

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO FISIOPATOLÓGICA DE COELHOS (*Oryctolagus
cuniculus*) INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE COM
OOCISTOS ESPORULADOS DE *Eimeria stiedae*
(APICOMPLEXA: EIMERIIDAE)**

Fagner Luiz da Costa Freitas
Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO FISIOPATOLÓGICA DE COELHOS (*Oryctolagus
cuniculus*) INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE COM
OOCISTOS ESPORULADOS DE *Eimeria stiedae*
(APICOMPLEXA: EIMERIIDAE)**

Fagner Luiz da Costa Freitas

Orientador: Prof. Dr. Celio Raimundo Machado

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em Medicina
Veterinária (Patologia Animal)

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2009

F866a

Freitas, Fagner Luiz da Costa

Avaliação fisiopatológica de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) infectados experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae* (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) / Fagner Luiz da Costa Freitas. – – Jaboticabal, 2009
xvi, 67 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009

Orientador: Celio Raimundo Machado

Banca examinadora: Antonio Carlos Paulillo, Luis Francisco Prata, Carlos Wilson Gomes Lopes, Urara Kawazoe

Bibliografia

1. *Eimeria stiedae*. 2. Coccidiose hepática. 3. Fisiopatologia. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.993:636.92

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FAGNER LUIZ DA COSTA FREITAS, filho de Wellington Luiz de Freitas e Maria de Fátima Costa Freitas, nasceu em 31 de agosto de 1980, na cidade de Natal, Estado do Rio Grande do Norte. Formou-se em Medicina Veterinária pela Escola Superior de Agricultura de Mossoró em 2003. No ano de 2006, foi aprovado em concurso público para o cargo de Professor Assistente de Parasitologia e Imunologia no Instituto de Saúde e Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, campus Coari, onde permaneceu por dois anos ministrando aulas nos cursos de Nutrição, Enfermagem, Fisioterapia e Biotecnologia, sendo Vice-Coordenador do Curso de Ciências em Biologia e Química do referido Instituto. No ano de 2008, ingressou no corpo docente da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins permanecendo até a presente data ministrando as disciplinas de Citologia, Histologia e Embriologia Animal.

DEDICATÓRIA

Aos meus orientadores

Celio Raimundo Machado

Meu orientador e referencial de vida

Rosangela Zacarias Machado

Minha orientadora e conselheira

Adjair Antonio do Nascimento

Meu co-orientador e amigo

Alexandro Íris Leite

Meu orientador durante a graduação

Muito obrigado por tudo que fizeram por mim!!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** por dar-me a oportunidade de ter uma boa família e iluminar-me durante os momentos bons e difíceis, mas principalmente pela oportunidade de ter uma vida melhor ao lado de minha esposa e minha família.

Ao meu pai **Wellington** que sempre me ensinou a crescer profissionalmente sem prejudicar as pessoas próximas e não deixar de ajudar alguém sempre que for possível;

A minha mãe **Maria de Fátima** pelo apoio nos momentos em que mais precisei, mas principalmente por abrir mão de tantas coisas para que seus filhos pudessem ter um bom estudo e um futuro promissor;

Ao meu irmão **Wagner** sincero e fiel amigo em todos os momentos;

A minha esposa **Katyane** que sempre esteve ao meu lado nesses 10 anos de convívio me apoiando com muita paciência e amor;

Ao professor **Celio** e a professora **Rosangela**, agradeço pelas orientações nesse trabalho, mas principalmente pela participação em minha vida familiar. As oportunidades concedidas me fizeram realizar grandes sonhos na minha vida pessoal e profissional;

Ao professor **Adjair** e a Dona **Carmen** que incentivou todos os meus projetos e por cuidar de minha esposa como uma filha;

Ao professor **Antonio Carlos Paulillo** pela participação nos momentos importantes de minha vida acadêmica, sempre contribuindo no meu mestrado e doutorado; é uma honra ter sua amizade e consideração;

Ao professor **Prata** pela valiosa colaboração na correção deste trabalho e conselhos durante minha atividade acadêmica;

A professora **Urara Kawazoe** por contribuir mais uma vez na minha formação acadêmica. Eu a admiro por ser tão “famosa” no meio acadêmico e, ao mesmo tempo, tão humilde, pois poucos têm essa virtude;

Ao professor **Carlos Wilson** pela disponibilidade em me atender a qualquer momento e participar de minha defesa do doutorado.

Aos técnicos do Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais, agradeço pela ajuda durante esses anos. A **Hermes agradeço** pela atenção que a mim dispensa e a **José Tebaldi**, agradeço simplesmente por ele existir, tenho a certeza que Deus o colocou na minha vida como um presente cheio de paciência para me ouvir e conselhos valiosos para dar, mas principalmente pela amizade verdadeira que tenho certeza que permanecerá.

Aos meus amigos: **Amélia Lizziane, Diego, Frank, Aurélio e Gean** pela força nordestina em todos os momentos vividos em Jaboticabal, pelas alegrias cantadas e tristezas choradas junto a mim, mas em especial pela amizade na forma mais simples e desinteressada que existe. Uma amizade assim é eterna! Também agradeço a Aurélio pela consideração em participar da sua vida e também pela realização da estatística deste trabalho com muita paciência em ouvir e explicar.

A **Anice e João** pela sincera amizade e consideração durante todos esses anos em que morei em Jaboticabal;

Aos amigos da pós-graduação: **Fabio, Thaís e Viviane** por fazerem parte dessa fase importante da minha vida.

A **Claudia Zetterman** agradeço por está presente naqueles dias mais difíceis onde você foi uma das poucas que estava ao meu lado e também pela força dada para terminar esse trabalho que só nós sabemos como foi difícil e o quanto seus conselhos foram importantes. Hoje me considero da família junto com você, **Artur e Fabio**.

A todos os professores do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, mas em especial as professoras **Ângela, Adolorata, Samir e Mathias**, pela atenção e amizade para comigo.

Aos funcionários da Preventiva e Histologia: **Marisa, Liliane (Lila), Andréia, Adelina, Valdemar (Diba), Assis, Milton, Orandir e Damaris** pela acolhida e amizade que construímos. Tenho um carinho especial por cada um de vocês.

Aos funcionários do Laboratório de Clínica de Grandes Animais: **Paulo, Renata e Claudia** pelo auxílio no meu trabalho, por serem profissionais excelentes, mas principalmente pela amizade conquistada.

A **Univesidade Federal do Amazonas** pela oportunidade de realizar um sonho (ser professor). Nessa Instituição pude amadurecer profissionalmente e ainda fiz

amizades que devem ser lembradas aqui: **Luciana, Suélida, Marcos Tavares, Lilian, Giovanni, Fernando, Fabrício, Helder e Tania**. Além das turmas de Biotecnologia, Enfermagem, Nutrição e Fisioterapia que lecionei pelas quais tenho muito carinho. Posso dizer que vocês foram responsáveis pelo meu caráter profissional.

A **Escola Superior de Agricultura de Mossoró-ESAM** (atual UFERSA), onde me formei e aprendi a ser o que sou hoje devendo também agradecer aos professores que contribuíram para esta formação: **Moacir Franco, Fernando Albuquerque, Valdir** e em especial a **Alexandro Íris Leite**, meu eterno mestre, com quem aprendi a gostar do que faço. Além desses, a **Frederico Ozanan** e a **Marcelo Barbosa** pelo convívio como colegas ao nos reencontrarmos em Jaboticabal.

