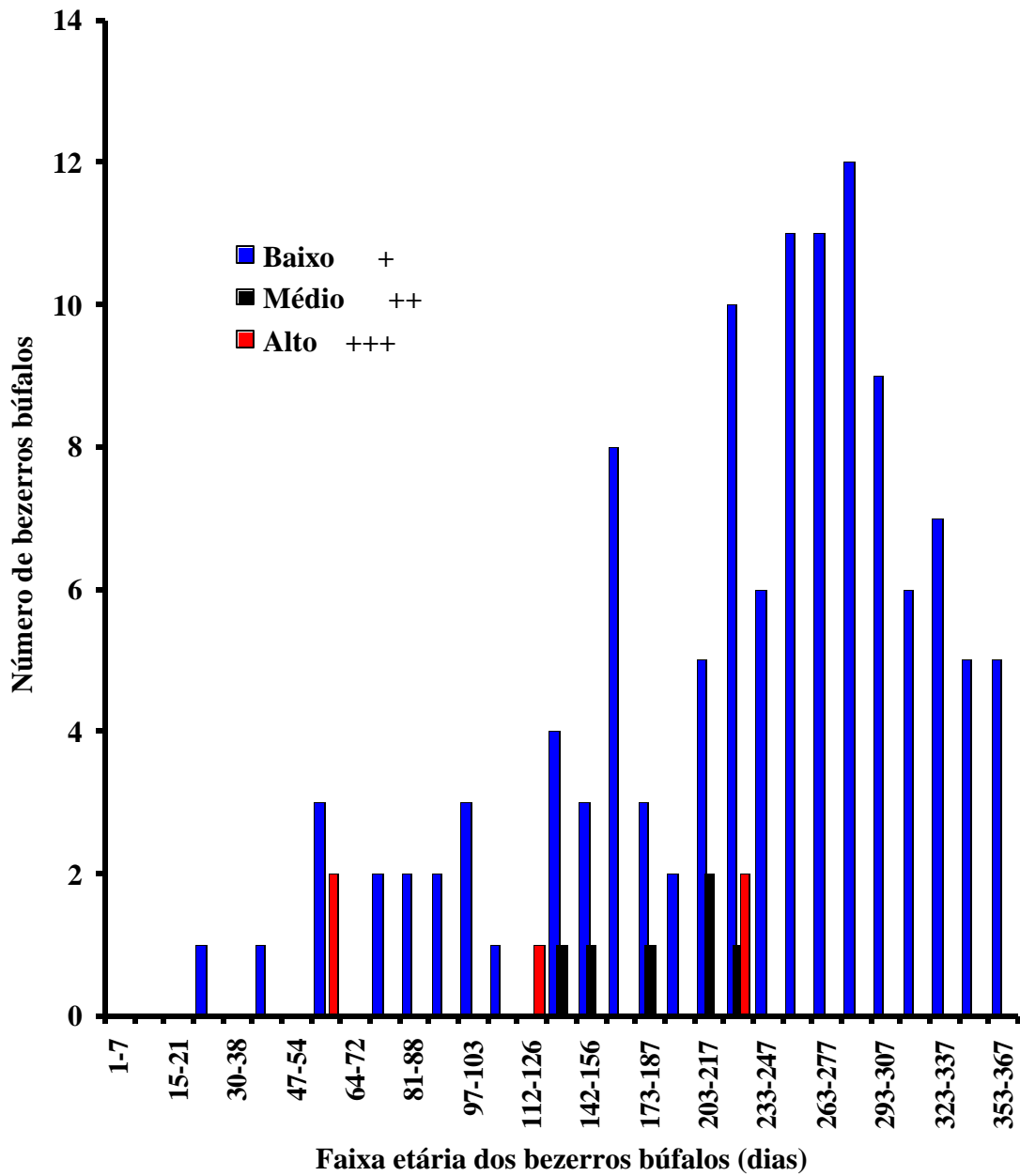


Figura 1: Número de bezerros búfalos positivos para *Eimeria* spp. durante o ano de 2000 de acordo com a faixa etária e o grau de parasitismo classificado de + a +++ de acordo com o OOPG.

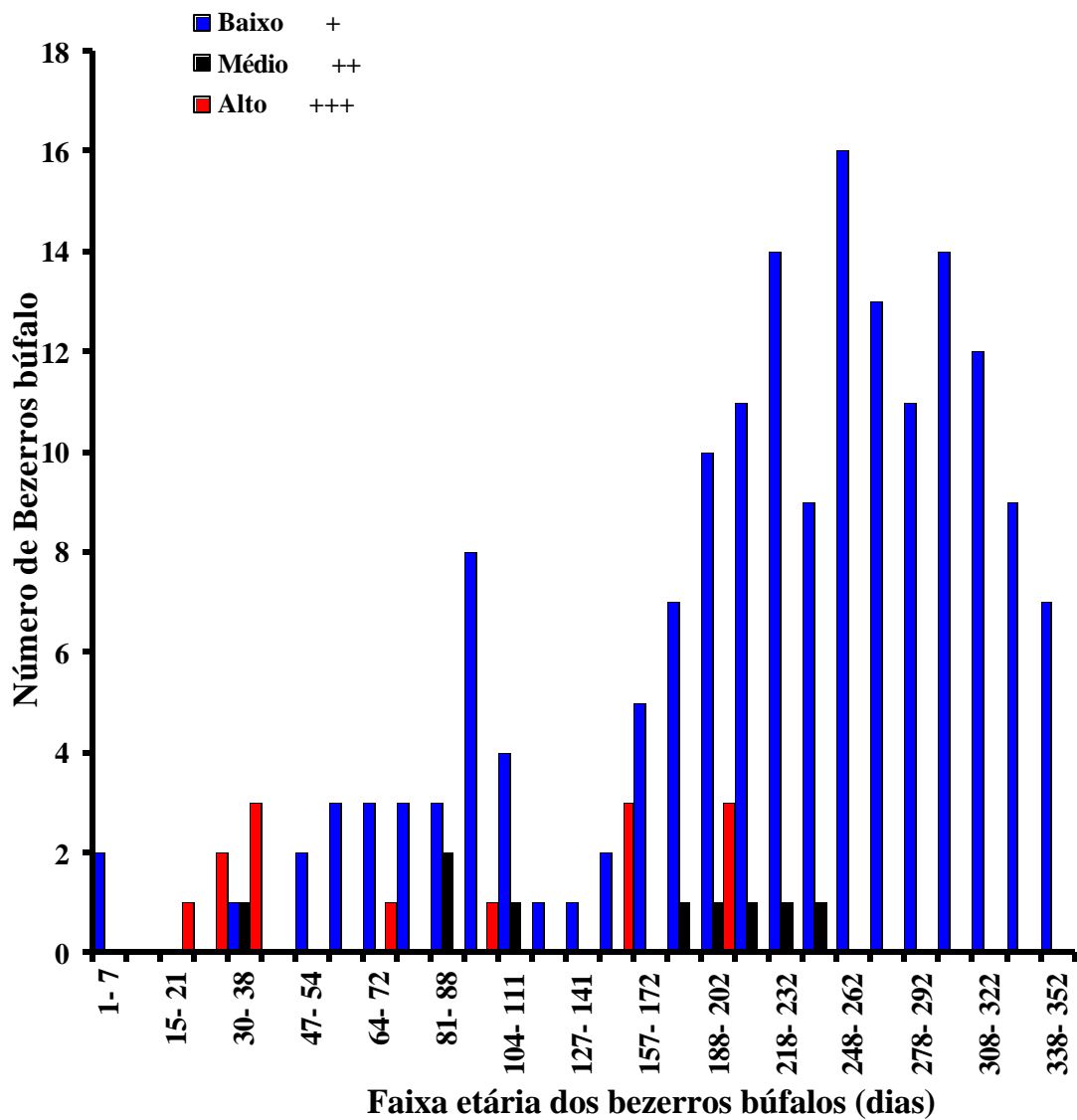


Figura 2: Número de bezerros búfalos positivos para *Eimeria* spp. durante o ano de 2001 de acordo com a faixa etária e o grau de parasitismo classificado de + a +++ de acordo com o OOPG.

Tabela 3: Números e percentagens (%) de bezerros búfalos positivos para *Eimeria* spp. distribuídos de acordo com a data de colheita e o OOPG durante o primeiro ano do experimento (ano 2000).

Data colheita	Número de Bezerros Positivos para <i>Eimeria</i> spp.							
	d	+	%	++	%	+++	%	n
14/03/00		0	0	0	0	0	0	14
21/03/00		0	0	0	0	0	0	17
29/03/00		2	22,22	0	0	0	0	9
04/04/00		0	0	0	0	0	0	15
12/04/00		0	0	0	0	0	0	17
20/04/00		2	16,67	0	0	0	0	12
28/04/00		1	7,14	0	0	0	0	14
04/05/00		4	26,67	0	0	0	0	15
11/05/00		0	0	0	0	0	0	16
19/05/00		0	0	0	0	2	12,5	16
24/05/00		4	28,57	0	0	0	0	14
09/06/00		1	6,25	0	0	0	0	16
21/06/00		1	5,88	0	0	0	0	17
04/07/00		3	16,67	1	5,55	0	0	18
21/07/00		5	33,33	2	13,33	1	6,66	15
04/08/00		3	16,67	1	5,55	0	0	18
17/08/00		5	31,25	2	12,5	0	0	16
15/09/00		8	44,44	4	22,22	1	5,55	18
29/09/00		10	58,82	0	0	1	5,88	17
17/10/00		8	44,44	0	0	0	0	18
27/10/00		10	55,55	0	0	0	0	18
10/11/00		12	70,58	0	0	0	0	17
24/11/00		11	64,70	0	0	0	0	17
08/12/00		2	11,11	0	0	0	0	18
22/12/00		8	44,44	1	5,55	0	0	18
05/01/01		10	55,55	0	0	0	0	18
18/01/01		2	11,11	0	0	0	0	18
01/02/01		5	27,77	0	0	0	0	18
15/02/01		0	0	0	0	0	0	18

n = número de animais examinados

Tabela 4: Números e percentagens (%) de bezerros búfalos positivos para *Eimeria* spp.

distribuídos de acordo com a data de coleta e o OOPG durante o segundo ano do experimento (ano 2001).

Data colheita	d	Número de Bezerros Positivos para <i>Eimeria</i> spp.						N
		+	%	++	%	+++	%	
22/02/01		0	0	0	0	0	0	15
02/03/01		1	6,25	0	0	0	0	16
08/03/01		0	0	0	0	3	16,67	18
15/03/01		2	11,11	0	0	1	5,55	18
22/03/01		0	0	0	0	0	0	18
29/03/01		0	0	0	0	0	0	18
05/04/01		1	5,55	0	0	2	11,11	18
12/04/01		5	29,41	2	11,76	0	0	17
18/04/01		0	0	0	0	0	0	16
26/04/01		3	16,67	0	0	1	11,11	18
03/05/01		3	16,67	0	0	0	0	18
09/05/01		5	27,77	0	0	0	0	18
22/05/01		5	29,41	1	5,88	1	5,88	17
06/07/01		2	11,11	0	0	1	5,55	18
25/07/01		5	27,77	1	5,55	0	0	18
01/08/01		2	11,11	1	5,55	0	0	18
15/08/01		5	27,77	0	0	1	5,55	18
29/08/01		10	55,55	0	0	2	11,11	18
12/09/01		10	55,55	2	11,11	3	16,67	18
26/09/01		11	61,11	0	0	0	0	18
10/10/01		16	88,88	0	0	0	0	18
25/10/01		14	77,77	0	0	0	0	18
08/11/01		14	77,77	0	0	0	0	18
20/11/01		13	72,22	0	0	0	0	18
06/12/01		13	72,22	0	0	0	0	18
19/12/01		14	77,77	0	0	0	0	18
04/01/02		14	87,5	0	0	0	0	16
16/01/02		18	100	0	0	0	0	18
31/01/02		14	77,77	0	0	0	0	18
14/02/02		6	33,33	0	0	0	0	18