A todos, obrigado!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	Xv
ABSTRACT	Xvi
I. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	1
II. OBJETIVOS	16
2.1 Geral	16
2.2 Específicos	16
III. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Local do experimento	17
3.2 Animais doadores de oocistos	17
3.3 Animais experimentais	18
3.4 Colheita de material biológico	19
3.5 Análise Estatística	21
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
V. CONCLUSÕES	57
VI. REFERÊNCIAS	58

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Média de peso vivo (kg) de coelhos experimentalmente infectados com 1×10^4 oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	22
Tabela 2. Média de carcaça (kg) de coelhos experimentalmente infectados com 1×10^4 oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008.....	23
Tabela 3. Média de peso de fígado (kg) de coelhos experimentalmente infectados com 1×10^4 oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008.....	23

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Material obtido de animais doadores de oocistos no 12° dai. a) Oocistos não esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> obtidos após a punção da vesícula biliar do fígado dos animais doadores. b) Oocisto esporulado de <i>Eimeria stiedae</i> utilizado na infecção dos animais experimentais	18
Figura 2. Alterações macroscópicas observadas em coelhos infectados experimentalmente com oocistos de <i>E. stiedae</i> , Jaboticabal, 2008. a) Distensão abdominal no 14° dai. b) Presença de líquido na cavidade abdominal no 14° dai. c) Líquido aspirado da cavidade abdominal de um coelho infectado no 14° dai. d-f) Diferentes graus de congestão e fibrose hepática no 28° dai	53
Figura 3. Alterações macroscópicas observadas em coelhos infectados experimentalmente com oocistos de <i>E. stiedae</i> , Jaboticabal, 2008. a-b) Congestão hepática e retenção de líquido biliar no 14° dai. c) Fibrose e congestão hepática no 28° dai. d) Fibrose da vesícula biliar no 28° dai. e) Nódulos no parênquima hepático no 28° dai. f) Acúmulo de gases no lúmen intestinal no 28° dai	54
Figura 4. Alterações microscópicas observadas no 28° dai em coelhos infectados experimentalmente com oocistos de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008. a) Hiperplasia de ductos biliares (seta). H. E., 100x. b) Intensa atividade mitótica nos ductos biliares (seta). H. E., 200x. c) Grande quantidade de zigotos em células (seta fina) e oocistos no lúmen (seta espessa) dos ductos biliares (setas). H. E., 400x. d) Presença de tecido conjuntivo (seta fina) e infiltrado inflamatório mononuclear (seta espessa) em torno de ductos biliares. H. E., 100x	55
Figura 5. Alterações microscópicas observadas no 28° dai em coelhos infectados experimentalmente com oocistos de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008. a-b) Congestão hepática (seta fina) e degeneração vacuolar dos hepatócitos (seta espessa). H. E., 400x. c) Hiperplasia folicular linfóide (seta espessa). H. E., 400x. d) Infiltrado de células inflamatórias na polpa vermelha esplênica (seta espessa). H. E., 400x	56

LISTA DE PRANCHAS

	Página
Prancha 1. Média da contagem global de hemácias, teor de hemoglobina e hematócrito em coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	25
Prancha 2. Média do volume corpuscular e concentração de hemoglobina corpuscular em coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	26
Prancha 3. Média da contagem global de leucócitos, neutrófilos e linfócitos em coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008 ...	27
Prancha 4. Concentração média de proteína total, albumina e globulina no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008.	29
Prancha 5. Concentração média de colesterol total, colesterol ligado ao HDL e triglicerídeo no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	31
Prancha 6. Concentração média de colesterol ligado ao LDL, lipídio total hepático e glicose em coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	32
Prancha 7. Concentração média de bilirrubina total, bilirrubina direta e bilirrubina indireta no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	34
Prancha 8. Concentração média de gamaglutamiltransferase - GGT e fosfatase alcalina no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	35

Prancha 9. Concentração média de aspartato aminotransferase – AST e alanino aminotransferase – ALT no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	36
Prancha 10. Concentração média de creatinina e uréia no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	37
Prancha 11. Concentração média de proteínas de peso molecular 238 kD, 206 kD e 175 kD no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	41
Prancha 12. Concentração média de IgA, ceruloplasmina e proteína de peso molecular 115 kD no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	42
Prancha 13. Concentração média de proteína de peso molecular 101 kD, transferrina e albumina no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	43
Prancha 14. Concentração média de antitripsina, IgG de cadeia pesada e glicoproteína ácida no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	44
Prancha 15. Concentração média de haptoglobina e proteínas de peso molecular 32 kD e 30 kD no soro coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	45
Prancha 16. Concentração média de proteínas de peso molecular 27 kD, 26 kD e IgG de cadeia leve no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	46
Prancha 17. Concentração média de proteínas de peso molecular 27 kD, 26 KD e IgG de cadeia leve no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de <i>Eimeria stiedae</i> , Jaboticabal, 2008	47

**AVALIAÇÃO FISIOPATOLÓGICA DE COELHOS (*Oryctolagus cuniculus*)
INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE COM OOCISTOS ESPORULADOS DE
Eimeria stiedae (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE)**

RESUMO – A infecção experimental por *Eimeria stiedae* em coelhos foi realizada com o objetivo de avaliar os sinais clínicos, alterações hematológicas, metabólicas e anatomopatológicas. Foram utilizados 50 coelhos, raça Nova Zelândia, brancos, com idade entre 40 - 60 dias e de pesos semelhantes. Os animais foram randomizados com relação ao peso e distribuídos em 2 grupos experimentais: grupo infectado, inoculado com 1ml de solução contendo 1×10^4 oocistos esporulados de *E. stiedae*; grupo controle, inoculado 1 ml de água destilada. Os animais foram avaliados semanalmente, durante 28 dias, a partir da data de inoculação. Os dados foram avaliados utilizando-se método estatístico não paramétrico pelo teste de Wilcoxon ao nível de 5% de significância. Coelhos infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae* tiveram cirrose hepática que afetou o funcionamento normal do referido órgão repercutindo em produção de proteínas de fase aguda e ocasionando consideráveis alterações metabólicas.

Palavras-Chave: *Eimeria stiedae*, *Coccidiose hepática* e *Fisiopatologia*.

**PATHOPHYSIOLOGY EVALUATION OF RABBITS (*Oryctolagus cuniculus*)
EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *Eimeria stiedae* (APICOMPLEXA:
EIMERIIDAE) SPORULATED OOCYSTS.**

ABSTRACT- The experimental infection by *Eimeria stiedae* in rabbits was performed to evaluate the clinical signs, hematological, metabolic and pathological changes. Fifty rabbits were used, New Zealand race, white, aged 40 to 60 days and of similar weight. The animals were randomized to the weight and distributed into 2 experimental groups: infected group, inoculated with 1 ml of solution containing 1×10^4 sporulated oocysts of *Eimeria stiedae*; control group, inoculated 1 ml of distilled water. The animals were evaluated weekly, for 28 days from the date of inoculation. A statistical was used non-parametric Wilcoxon test method at 5% level of significance. Rabbits infected with sporulated oocysts of *Eimeria stiedae* had liver cirrhosis that affected the normal functioning of the body resulting in production of acute phase proteins and cause considerable metabolic changes.