n = número de animais examinados

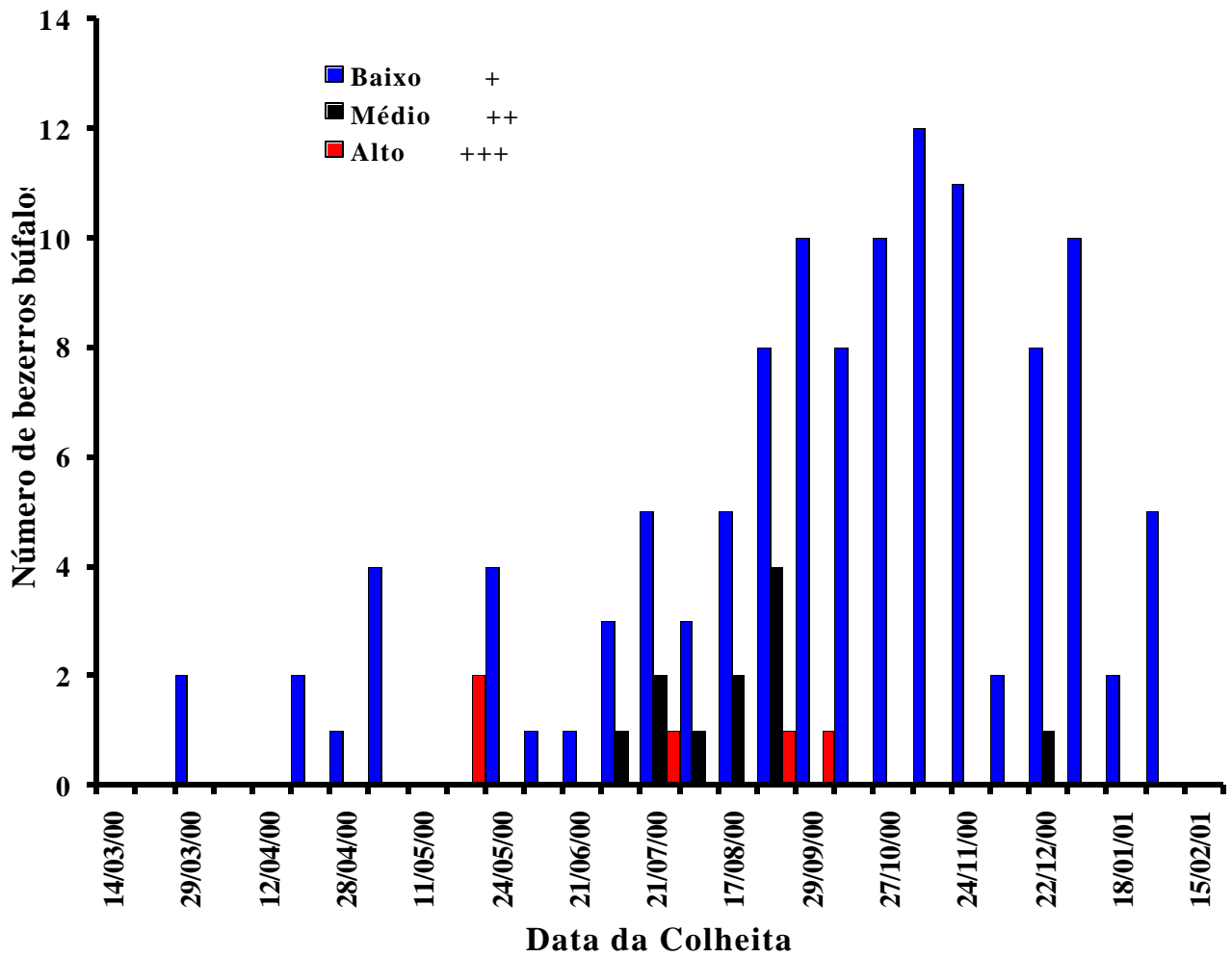


Figura 3: Número de bezerros búfalos positivos para *Eimeria* spp. durante ano de 2000, de acordo com a data de colheita e o grau de parasitismo classificado de + a +++ de acordo com o OOPG.

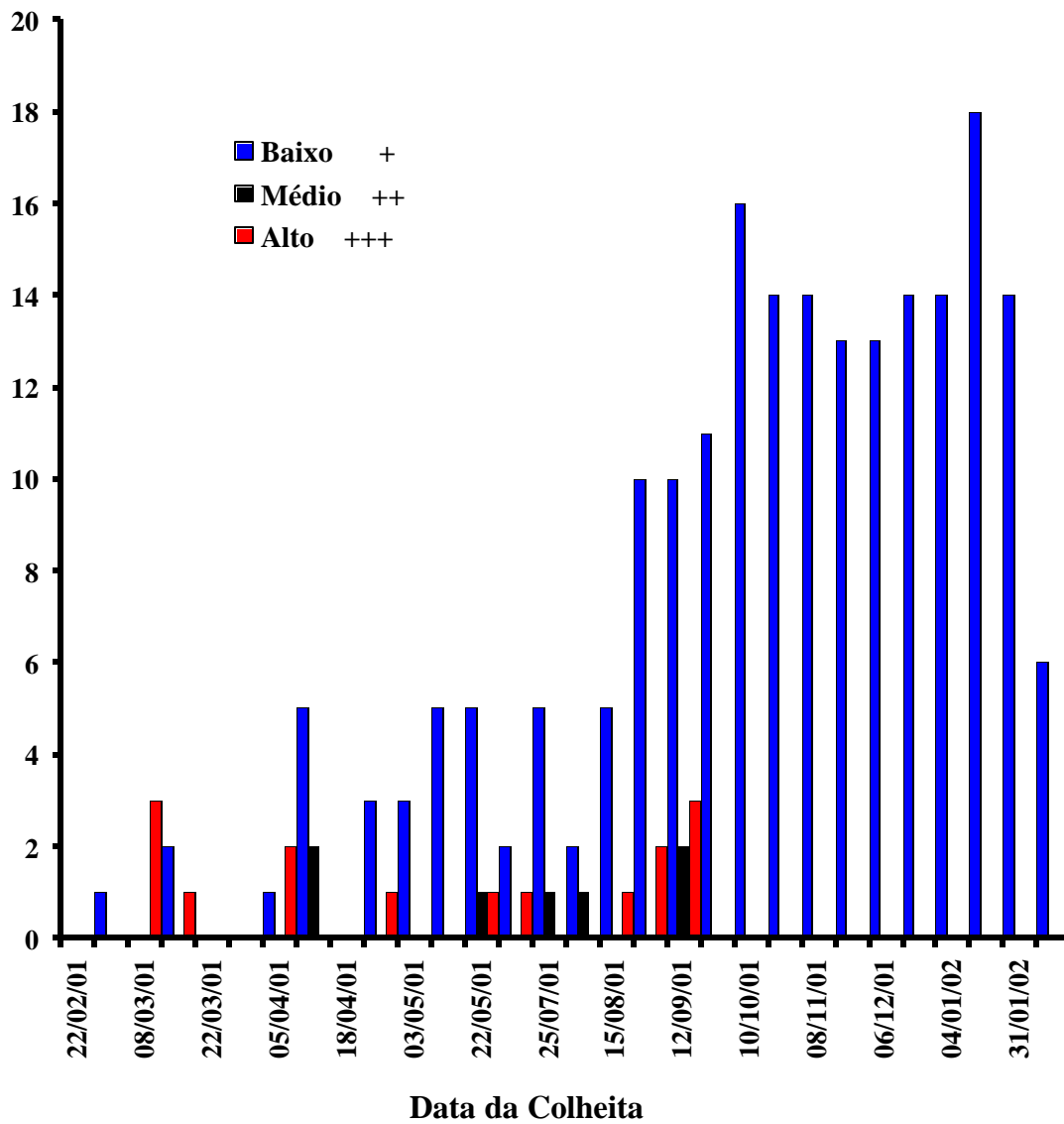


Figura 4: Número de bezerros búfalos positivos para *Eimeria* spp. durante o ano de 2001 de acordo com a data da colheita e o grau de parasitismo classificado de + a +++ de acordo com o OOPG.

Observando-se as curvas dos números dos bezerros búfalos positivos em relação a precipitação e a temperatura dos dois anos consecutivos em que foi realizado o estudo, nota-se que ocorreu um padrão nesta distribuição; com um aumento durante os meses de abril e maio nos dois anos do trabalho, seguido de uma queda durante o período seco (junho e julho) e uma outra ascensão do parasitismo nos meses de setembro e outubro (Figuras 5 e 6). Esse padrão repetiu-se durante o segundo ano do experimento, onde ocorreu uma estiagem bastante pronunciada e os animais, devido a escassez de forragem, tiveram que ser mantidos por um longo período em um pasto vedado utilizada como reserva de alimento para o inverno. Isto proporcionou uma maior concentração de animais por área o que justificou o aumento do número de animais positivos durante os meses de setembro e outubro. Além disso, os animais apresentaram-se menos resistentes aos parasitas após o inverno, devido à restrição da oferta de alimento e da diminuição na qualidade desse alimento. É interessante observar que nos animais adultos não foi observada a eliminação de oocistos nas fezes em nenhuma das colheitas realizadas. Provavelmente, esta baixa prevalência foi devido a imunidade adquirida pelos animais quando da infecção durante o primeiro ano de vida. Mesmo nos animais jovens, as contagens de OOPG foram baixas não caracterizando níveis de parasitismo considerados causadores de coccidiose clínica, pois não se observou nos bezerros sintomatologia clínica característica do parasitismo por eimerídeos e os animais cresceram e desenvolveram-se normalmente. HASBULLAH et al. (1990) estudando o parasitismo por coccídios do gênero *Eimeria* em bezerros no Japão relataram que houve maior índice quando os animais encontravam-se estabulados (inverno) do que quando em pastejo. Este relato coincidiu com o de KPAHRA & SINGH (1986) que constataram que a incidência de coccidiose em bezerros búfalos era maior (81,3 %) no inverno e menor (43,3%) no verão e intermediária (71,3%) durante a estação chuvosa na Índia.

Neste trabalho, a precipitação mensal máxima foi de 282 mm e de 296 mm em dezembro/ 2000 e em fevereiro/2001, respectivamente e a mínima mensal foi de zero mm em julho de 2000 e de 16,9 mm em agosto de 2001 (Figuras 5 e 6). Através destas figuras, observa-se em ambos os anos analisados, que o maior índice parasitário ocorreu durante o período chuvoso, ou seja de setembro a janeiro para os dois anos analisados. Cabe ressaltar aqui, que no segundo ano (2001) a precipitação pluviométrica foi inferior a do primeiro ano (2000). Embora o número de animais parasitados tenha sido superior no segundo ano, a contagem de OOPG apresentou pequena variação entre os dois grupos.

Esta diminuição na intensidade parasitária durante o período seco do ano pode ser justificado pelo fato de o processo de esporulação requerer disponibilidade de oxigênio, umidade e temperatura adequados. Se os níveis de umidade relativa forem muito baixos, a esporulação dos oocistos no ambiente até atingir o estágio infectante, poderá ser prejudicada (LIMA, 1980).

As temperaturas médias mensais da região no período estudado não apresentaram grande amplitude de variação (mínima = 19,3° C e máxima = 27,6° C), mas podem ter influenciado na esporulação dos oocistos no ambiente, já que as temperaturas ideais para esporulação dos oocistos ficam no intervalo entre 23 a 30° C. Durante o inverno, com a temperatura média mensal mínima de a 19,3° C e associada com a estiagem e conseqüente diminuição da umidade relativa, característica desse período na região, ou devido a ação sinérgica desses fatores, pode ter contribuído para a inibição da esporulação o que causou a diminuição na quantidade de bezerros eliminando oocistos nesse período. Desta forma, pode-se deduzir que os principais fatores ambientais limitantes ao desenvolvimento dos oocistos ao estágio infectante, nessa região, foram precipitação pluviométrica e temperatura. Essa dedução pode ser confirmada ao se observar que as curvas do número de indivíduos positivos aumentaram acompanhando o aumento nos índices de precipitação

pluviométrica e temperatura e diminuíram nos meses em que a temperatura e a precipitação foram menores (Figuras 5 e 6).