Palavras-Chave: *Eimeria stiedae*, *Hepatic coccidiosis* and *pathophysiology*.

I. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Eimeria spp. é um protozoário pertencente ao filo Apicomplexa, ordem Coccidia e família Eimeriidae (FORTES, 1997), caracterizada por ser um oocisto contendo 4 esporocistos e cada um possui 2 esporozoítos (REY, 2005). Este parasito causa a eimeriose, uma enfermidade que representa sério problema de saúde animal, tendo em vista as múltiplas alterações orgânicas que são provocadas em diversas espécies domésticas e silvestres.

Ao analisar a sua incidência em criações de coelhos no estado de São Paulo durante 5 anos, GIORGI (1968) concluiu que, dentre as doenças infecciosas e parasitárias, a coccidiose pode ser considerada como a principal e a de maior importância para os criadores de coelhos. ARNONI (1978) observou que 48% da mortalidade em coelhos em Pelotas, Rio Grande do Sul, era causada pela eimeriose hepática. CARDOSO e GUIMARÃES (1993) em estudos realizados no Paraná mostraram que 72,48% dos animais estavam infectados por *Eimeria* sp. Em coelhos são descritas onze espécies do gênero *Eimeria*, sendo dez delas - *E. exigua*, *E. perforans*, *E. piriformis*, *E. flavescens*, *E. irresidua*, *E. intestinalis*, *E. media*, *E. vej dovskyi*, *E. coecicola* e *E. magna* – parasitas de intestino e somente a *E. stiedae* encontra-se parasitando o fígado e ductos biliares (HOBBS e TWIGG, 1998), tendo oocistos aferindo 32,75 – 40,7µm de diâmetro maior x 17,10 – 21,7 µm de diâmetro menor (SINGLA, JUYAL e SANDHU, 2000).

Além dos aspectos morfológicos é necessário o conhecimento sobre o ciclo biológico, para que medidas de prevenção e controle sejam realizadas na época adequada e de maneira eficaz e rápida. No ambiente, o animal infectado elimina

oocistos não esporulados nas fezes e, em condições climáticas favoráveis (umidade, temperatura e oxigenação), estes sofrem esporulação tornando-se assim infectantes podendo suportar, durante meses, condições adversas até que seja ingerido por um hospedeiro. 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 no pasto ou recinto, onde os animais são criados. 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, em condições de oxigenação e temperatura controlada apresentam um período de esporulação de semanas devido à sua parede espessa (GARDNER et al., 1991); já os oocistos de *E. acervulina*, parasitos de frangos, apresentam um tempo de esporulação de no máximo 2 dias (MICHAEL e HODGES, 1971) quando submetidos às mesmas condições ambientais citadas anteriormente, e tais diferenças são devidas às respectivas espessuras de parede.

Após a ingestão, os oocistos chegam ao duodeno, onde sofrem ação da tripsina (dano químico) digerindo assim a parede do oocisto e, em parte, do esporocisto ocorrendo liberação dos esporozoítos (KAWAZOE, 2000). É importante ressaltar que o animal só adquire a infecção após a ingestão de oocistos completamente esporulados (BHAT, JITHENDRAN e KURADE, 1996). Os esporozoítos, depois de liberados, se aderem aos enterócitos no intuito de penetrá-los, sendo este processo dividido em 4 etapas:

- a) 1ª etapa: os esporozoítos aderem ao enterócito e fazem o reconhecimento da célula, mediante estruturas chamadas micronemas. Desta forma, pode-se explicar o porque de algumas espécies possuírem preferência por determinadas áreas do intestino do hospedeiro. Neste sentido, também explica-se o fato que espécies do gênero *Eimeria* que parasitam bovinos não tenham condições de realizar seu ciclo num suíno, por exemplo.
- b) 2ª etapa: a região apical do esporozoíto se fixa na célula do hospedeiro. Nessa fase, há participação essencial do complexo apical do esporozoíto, principalmente do conóide e microtúbulos. O complexo conóidal, assim chamado o conjunto de estruturas que são responsáveis pela fixação do esporozoíto na célula, possui função semelhante à de um parafuso em que, à medida que gira, penetra na superfície plana, neste caso, a célula.
- c) 3ª etapa: associada à ação mecânica do conóide ocorre liberação de enzimas oriundas das roptrias cuja função é facilitar e contribuir para a entrada do esporozoíto na célula.
- d) 4ª etapa: ocorre entrada do esporozoíto na célula com a formação do vacúolo parasitóforo.

Na verdade, o esporozoíto penetra na célula com dois objetivos: a primeira é a de prosseguir o ciclo evolutivo; e a segunda é a de fugir dos mecanismos de defesa do organismo, tratando-se de um mecanismo de evasão contra a ação da resposta imune. Uma vez vacuolizado, os esporozoítos adquirem forma arredondada e se transformam em meronte uninucleado ou trofozoíto, sofrendo várias mitoses pelo processo de merogonia e, a seguir, cada núcleo se individualizará numa célula alongada chamada

merozoíto, dando origem aos merontes de 1ª geração. Posteriormente, os merozoítos rompem a célula do epitélio intestinal e invadem novas células, sofrendo um 2º processo de merogonia, tornando-se merontes de 2ª geração, sendo desta vez maiores que os merontes de 1ª geração. Esses merontes terão 3 destinos: a) serão eliminados pelas células do sistema imunológico; b) em algumas espécies, romperão as células em que se desenvolveram e sofrem o outros processos de merogonia (3ª, 4ª gerações de merontes, por exemplo), podendo ser na mesma região parasitada ou regiões diferentes do organismo; c) invadirão novas células e desenvolverão a fase sexuada da infecção por meio da gametogonia, quando os microgametas (masculinos) fecundam os macrogametas (femininos) formando o zigoto que evoluirá formando o oocisto não esporulado, sendo eliminado nas fezes dando continuidade, no meio ambiente, ao ciclo evolutivo do parasito (FORTES, 1997; KAWAZOE, 2000; REY, 2005). No caso da *E. stiedae*, as gerações esquizônicas e formação dos oocistos ocorrem nas células dos ductos biliares do fígado (OWEN, 1970; ÇAM et al., 2008), onde os oocistos são eliminados no intestino, via colédoco, saindo junto às fezes do animal e contaminando o meio ambiente.

Diversos fatores relacionados ao parasito, hospedeiro e meio ambiente podem interferir na biologia parasitária, tais como: patogenicidade do oocisto, especificidade parasitária por determinado local de parasitismo, número de gerações esquizônicas, potencial biótico do parasito, período pré-patente e patente de eliminação de oocistos, idade e imunidade do hospedeiro, dieta, tempo de gestação, uso errôneo e indiscriminado de medicamentos anti-parasitários e, principalmente, infecções associadas (FAYER, 1980).