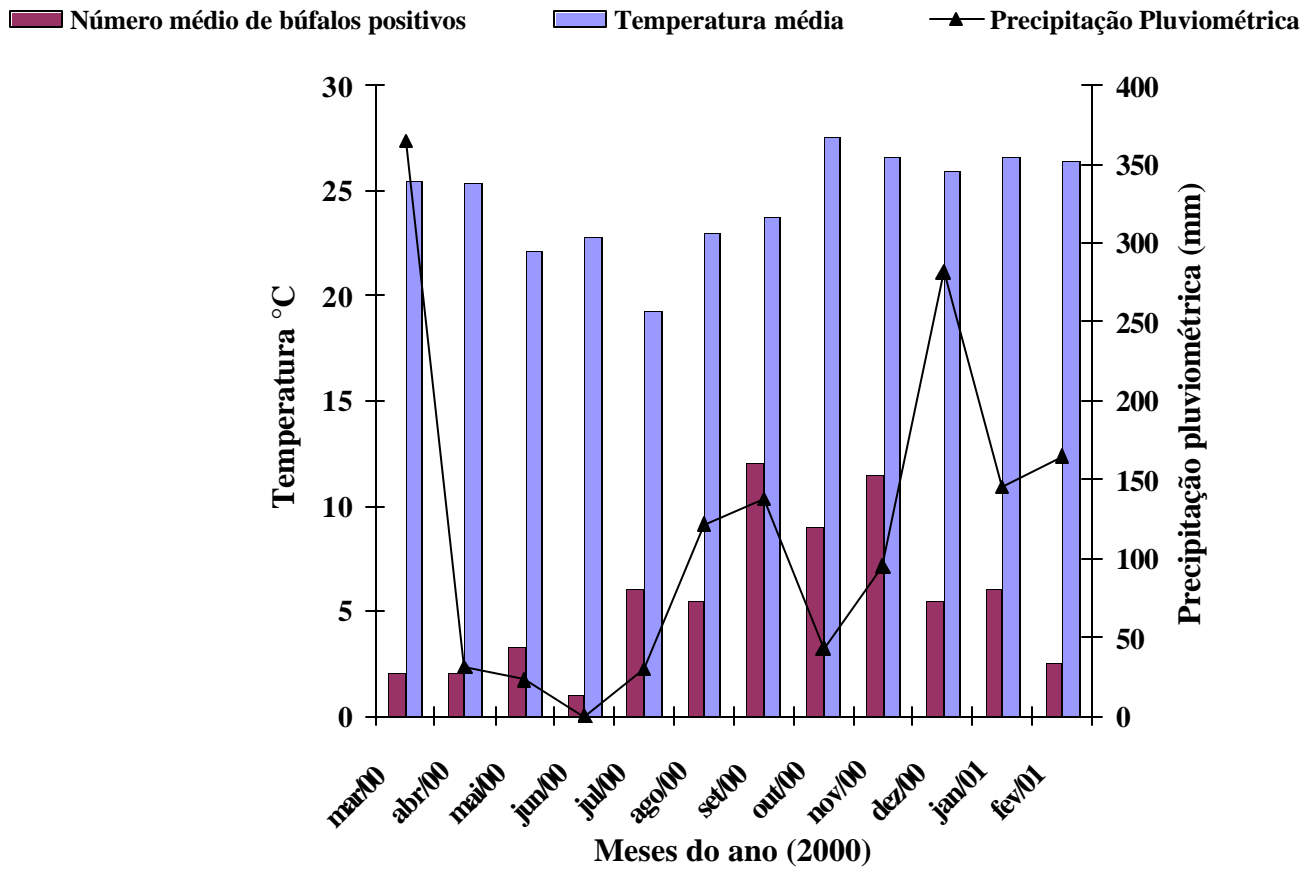


Figura 5: Médias mensais de bezerros búfalos positivos em relação a temperatura média mensal e precipitação pluviométrica no primeiro ano de experimento (2000), no município de Selvíria- MS.

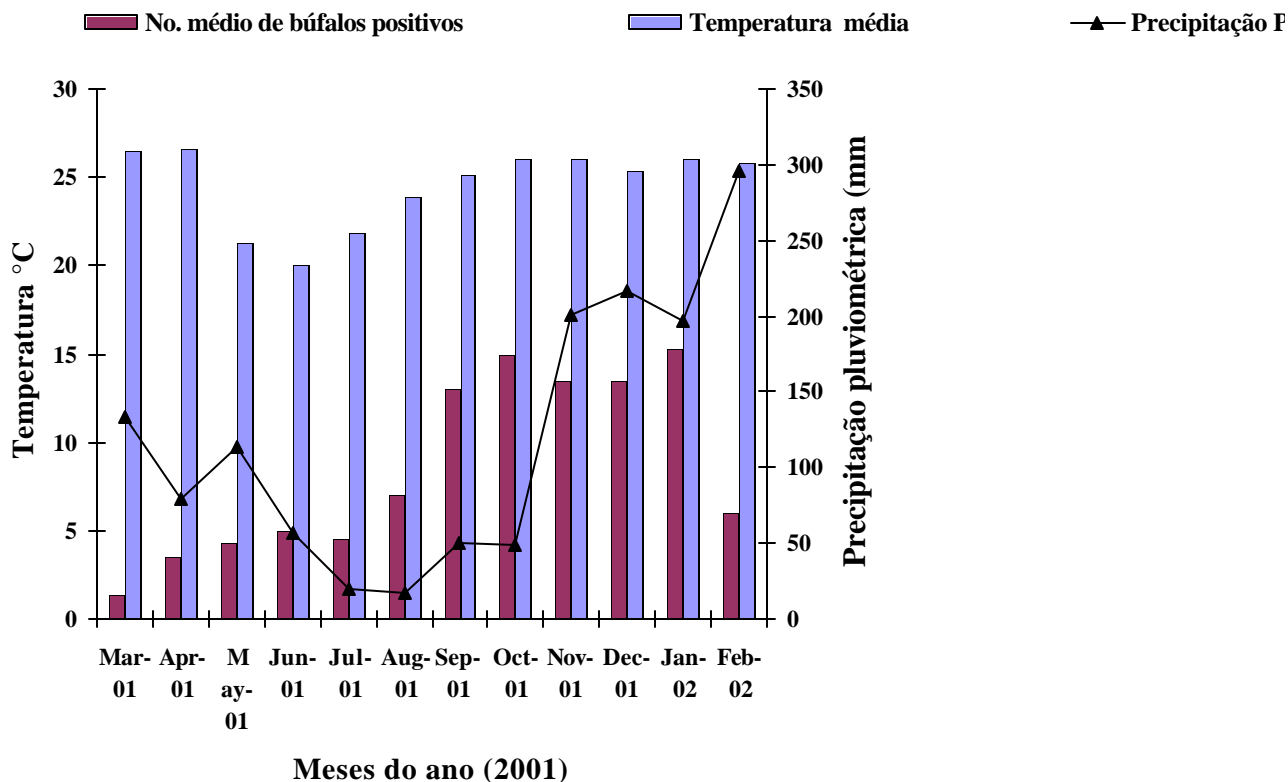


Figura 6: Médias mensais de bezerros búfalos positivos relacionadas com as médias mensais de temperatura e com precipitação pluviométrica durante o segundo ano do experimento (2001), no município de Selvíria-MS.

Pelas características morfomicroométricas dos oocistos esporulados identificou-se as seguintes espécies nos bezerros búfalos: *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. alabamensis*, *E. brasiliensis*, *E. auburnensis* e *E. zuernii*. Essas espécies ocorreram nos bezerros com idade de 6- 214 dias, 14 –111 dias, 27-60 dias, 99-174 dias, 99-228 dias e 208-283 dias, respectivamente (Tabela 5). As espécies prevalentes foram *E. ellipsoidalis* e *E. cylindrica* que predominavam nos animais mais jovens (6 a 133 dias). *E. zuernii*,

considerada patogênica, somente ocorreu em baixo índice parasitário e nos animais mais velhos (208 a 283 dias).

A *E. ellipsoidalis* parasitou os animais principalmente no mês de março, *E. alabamensis* no mês de maio e *E. zuernii* no mês de novembro. BAHIRATHAN et al. (1995) determinaram a prevalência de *Eimeria* spp. em búfalos por idade e identificaram nove espécies: *E. subspherica*, *E. zuernii*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. canadensis*, *E. auburnensis* e *E. ankarensis*. Já REBOUÇAS et al. (1990) identificaram as espécies: *E. zuernii*, *E. bovis*, *E. ellipsoidalis*, *E. cylindrica*, *E. subspherica*, *E. canadensis*, *E. auburnensis* e *E. bukidonensis*, em búfalos no Vale do Ribeira, estado de São Paulo, Brasil. Aproximando-se mais dos resultados da presente pesquisa SANYAL et al. (1985) por outro lado, identificaram em búfalos na Índia as espécies *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. subspherica*, *E. ellipsoidalis*, *E. zuernii*, *E. cylindrica*, *E. wyomingensis*, *E. alabamensis*, *E. canadensis* e *E. auburnensis*. Pesquisando coccídios parasitas de búfalos na Iugoslávia, PAVLOVIC (1975) registrou as espécies *E. subspherica*, *E. zuernii*, *E. ellipsoidalis*, *E. cylindrica*, *E. bovis*, *E. auburnensis* e *E. bukidonensis*. LÁU (1982) identificou as espécies *E. zuernii*, *E. subspherica*, *E. auburnensis* e *E. ellipsoidalis* em búfalos no estado do Pará. Segundo BLOOD & RADOSTITS, 1991 *E. zuernii*, *E. bovis* e *E. ellipsoidalis* são as espécies consideradas patogênicas para bovinos, e os búfalos da presente pesquisa, encontravam-se parasitados por duas destas: *E. ellipsoidalis* nos mais jovens (6 a 111 dias) e *E. zuernii* nos mais velhos (208 a 283 dias).

As espécies de eimerídeos diagnosticadas nos bezerros nascidos no ano de 2000 do rebanho da FEP- Fazenda de Ensino e Pesquisa, foram as mesmas identificadas nos bezerros nascidos no ano de 2001, observando-se também um padrão comum na

quantidade de bezerros positivos tanto em relação à idade dos animais quanto em relação ao período do ano.

Em um rebanho de búfalos da Fazenda Santo Antônio localizada no município de Nova Andradina- MS, identificou-se somente as seguintes espécies de eimerídeos : *E. zuernii*, *E. ellipsoidalis* e *E. brasiliensis*.

Algumas espécies, se não a maioria, de eimerídeos que parasitam búfalos também parasitam bovinos. Dentre estas espécies, destacam-se as seguintes: *E. zuernii*, *E. bovis*, *E. canadensis*, *E. ellipsoidalis*, *E. bukidonensis*, *E. auburnensis* e *E. brasiliensis* parasitando naturalmente bovinos leiteiros no município de Marquês de Valença- RJ (FIGUEIREDO et al. 1985) *E. bovis*, *E. ellipsoidalis*, *E. zuernii*, *E. bukidonensis*, *E. canadensis*, *E. wyomingensis*, *E. auburnensis*, *E. cylindrica* e *E. subspherica* em Queensland, Austrália. (PARKER & JONES 1987). Já na Índia, KPAHRA & SINGH (1986) identificaram *E. auburnensis*, *E. zuernii*, *E. bovis*, *E. cylindrica*, *E. canadensis*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. bareillyi* e *E. bukidonensis*.

Com relação ao estudo morfométrico das espécies de *Eimeria* spp. identificadas, constatou-se as seguintes características: A *Eimeria ellipsoidalis* Becker e Frye, 1929 (Figura 8) apresentou oocisto elipsoidal ou muito pouco ovóide. A parede do oocisto apresentou-se fina (cerca de 0,8 μm), com ausência de micrópila, mas com parede menos espessa em uma das extremidades. As medidas dos oocistos variaram de 18-26 μm (diâmetro maior) por 13-18 μm (diâmetro menor) com média de 21 por 15 μm e não apresentavam corpo residual. Os esporocistos apresentavam 11-16 μm (diâmetro maior) por 5-6 μm (diâmetro menor) com média de 12 por 5 μm com presença de resíduo no esporocisto (Tabela 6). Os esporozoítos eram alongados, com um glóbulo na parte mais larga e um próximo ao meio. *E. ellipsoidalis* pode causar diarreia não sanguinolenta em

bezerros de 1 a 3 meses de idade (SOULSBY, 1968); e é uma espécie comum em bovinos e bubalinos.

A *Eimeria zuernii* (Rivolta, 1878) Martin, 1909 (Figura 7) apresentou oocistos subsférico ou ovóide e não apresentou micrópila. Os oocistos mediram 15- 29 μm (diâmetro maior) por 12- 20 μm (diâmetro menor) com médias de 20 por 15 μm , e não apresentaram resíduo de oocisto. Os esporocistos eram alongados e ovóides, com 7-10 μm (diâmetro maior) por 4-7 μm (diâmetro menor) com média de 9 por 5 μm (Tabela 6). *E. zuernii* é considerada a espécie mais patogênica para bovinos e em infecções agudas causa diarreia sanguinolenta (LEVINE & IVENS, 1970).

A *Eimeria auburnensis* Christensen and Porter, 1939 (Figura 7) apresentou oocistos alongados e ovóides e com presença de micrópila. Os oocistos apresentaram 32-46 μm (diâmetro maior) por 19-28 μm (diâmetro menor) com médias de 35 por 22 μm . Os esporocistos apresentaram 16- 23 μm (diâmetro maior) por 7-11 μm (diâmetro menor) com médias de 17 por 10 μm (Tabela 6) e possuíam micrópila presente. Os esporocistos apresentaram 16-22 μm (diâmetro maior) por 8-12 μm (diâmetro menor) com médias de 17 por 10 μm . (Tabela 6).

A *Eimeria brasiliensis* Torres e Ramos 1939 (Figura 7) apresentou oocisto elipsoidal variando de 31- 44 μm (diâmetro maior) por 20- 29 μm (diâmetro menor) com uma média de 39 por 27 μm e apresentavam micrópila. Os esporocistos apresentaram 16-22 μm (diâmetro maior) por 8-12 μm (diâmetro menor) e médias de 17 por 10 μm . Havia presença de grânulo polar e o oocisto era amarelado (Tabela 6).

A *Eimeria cylindrica* Wilson 1931 (Figura 7) apresentou oocisto alongado e elipsoidal, com parede do oocisto fina (1,2 a 0,7 μm de espessura) e a micrópila inaparente. Os oocistos tinham 16-30 μm (diâmetro maior) por 12-17 μm (diâmetro menor) com

médias de 20 por 15 μm . Esta espécie apresentou presença de grânulo polar dividido em muitos fragmentos pequenos. Os esporocistos tinham de 9-13 μm (diâmetro maior) por 4-6 μm (diâmetro menor) com médias de 10 por 5 μm (Tabela 6) e eram alongados e ovóides e com um pequeno corpo de Stieda (características da espécie quando parasitando búfalos, segundo LEVINE & IVENS, 1970).

A *Eimeria alabamensis* Christensen, 1941 (Figura 7) apresentou oocisto ovóide, com ausência de micrópila e tamanho variando entre 13- 25 μm (diâmetro maior) por 11- 17 μm (diâmetro menor) . Os esporocistos eram alongados, sem resíduo de esporocisto e variando de 8- 11 μm (diâmetro maior) por 5- 6 μm (diâmetro menor) com médias de 9 por 5 μm (Tabela 6). De acordo com LEVINE & IVENS (1970), esta espécie localiza-se primariamente no intestino delgado, mas também no ceco e cólon em infecções severas mas é essencialmente não patogênica em condições de campo.