De maneira geral, as espécies intestinais do gênero *Eimeria* são responsáveis por enterites severas que repercutem negativamente na absorção de nutrientes e no desempenho zootécnico do hospedeiro, podendo ocasionar morte dependendo do estado de saúde do animal e da dose infectante (FREITAS et al., 2008). A inapetência, diarreia, constipação, hepatomegalia, ascite, icterícia e a distensão abdominal e morte são os principais sinais clínicos observados em coelhos infectados com *E. stiedae* (POLOZOWSKI, 1993; SINGLA, JUYAL e SANDHU, 2000; ÇAM et al., 2008). Segundo JONES, HUNT e KING (2000), na coccidiose hepática há destruição do epitélio biliar na fase aguda e na fase crônica há proliferação deste epitélio que se dispõe em pregas papilares e desloca o parênquima hepático adjacente.

Ao estudar a fisiopatologia da coccidiose hepática em coelhos infectados experimentalmente com *E. stiedae* em diferentes doses infectantes, BARRIGA e ARNONI (1981) observaram altos níveis de bilirrubina, aspartato aminotransferase (AST) e alanino aminotransferase (ALT) no soro dos animais infectados, caracterizando um quadro clínico de colestase e dano hepático decorrentes do parasitismo. Este resultado foi também obtido por POTTER e DICK (1979) ao estudarem a atividade das enzimas do soro, AST e fosfatase alcalina em coelhos infectados. Além disso, BARRIGA e ARNONI (1981) observaram hipoglicemia e hipoproteinemia associadas com alta concentração de lipídios no fígado, indicando disfunção no metabolismo de lipídios e proteínas decorrentes da lesão hepática. Na coccidiose hepática, as atividades das enzimas ALT, AST (SAN MARTIN-NUNEZ, ORDONEZ-ESCUADERO e ALUNDA, 1988), GGT (JOYNER, CATCHPOLE e BERRETT, 1983; HEIN e LAMMLER, 1978) e as concentrações das proteínas totais e globulinas encontram-se elevadas enquanto que

as concentrações de albumina apresentam-se reduzidas (GOMEZ-BAUTISTA, GARCIA e ROJO-VAZQUEZ, 1986). Na pesquisa desenvolvida por ÇAM et al. (2008), observou-se aumento nas atividades das enzimas AST, ALT e gama glutamiltransferase (GGT), permanecendo inalteradas as concentrações de globulina, proteínas totais, uréia e atividade da fosfatase alcalina. Houve, porém, houve um decréscimo nas concentrações de albumina no 24º após infecção (dai), sendo associada à degeneração hepática.

Nessa mesma pesquisa, BARRIGA e ARNONI (1981) observaram que quando há aumento da dose infectante, há aumento da massa hepática, comprometendo o ganho de peso corporal e peso da carcaça, sendo a letalidade proporcional à dose infectante. As mortes ocorrem, na maioria das vezes, no período de máxima alteração protéica e glicêmica, coincidindo também com o período de pico de eliminação de oocistos pelos animais infectados. De acordo com GOMEZ-BAUTISTA, ROJO-VAZQUEZ e ALUNDA (1987) os coelhos jovens são mais susceptíveis à infecção, apresentando quadro clínico de anorexia, queda no peso vivo e de carcaça, causados principalmente pela redução da ingestão de alimento que ocorre nas primeiras 4 semanas, e morte - atribuída às lesões hepáticas também decorrentes da infecção. COUDERT (1975) cita que o emagrecimento causado por *E. stiedae* é irreversível, acarretando, grandes prejuízos econômicos.

De acordo com BARRIGA e ARNONI (1981), o período pré - patente da *E. stiedae* é de aproximadamente 15 dias e o seu período patente de 35 dias, tempo considerado relativamente longo, tendo em vista o período de abate que é realizado entre o 70º e 80º dia de vida do coelho. Assim, os animais parasitados por *E. stiedae*

não desenvolvem todo potencial zootécnico, sendo eutanasiados com peso inferior aos sadios, gerando grandes perdas econômicas.

1.1 Fisiologia hepática

O fígado desempenha muitas funções vitais, sendo essencial na regulação metabólica, na síntese de proteínas e de outras moléculas, no armazenamento de vitaminas e ferro, na degradação de hormônios e na inativação e excreção de drogas e toxinas. O órgão tem a capacidade de armazenar glicogênio que é degradado em glicose conforme a necessidade do corpo no intuito de manter suas concentrações normais no sangue.

Além disso, o tecido hepático está envolvido de forma central no metabolismo lipídico. As lipoproteínas, compostas por lipídeos e proteínas, denominadas apoproteínas (apo), são divididas em classes, que se diferenciam pelo tamanho, pela densidade e pela composição tanto lipídica como apoprotéica: quilomícrons (Qm), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), e lipoproteínas de alta densidade (HDL) (FORTI e DIAMENT, 2006).

O fígado secreta as apolipoproteínas AI e AII, ao passo que o intestino secreta somente a AI (FORTI e DIAMENT, 2006). As apo AI participam da formação de HDL por três vias (CHAPMAN, 2004): 1) por meio da captação de colesterol livre e fosfolípidos das células periféricas, formando a pré- β -HDL. Sob influência da lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), o colesterol livre é esterificado, formando a HDL madura, esférica, rica em colesterol esterificado. Ainda sob a ação da LCAT, a HDL madura

transforma-se em HDL₃ (mais densa e ainda mais rica em colesterol esterificado); posteriormente, também sob ação da PLTP, adquirindo fosfolípidos, forma-se a HDL₂ (menos densa). É conveniente lembrar que, na parede arterial e no plasma, existe interconversão entre HDL₂ e HDL₃; de HDL₃ para HDL₂ participam a PLTP e a LCAT, e de HDL₂ para HDL₃ participam a lipase hepática (LH) e a proteína de transferência do colesterol esterificado (CETP, glicoproteína produzida no fígado) (LINSEL-NITSCHKE e TALL, 2005; FORRESTER, MAKKAR e SHAH, 2005); 2) por meio da secreção, pelo fígado e pelo intestino, de partículas discóides contendo apo AI, fosfolípidos e colesterol livre, que são transformadas, sob ação da LCAT, em HDL maduras; 3) por meio da ação da lipase lipoprotéica (LLP) sobre as lipoproteínas ricas em TG (Qm, IDL, VLDL), liberando fragmentos contendo fosfolípidos, colesterol livre e pequenas apoproteínas, fragmentos esses que vão para o “pool” de HDL.

Os Qm surgem no plasma contendo alto teor de triglicerídeos, colesterol, fosfolípidos e apoproteínas do estado nascente, podendo esta última ser trocada com outras lipoproteínas do plasma, principalmente com a HDL (RIEGEL, 2004). A lipase lipoproteica (LPL), presente na superfície da célula endotelial dos vasos sanguíneos, hidrolisa alguns triglicerídeos nos Qm e libera glicerol e ácidos graxos, sendo captados pelos adipócitos. O que permanece deste processamento são os Qm remanescentes ricos em colesterol, sendo captados e degradados nos hepatócitos (BERNE et al., 2004).

As VLDL são produzidas no fígado tendo a apo B₁₀₀ como principal apoproteína e um menor teor de triglicerídeos quando comparado com os Qm, porém possui um maior teor de fosfolípidos (RIEGEL, 2004). A ação das enzimas lipolíticas lipase lipoproteica

(LPL) e lipase hepática (LH) e lecitina colesterol acetiltransferase (LCAT) sobre as VLDL resulta na formação de LDL (LIMA e COUTO, 2006). O conteúdo das LDL chama a atenção pelo alto teor de ésteres de colesterol e apo B₁₀₀, fixando-se a receptores existentes em vários tecidos. Os ésteres de colesterol que fazem parte dessa molécula são hidrolisados para formar ácidos graxos e colesterol, sendo este último utilizado na composição e função celular. Cerca de 50% de LDL é captada pelo fígado, onde o colesterol é transformado em sais biliares para excreção (RIEGEL, 2004).

As HDL são constituídas por 50% de apoproteínas (AI em maior quantidade, AII, CI, CII, CIII, E e J), 20% de colesterol livre (CL) e de colesterol esterificado (CE), 15% de fosfolípidos e 5% de triglicérides (TG) (LIMA e COUTO, 2006), sendo formado no plasma e no compartimento extravascular (PASSARELI e QUINTAO, 2000). Várias ações são atribuídas às HDL, embora sua ação fundamental seja o transporte reverso do colesterol, anteriormente relatado, outros efeitos foram descritos *in vitro* e em animais de experimentação, tais como: antioxidante, antiinflamatório, antiagregante plaquetário, anticoagulante, pró-fibrinolítico e de proteção endotelial (FORTI e DIAMENT, 2006; LIMA e COUTO, 2006). Após a formação, as HDL são captadas pelo fígado pelos receptores SRB1 (*scavenger receptors B, class 1*) e pelos receptores de apo E (CURTISS e BOISVERT, 2000) que removem seletivamente o colesterol esterificado no fígado; o colesterol hepático é então excretado pela bile (PASSARELI e QUINTAO, 2000). Ocorre, também, a troca de colesterol de HDL com TG das VLDL, IDL e LDL, troca essa mediada pela proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP). Com isso, a HDL fica mais rica em TG e o colesterol ligado à VLDL, à IDL e à LDL é captado pelos receptores hepáticos. O transporte reverso do colesterol compreende,

portanto, duas vias: pela captura do colesterol livre de HDL e envolvendo a CETP (KWITEROVICH, 2000; LIMA e COUTO, 2006).

O fígado também atua no metabolismo de proteínas, pois quando essas são catabolizadas, os aminoácidos formarão amônia (NH_3) que é dissipada pela sua conversão em uréia no tecido hepático, sendo excretado do organismo pelos rins. Além disso, o órgão sintetiza aminoácidos não-essenciais e proteínas plasmáticas como albumina, globulina, fibrinogênios e outras proteínas envolvida na coagulação sanguínea. Depois da hemoglobina das hemácias, o fígado é o local de armazenamento de ferro mais importante de nosso corpo, sendo também responsável pelo armazenamento de vitaminas lipossolúveis protegendo o corpo de deficiências transitórias destas vitaminas; o órgão também transforma e excreta muitos hormônios, drogas e toxinas, sendo convertidas nas formas inativas por reações que ocorrem nos hepatócitos (BERNE et al. 2004).

1.2 Aspectos clínicos

Há poucos estudos disponíveis elucidando os danos causados pelo parasitismo de *E. stiedae* em coelhos. Os animais infectados apresentaram ductos biliares dilatados tendo nódulos com coloração variando entre amarelo a branco na superfície do fígado, sendo observado dilatação e hiperplasia contendo vários estágios de desenvolvimento do parasito e infiltração de células linfóides até a periferia dos ductos, com formação de tecido fibroso e degeneração hidrópica dos hepatócitos. Há necrose focal com formação de tecido fibroso no parênquima hepático e na região portal, com infiltração de células linfóides (SINGLA, JUYAL e SANDHU, 2000; ÇAM et al., 2008; AL-MATHAL, 2008). Em

frangos, sabe-se que as lesões causadas pela eimeriose intestinal ocasionam distúrbios na absorção de nutrientes, desencadeando alterações no metabolismo de carboidratos, proteínas, lipídios e macro e micro-nutrientes (TURK, GUNJI e MOLITORIS, 1982). Todavia, os mecanismos envolvidos nessas alterações não estão totalmente esclarecidos quanto à época pós - infecção em que ocorrem e a repercussão desta infecção no ganho de peso do hospedeiro. A enterite sanguinolenta provocada pelas espécies intestinais de *Eimeria* em frangos também prejudica na absorção de eletrólitos (TURK, 1973), de cálcio, ferro (TURK, 1981) e magnésio (TURK, GUNJI e MOLITORIS, 1982). Esta redução dos eletrólitos plasmáticos, associada à perda de sangue, afeta a hematopoiese compensatória (NATT e HERRICK, 1955), sendo observado baixo hematócrito e menor concentração de hemoglobina (TURK, 1986).

No estudo desenvolvido por ÇAM et al. (2008) observou-se linfopenia no 24° dai e leucocitose no 16° e 24° dai devido ao aumento do número de granulócitos. Nesse mesmo estudo, houve redução do hematócrito, hemoglobina e VCM no 24° dai nos animais infectados, caracterizando uma anemia microcítica normocrômica. São poucos os estudos que mostram as alterações hematológicas em coelhos infectados por *E. stiedae*, sendo de grande importância a realização destes estudos, pois o fato desta espécie parasitar o fígado provavelmente resulte em prejuízos ainda mais relevantes.

A pequena abrangência de estudos do metabolismo lipídico em coelhos infectados experimentalmente com *E. stiedae* está restrita apenas às investigações sobre variações no glicogênio hepático e colesterol total. FREITAS et al. (2008b) ao pesquisar as alterações no metabolismo em frangos infectados experimentalmente com

E. acervulina, parasita entérico, observou que todas as classes de lipídios no soro e as lipoproteínas apresentaram-se reduzidas nos animais infectados, enquanto a gordura hepática depositada teve significativo aumento quando comparadas às aves do grupo controle. No parasitismo pela *E. stiedae*, o principal órgão afetado é o fígado, desta forma é provável que as alterações dos níveis de lipídios no soro e das proteínas plasmáticas sejam ainda mais significativos, já que este órgão é responsável pelo armazenamento de glicogênio, gliconeogênese, síntese de gordura, oxidação de ácidos graxos e formação de proteínas plasmáticas (GUYTON, 2002). A infecção pelo protozoário ocasiona peroxidação de lipídios decorrente da presença de radicais livres oriundos do processo inflamatório, ocorrendo em animais e seres humanos infectados por *Fasciola hepatica* (KOLODZIEJCZYK, SIEMIENIUK e SKRZYDLEWSKA, 2006; KAYA et al., 2007).

1.3 Proteínas de fase aguda

Como consequência a uma injúria, trauma ou infecção de um tecido, desenvolve-se no hospedeiro uma série complexa de reações que tem como finalidade inibir a continuidade do dano tecidual, isolando e destruindo o organismo agressor e ativando o processo de reparação necessária para o retorno do organismo às funções normais (BAUMANN e GAUDIE, 1994). Há liberação de amplo espectro de mediadores por parte dos macrófagos teciduais e monócitos sangüíneos, dos quais as citocinas, principalmente o fator de necrose tumoral (FNT) e as interleucinas IL-1 e IL-6, são as principais mediadoras da síntese das proteínas séricas de fase aguda (GRUYS et al., 1994). A maioria dessas proteínas é formada por glicoproteínas sintetizadas pelos

hepatócitos, como resposta à injúria tecidual, e são encontradas na circulação sangüínea (JAIN, 1989). Na dependência da espécie animal, as proteínas de fase aguda (PFA) são consideradas indicadores mais fiéis da resposta sistêmica frente aos processos inflamatórios e infecciosos, quando comparadas a outras variáveis, tais como febre, aumento da taxa de hemossedimentação e/ou presença de leucocitose associados à neutrofilia (JAIN, 1989). De modo geral, o estímulo à síntese de proteína de fase aguda ocorre no período de 6 a 8 horas após a injúria, sendo que a concentração máxima é alcançada em 2 a 5 dias. Entretanto, o pico e a persistência das concentrações plasmáticas destas proteínas dependem do metabolismo, extravasamento vascular e deposição tecidual (JAIN, 1993). Ressalta-se a importância do proteinograma sérico em humanos para o diagnóstico e monitoramento de várias enfermidades e para identificação de focos infecciosos decorrentes de procedimentos cirúrgico (WHICHER e DIEPPE, 1985).