Tabela 5. Número médio de oocistos por espécie de *Eimeria* de acordo com a idade dos bezerros búfalos.

QUANTIDADE DE OOCISTOS ENCONTRADOS *							
Número do Bezerro	Idade (dias)	<i>E. zuernii</i> média±DP	<i>E. ellipsoidalis</i> média±DP	<i>E. auburnensis</i> média±DP	<i>E. brasiliensis</i> média±DP	<i>E. cylindrica</i> média±DP	<i>E. alabamensis</i> média±DP
285	6					2699,6±130,3	
281	14		563,0±85,8			2699,6±130,3	
286	26		319,0±33,0				
285	27						496,3±58,7
287	54		395,0±78,2				
265	60					1418,1±136,8	
288	60						76,0±11,5
264	61					1418,1±136,8	
257	94		120,6±7,8			95,6±15,9	
255	99		13,0± 2,0	25,0± 11,8	1,0		
253	100		120,6±7,8	162,3±18,6		95,6±15,9	
249	111		13,0± 2,0	25,0± 11,8	1,0		

282	133				492,6±72,6
283	147			385,0±38,0	
253	172			88,3±17,7	
252	174			88,3±17,7	
257	208	14,0±1,5			
255	212	14,0±1,5			
250	214				1269,3±110,6
247	228	50,6±7,1	1,6±1,1		
253	283	1,6±1,5			

*Oocistos/ 3 ml de material fecal

DP= Desvio Padrão da média

Tabela 6: Medidas dos oocistos e esporocistos das espécies de *Eimeria* identificadas nas fezes de bezerro búfalos.

	Medidas (mm)*					
	<i>E. zuernii</i>	<i>E. ellipsoidalis</i>	<i>E. auburnensis</i>	<i>E. brasiliensis</i>	<i>E. cylindrica</i>	<i>E. alabamensis</i>
<u>OOCISTO</u>						
DIÂMETRO MAIOR						
Varição	15-29	18-26	32-46	31-44	16-30	13-25
Média ± DP	20±0,5	21±0,2	35±0,4	39±0,3	20±0,4	19±0,4
Diâmetro Menor						
Varição	12-20	13-18	19-28	20- 29	12-17	11-17
Média ± DP	15±0,2	15±0,1	22±0,3	27±0,2	15±0,1	14±0,2
Índice Morfométrico	1,35	1,33	1,60	1,44	1,40	1,35
<u>ESPOROCISTO</u>						
Diâmetro Maior						
Varição	7-10	11-16	16-23	16-22	9-13	8-11
Média ± DP	9±0,1	12±0,1	17±0,2	17±0,19	10±0,1	9±0,1
Diâmetro Menor						
Varição	4-7	5-6	7-11	8-12	4-6	5-6
Média ± DP	5±0,1	5±0,05	10±0,2	10±0,1	5±0,06	5±0,05

DP = Desvio padrão da média

*Número de oocistos medidos por espécie= 100

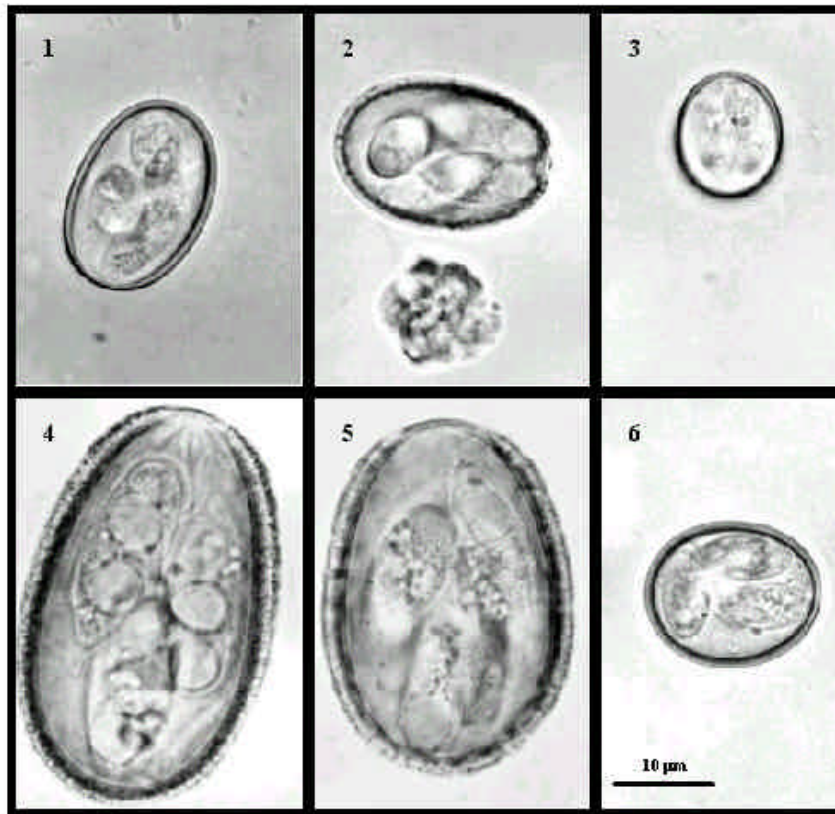


Figura 7: Fotomicrografias de oocistos esporulados de *Eimeria alabamensis* (1), *E. zuernii* (2), *E. cylindrica* (3), *E. brasiliensis* (4), *E. auburnensis* (5) e *E. ellipsoidal* (6) de bezerros búfalos. Aumento 100x

5. CONCLUSÕES

Os bezerros búfalos do município de Selvíria – MS apresentaram-se parasitados por *Eimeria* spp. representadas pelas seguintes espécies: *E. zuernii*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. brasiliensis*, *E. alabamensis* e *E. auburnensis*, e os bezerros búfalos do município de Nova Andradina- MS, pelas seguintes espécies *E. zuernii*, *E. ellipsoidalis* e *E. brasiliensis*.

O parasitismo sofreu influência dos fatores climáticos temperatura e precipitação, com um aumento no número de animais nos meses de abril e maio nos dois anos do trabalho, seguido de uma queda durante o período seco (junho e julho) e uma outra ascensão nos meses de setembro e outubro. Observou-se em ambos os anos analisados, que o maior índice parasitário ocorreu durante o período chuvoso, ou seja de setembro a janeiro nos dois anos (2000 e 2001) em que se desenvolveu o experimento.

A idade influenciou o parasitismo, e os bezerros mais velhos apresentaram-se menos intensamente parasitados dos que os bezerros mais novos, ocorrendo também uma diferença entre as espécies do parasita de acordo com a faixa etária dos hospedeiros.

As espécies aqui prevalentes foram *E. ellipsoidalis* e *E. cylindrica* que predominavam nos animais mais jovens (6 a 133 dias). *E. zuernii*, considerada patogênica, somente ocorreu em baixo índice parasitário e nos animais mais velhos (208 a 283 dias).

Os animais adultos não eliminaram oocistos nas fezes em nenhuma época do ano, e mesmo entre os bezerros infectados não houve manifestação de sintomatologia clínica característica de coccidiose.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAHIRATHAN, M.; WEILGAMA, D. J.; WIJESUNDERA, M. K. S. et al. Prevalence and abundance of emerial oocysts in buffalo calves on a farm in Sri Lanka. **Buffalo**

Journal , Bangkok v.11, p. 183-191, 1995.

BARBOSA, M. A.; BLASI, A. C.; OLIVEIRA, M. R. et al. Parasitismo natural de bufalinos em Botucatu, SP, Brasil- III. Dinâmica do parasitismo gastrointestinal em vacas e suas crias. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, suppl. I, p. 37-41, 1992.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 1263p.

DUSZYNSKI, D. W.; CONDER, G. A. External factors and self-regulating mechanisms which may influence the sporulation of oocysts of the rat coccidium, *Eimeria nieschulzi*. **International Journal of Parasitology**, v. 7; p. 83-88, 1977.

DUSZYNSKI, D. W.; UPTON, S. J.; COUCH, L. **The Coccidia of the World – NSF-PEET Program**, 1999. <<http://biology.unm.edu/biology/coccidia/home.html> >

<<http://www.unm.edu/~eimeria/>>

DUSZYNSKI, D. W.; WILBER, P. G. A guideline for the preparation of species descriptions in the eimeriidae. **Journal Parasitology**, Glasgow v. 83;n. 2, p. 333-336, 1997.

FAYER, R. Epidemiology of protozoan infection: the coccidia. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam; v. 6;p. 75-103, 1980.

FIGUEIREDO, P. C., FREIRE, N. M. S. e GRISI, L. Variação da parasitose por eimérias em bovinos Holando- Zebu de acordo com a faixa de idade dos hospedeiros. **Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, v. 25, p. 83-88, 1985.

GORDON, H. McL.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Commonwealth Science and Industry Organization**, v. 12; p. 50-2, 1939.

GRIFFITHS, R. B. Parasites and parasitic diseases. In: COCKRILL, W. R. **The husbandry and health of the domestic buffalo**. Rome: FAO, 1974, p. 260- 262.

HASBULLAH; et al. Seasonal distribution of bovine coccidia in beef cattle herd in the University farm. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 52, n. 6; p. 1175-1179, 1990.

HAYAT, C. S.; et al. Prevalence of coccidiosis in cattle and buffaloes with emphasis on age, breed sex, season and management. **Pakistan Veterinary Journal**, Faisalabad v. 14, p. 214- 217, 1994.

ISLER, C. M.; BELLAMY, J. E. C.; WOBESER, G.A. Pathogenesis of neurological signs associated with bovine enteric coccidiosis: a prospective study and review **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v.51, p. 261-270, 1987.

KPAHRA, S. S. e SINGH, J. Coccidiosis in buffalo calves and its treatment. **Buffalo Bulletin**, Thailand, v. 5, p. 9-16, 1986.

LAU, H. D. Eimerídeos parasitos de búfalos no Estado do Pará. **Boletim de Pesquisa EMBRAPA-CPATU**, v. 42, p. 1-11, 1982

LAU, H. D. Common buffalo diseases in Amazonian Brazil. **Buffalo Bulletin**, Thailand v. 9, p. 75-77. 1990.

LAU, H. D. **Doenças em búfalos no Brasil**. Brasília: Embrapa-SPI, 1999. 202p.

- LEVINE, N. D.; IVENS, V. **The Coccidian Parasites (Protozoa, Sporozoa) of Ruminants**, Urbana, University of Illinois Press, 1970 p. 3-136.
- LIMA, J. D. Eimeriose dos ruminantes. **Anais dos Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, Fortaleza n. 2, p. 79-97, 1980.
- LONG, P. L.; JOYNER, L. P. Problems in the identification of species of *Eimeria*. **Journal of Protozoology**, United States v. 31, p. 535-541, 1984.
- MOON, H. W. Intestino. In: CHEVILLE, N. F. **Pathologia celular**. Zaragoza: Acribia, 1980 p.377-404
- NIELSEN, K. Pathophysiology of gastrointestinal parasitism. In: METTRICK, D. F., DESSER, S.S. **Parasites-their world and ours**. Toronto: Elsevier, 1982 p.248-51.
- PARKER, R. J.; JONES, G. W. The development of eimerian infections during the first eight months of life in unweaned beef calves in a dry tropical region of Austrália. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam v. 25, p. 1-7, 1987.
- PAVLOVIC, D. Extend of infection with various species of coccidia in buffaloes of different ages . **Veterinary Glas**, v. 29 n. 1, p. 19-22, 1975.
- REBOUÇAS, M. M.; et al. Eimerídeos parasitas de búfalos (*Bubalus bubalis* L.) da região do vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 57, p. 1-3, 1990.
- REBOUÇAS, M. M.; et al. Prevalência e distribuição de protozoários do gênero *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) em bovinos nos municípios de Altinópolis, Taquaritinga, São Carlos e Guairá. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 3, n. 2, p. 125-130, 1994.
- ROSSANIGO, C. Coccidiosis clinica bovina post destete em establecimientos de cria extensiva de la província de San Luis, Argentina. **Revista de Medicina Veterinária** Buenos Aires, v. 78,n. 6, p. 377-379, 1997.

RYLEY, J. F. Recent developments in coccidian biology: where do we go from here ?

Parasitology, . v. 80, p. 189-209, 1980.

SANYAL, P. K.; RUPRAH, N. S. Endogenous stages and pathology in *Eimeria zurnii* coccidiosis in buffalo calves. **Sri Lanka Veterinary Journal**, v.32, p. 22-25, 1984.

SANYAL, P. K. et al. Incidence of bubaline coccidia at Hisar, Haryana. **Indian Veterinary Medicine Journal**; v. 9,n. 20,p. 120-2, 1985.

SHEATHER, A. L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. **Journal of Comparative Pathology** , v. 36,p. 266-275.

SOULSBY, E. J. L. **Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals**. 7. ed. , Philadelphia: Lea & Febiger, 1982.

TITCHEN, D. A. The role of hormones in the reactions of the host to enteric parasites. In: METTRICK, D. F., DESSER, S. S. **Parasites-their world and ours**. Toronto: Elsevier, 1982.

URQUHART, G. M. et al. Protozoologia Veterinária. In:___ **Parasitologia Veterinária** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 1987, p. 237-255.

WHITLOCK, H. V. Some modifications of the McMaster helminth eggs; counting technique and apparatus. **Journal Helminthology**, Turkey , v. 29, p. 177-80, 1948.