A haptoglobina é uma alfa-2-proteína responsável pelo transporte de hemoglobina nas células do sistema mononuclear fagocitário para que haja a recuperação do íon ferro durante o processo de hemocaterese e na defesa contra microorganismos. Outros efeitos propostos da série complexa de reações incluem a modulação da função de linfócitos e macrófagos e a inibição da atividade da catepsina (HARVEY e WEST, 1987). A concentração da haptoglobina aumenta em processos inflamatórios agudos, estresse e, às vezes, durante processos neoplásicos recentes (CORAZZA, 1997). O fibrinogênio é a proteína plasmática mais frequentemente analisada, porém não é a principal proteína de fase aguda nos animais (GODSON et al., 1996). A α -glicoproteína ácida é uma proteína que participa fundamentalmente ligando-

se à maioria das drogas básicas, tais como agentes bloqueadores e antiarrítmicos (DELLO et al., 1988). A ceruloplasmina (cobre mono amino oxidase, Cu-MAO) está presente no soro também sob a forma de alfa-1-globulina (SCHOSINSKY et al. 1974) alterando-se significativamente após a indução de processo inflamatório em cães, ao contrário do que se observa em humanos (CONNER et al., 1988). Os níveis plasmáticos desta proteína aumentam nos processos inflamatórios, infecciosos, virais e parasitários, enquanto o decréscimo é observado ao nascimento, desnutrição, deficiência na absorção de nutrientes, nefrose e moléstias hepáticas associadas à intoxicação de cobre (JAIN, 1993). O cobre é transportado do fígado para os órgãos periféricos pela ceruloplasmina, que atua como armazenadora e transportadora para manter a homeostase desse elemento (GONZÁLEZ e SILVA, 2003). Aproximadamente 90% do cobre no plasma de mamíferos está na forma de metaloproteínas como a ceruloplasmina que carrega-o para tecidos específicos (MCDOWELL, 1992). A ceruloplasmina é uma fração do sangue, em que cerca de 95% do cobre sérico encontra-se ligado. A ceruloplasmina contém três oligosacarídeos ligados por asparagina e oito sítios que ligam o Cu^+ ou Cu^{2+} . Ajuda também na manutenção da homeostase e no transporte do Cu^{2+} (SMITH et al., 1988). Para se detectar estados carenciais, González e Silva (2003) comentam que a determinação de ceruloplasmina plasmática possui alta correlação com os níveis sanguíneos de cobre. Todas as alterações acima descritas podem acontecer nos coelhos infectados experimentalmente com *E. stiedae*. O padrão exato de sua ocorrência e o significado fisiopatológico das mesmas estão ainda na dependência de investigações mais aprofundadas.

No Brasil, há poucos estudos relacionados às alterações metabólicas em coelhos infectados por *E. stiedae*, sendo realizadas, principalmente, em décadas anteriores. O proteinograma associado aos estudos hematológicos e bioquímicos pode auxiliar no diagnóstico e prognóstico da coccidiose hepática. Por ser uma enfermidade que ocasiona grandes perdas econômicas e como existe uma insuficiência de dados sobre sua fisiopatologia, são necessários estudos específicos que esclareçam suas características e que possam contribuir para o seu controle e redução das perdas.

II. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Avaliar aspectos fisiopatológicos em coelhos infectados por *Eimeria stiedae*.

2.2 Específicos

- Avaliar os sinais clínicos em coelhos infectados experimentalmente;
- Verificar os efeitos do parasitismo sobre o desempenho zootécnico do grupo infectado;
- Determinar as alterações hematológicas em diferentes períodos após a infecção;
- Estabelecer as alterações bioquímicas em diferentes períodos de tempo da infecção;
- Identificar as proteínas de fase aguda indicadoras do processo inflamatório que permitam o monitoramento da resolução tecidual em coelhos infectados experimentalmente com *E. stiedae*;
- Avaliar as alterações macro e microscópicas em coelhos infectados experimentalmente com *E. stiedae*.

III. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 *Local do Experimento*

A pesquisa foi desenvolvida no Departamento de Patologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, São Paulo.

3.2 *Animais doadores de oocistos*

Foram utilizados cinco coelhos da raça Nova Zelândia, brancos, machos, adultos, para a multiplicação dos oocistos. Os animais foram imunossuprimidos com o uso de dexametasona e inoculados com 1×10^5 oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, sendo a amostra do parasito cedida pelo Laboratório de Coccidiose do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. No 12º dia após a inoculação dos oocistos (dai), foi realizada a eutanásia dos animais conforme COBEA (2008) e, por meio da punção vesical, foram obtidos os oocistos necessários para a realização do experimento. Estes foram submetidos por 48 horas à esporulação em bicromato de potássio à 2,5% em temperatura e umidade ambiente, sendo utilizado constantemente uma bomba de aquário para sua oxigenação.

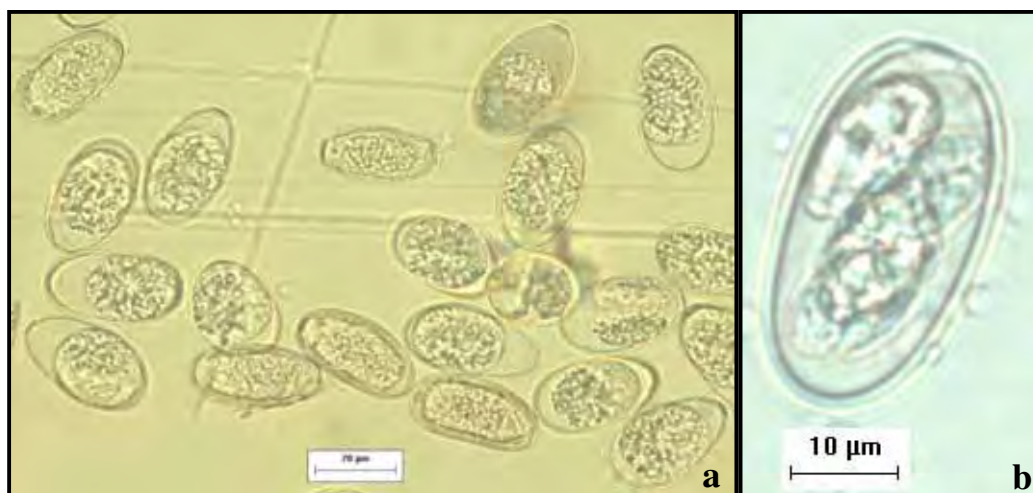


Figura 1- Material obtido de animais doadores de oocistos no 12º dai. a) Oocistos não esporulados de *Eimeria stiedae* obtidos após a punção da vesícula biliar do fígado dos animais doadores. b) Oocisto esporulado de *Eimeria stiedae* utilizado na infecção dos animais experimentais.

3.3 Animais Experimentais

Foram utilizados 50 coelhos, raça Nova Zelândia, brancos, com idade entre 40 - 60 dias e de pesos semelhantes. Os animais foram aleatoriamente distribuídos em 2 grupos experimentais: grupo infectado, inoculado com 1ml de solução contendo 1×10^4 oocistos esporulados de *E. stiedae*; grupo controle, inoculado 1 ml de água destilada. Para inoculação, todos os animais foram contidos manualmente e inoculados, por via oral, com o auxílio de pipeta automática. Cada grupo foi instalado em gaiolas de ferro com dimensões de 1m de comprimento x 2m de largura x 1,5m de altura e piso tipo tela; o grupo controle ficou em local separado do grupo inoculado, porém sob as mesmas condições ambientais. Os comedouros e bebedouros utilizados contendo, respectivamente, água limpa e ração balanceada sem anticoccidianos, foram lavados com água e detergente neutro e flambados a cada 12 horas para que o risco de

reinfeção fosse evitado. Os coelhos receberam ração formulada para fase de crescimento com base nas exigências nutricionais da AEC (1987).

3.4 Colheita de material biológico

Os animais foram avaliados semanalmente, durante 28 dias, a partir da data de inoculação, sendo eutanasiados, por concussão cerebral, 5 animais por colheita; não houve sangria após a eutanásia dos animais experimentais no intuito de não alterar as lesões apresentadas pelo grupo infectados. A avaliação zootécnica, hematológica, bioquímica e patológica foi realizada no 0º a 7º, 14º, 21º e 28º dia pós-infecção (dai).

O peso vivo, peso de carcaça (sem cabeça e vísceras comestíveis) e peso do fígado foram determinados por meio de uma balança eletrônica com resolução de 0,01 grama marca Filizola; não houve sangria após o abate dos animais experimentais. O sangue foi colhido, sem jejum, via intra-cardíaca, utilizando-se seringas e agulhas descartáveis, sendo depositados 2 ml em tubos de ensaios estéreis contendo ácido-etilenodiaminotetracético sódico (EDTA sódico) para realização do hemograma; 1 ml em tubos de ensaios estéreis contendo ácido-etilenodiaminotetracético fluoreto de sódio (EDTA - fluoreto) e 4 ml em tubos de ensaio estéreis sem anticoagulantes para obtenção do plasma e soro, respectivamente, após centrifugação. Os tubos de ensaios foram encaminhados ao Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da FCAV/UNESP - Jaboticabal para realização dos exames hematológicos e bioquímicos.

Foram determinadas as contagens globais de hemácias e leucócitos com contador automático de células (CC-Celm®, Barueri-SP), teor de hemoglobina pelo

método colorimétrico com “kit” comercial (Labtest[®] Diagnóstica, Belo Horizonte, MG) e lido em aparelho espectrofotômetro (LabQuest[®] Diagnóstica, Belo Horizonte, MG) e o hematócrito foi obtido por centrifugação em capilares. O volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculados conforme descritos por WINTROBE (1942). A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada em estirações sangüíneas corados usando-se o corante de Rosenfeld, contando 100 campos no microscópio e os resultados dados em valores absolutos; posteriormente, foram transformados para valores relativos.

A dosagem da glicose plasmática foi realizada pelo método enzimático com “kit” comercial (Labtest[®] Diagnóstica, Belo Horizonte, MG) e lido em aparelho espectrofotômetro (LabQuest[®] Diagnóstica, Belo Horizonte, MG), sendo realizada imediatamente após a coleta. Os lipídios séricos medidos no soro foram: triacilgliceróis das lipoproteínas quantificados pelo método proposto por NAGELE et al. (1984); colesterol total quantificado pelo método proposto por ALAIN et al. (1974), modificado por GOOD et al. (1966); e colesterol em HDL, onde todos foram dosados por meio de “kit” comercial (Labtest[®] Diagnóstica, Belo Horizonte, MG) e lido em aparelho espectrofotômetro (LabQuest[®] Diagnóstica, Belo Horizonte, MG). O colesterol em LDL foi calculado utilizando-se a seguinte fórmula: $LDL = \text{colesterol total} - HDL - VLDL$. O lipídio total hepático foi determinado gravimetricamente após extração com clorofórmio – metanol (2:1, v/v) conforme descrito por BLIGH e DYER (1959).

Para o fracionamento das proteínas da fase aguda foi realizada a eletroforese em gel de acrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). As concentrações das proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (SHIMADZU CS

9301, Japão), utilizando como referência uma solução marcadora (SIGMA, EUA) com pesos moleculares 29 kD, 45 kD, 66 kD, 97,4 kD, 116 kD e 205 kD, além de proteínas purificadas (SIGMA, EUA).

Os valores de referência utilizados no presente estudo foram baseados no valor mínimo e máximo encontrado nos animais no dia zero do período experimental. Foram realizados exames clínicos nos animais e análises parasitológicas em suas fezes para detecção do período de pré-patência, sendo utilizada as técnicas de Willis (1921) e centrífugo-flutuação em solução hipersaturada de NaCl. Para realização dos exames histopatológicos, foram retirados fragmentos de fígado e baço, sendo esses tecidos conservados em solução de formalina tamponada a 10% e, posteriormente, embebidos e incluídos em parafina, cortados no micrótomo, colocados em lâminas e corados com hematoxilina-eosina (HE).

3.5 *Análise Estatística*

Os dados foram avaliados utilizando-se método estatístico não paramétrico pelo teste de Wilcoxon ao nível de 5% de significância.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O período pré-patente de eliminação de oocistos observado nos animais infectados foi de 14 dias. Durante o período experimental, o grupo infectado apresentou inapetência, diarreia, ascite e distensão abdominal, não sendo encontrada icterícia e mortalidade conforme observados em outros trabalhos (POLOZOWSKI, 1993; SINGLA, JUYAL e SANDHU, 2000; ÇAM et al., 2008). Os dados relacionados ao ganho de peso vivo demonstraram que não houve diferença estatística entre os grupos experimentais (Tabela 1). Entretanto, o grupo infectado obteve um menor peso de carcaça no 21° e 28° dai (Tabela 2). Nesse mesmo período, os grupos infectados tiveram aumento do peso do fígado, principalmente, no 28° dai (Tabela 3).

Tabela 1- Média de peso vivo (kg) de coelhos experimentalmente infectados com 1×10^4 oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

Grupos Experimentais	Dias após infecção				
	0	7	14	21	28
Infectado 1	1,10	1,53	1,48	1,42	1,74
Infectado 2	1,04	0,89	1,15	1,44	1,57
Infectado 3	1,30	1,07	1,12	1,30	1,58
Infectado 4	1,31	1,34	1,16	1,39	1,76
Infectado 5	1,01	1,03	1,18	1,25	1,29
Média ± desvio padrão	1,15^{ns} ± 0,14	1,17^{ns} ± 0,26	1,23^b ± 0,14	1,36^b ± 0,08	1,59^{ns} ± 0,19
Controle 1	1,10	1,30	1,43	1,45	1,70
Controle 2	1,04	1,31	1,37	1,39	1,36
Controle 3	1,08	1,01	1,45	1,37	1,72
Controle 4	1,29	1,38	1,57	1,76	1,31
Controle 5	1,08	1,34	1,47	1,38	1,53
Média ± desvio padrão	1,12^{ns} ± 0,10	1,27^{ns} ± 0,15	1,46^a ± 0,07	1,47^a ± 0,16	1,53^{ns} ± 0,19

n.s: não significativo pelo teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade.

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente.

Tabela 2- Média de rendimento de carcaça (kg) de coelhos experimentalmente infectados com 1×10^4 oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

Grupos Experimentais	Dias após infecção				
	0	7	14	21	28
Infectado 1	0,47	0,47	0,46	0,49	0,48
Infectado 2	0,62	0,46	0,44	0,45	0,46
Infectado 3	0,38	0,44	0,49	0,52	0,50
Infectado 4	0,46	0,45	0,47	0,39	0,46
Infectado 5	0,40	0,35	0,49	0,47	0,39
Média $\pm$ desvio padrão	0,47^{ns} $\pm$ 0,10	0,44^{ns} $\pm$ 0,05	0,47^{ns} $\pm$ 0,02	0,47^b $\pm$ 0,05	0,46^b $\pm$ 0,04
Controle 1	0,47	0,47	0,50	0,47	0,50
Controle 2	0,51	0,46	0,45	0,49	0,58
Controle 3	0,49	0,40	0,54	0,51	0,51
Controle 4	0,50	0,47	0,52	0,54	0,58
Controle 5	0,45	0,46	0,45	0,47	0,52
Média $\pm$ desvio padrão	0,48^{ns} $\pm$ 0,02	0,45^{ns} $\pm$ 0,03	0,49^{ns} $\pm$ 0,02	0,50^a $\pm$ 0,03	0,54^a $\pm$ 0,04

n.s: não significativo pelo teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade.

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente.

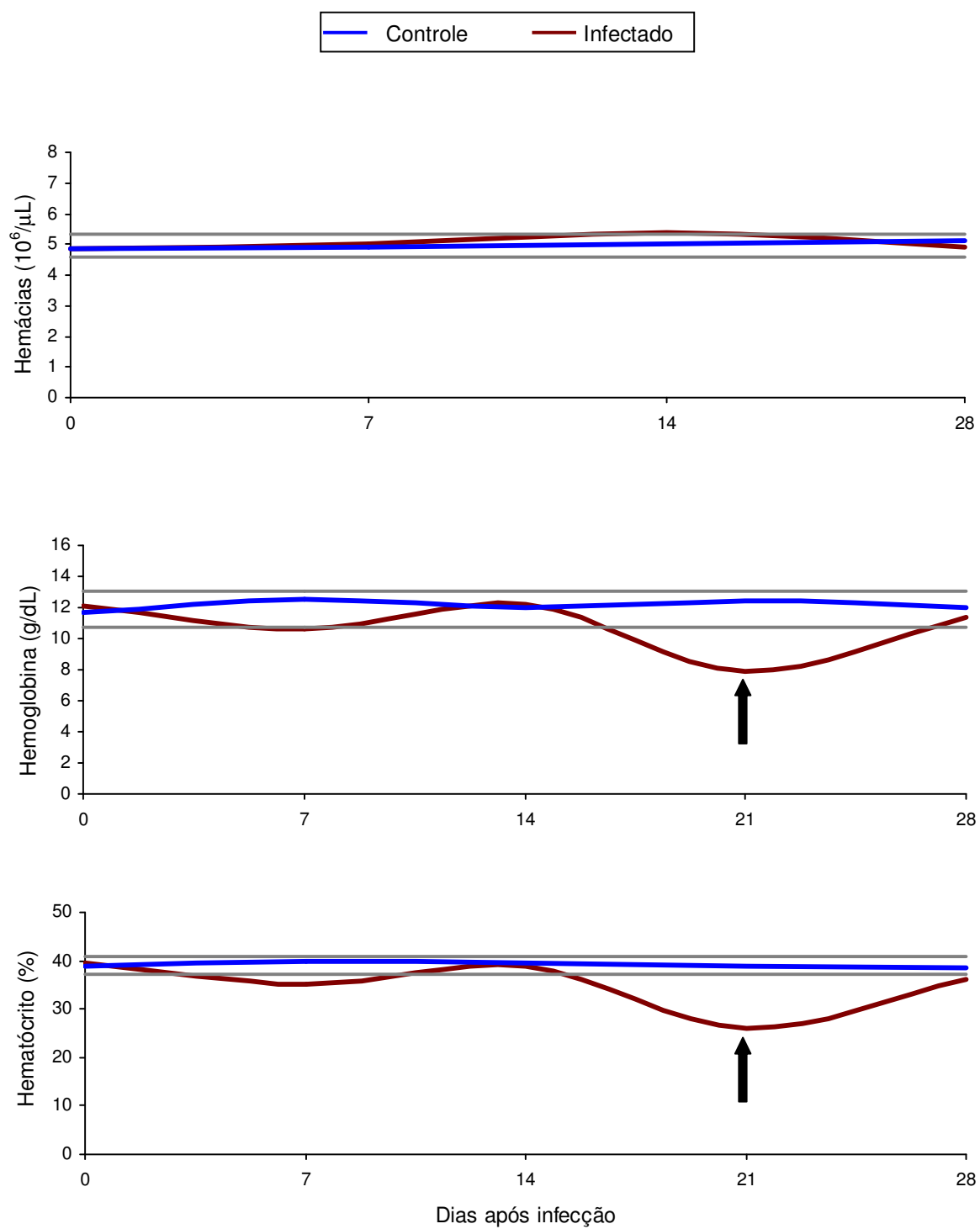
Tabela 3- Média de peso de fígado (kg) de coelhos experimentalmente infectados com 1×10^4 oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

Grupos Experimentais	Dias após infecção				
	0	7	14	21	28
Infectado 1	0,06	0,06	0,06	0,09	0,16
Infectado 2	0,05	0,03	0,07	0,10	0,15
Infectado 3	0,04	0,04	0,07	0,08	0,13
Infectado 4	0,05	0,05	0,05	0,07	0,19
Infectado 5	0,04	0,04	0,06	0,08	0,24
Média $\pm$ desvio padrão	0,05^{ns} $\pm$ 0,01	0,04^{ns} $\pm$ 0,01	0,07^{ns} $\pm$ 0,01	0,09^a $\pm$ 0,01	0,18^a $\pm$ 0,01
Controle 1	0,06	0,06	0,08	0,52	0,05
Controle 2	0,05	0,05	0,07	0,06	0,04
Controle 3	0,04	0,04	0,05	0,05	0,06
Controle 4	0,06	0,05	0,06	0,05	0,04
Controle 5	0,06	0,07	0,05	0,04	0,04
Média $\pm$ desvio padrão	0,05^{ns} $\pm$ 0,01	0,05^{ns} $\pm$ 0,01	0,07^{ns} $\pm$ 0,01	0,05^b $\pm$ 0,01	0,05^b $\pm$ 0,01

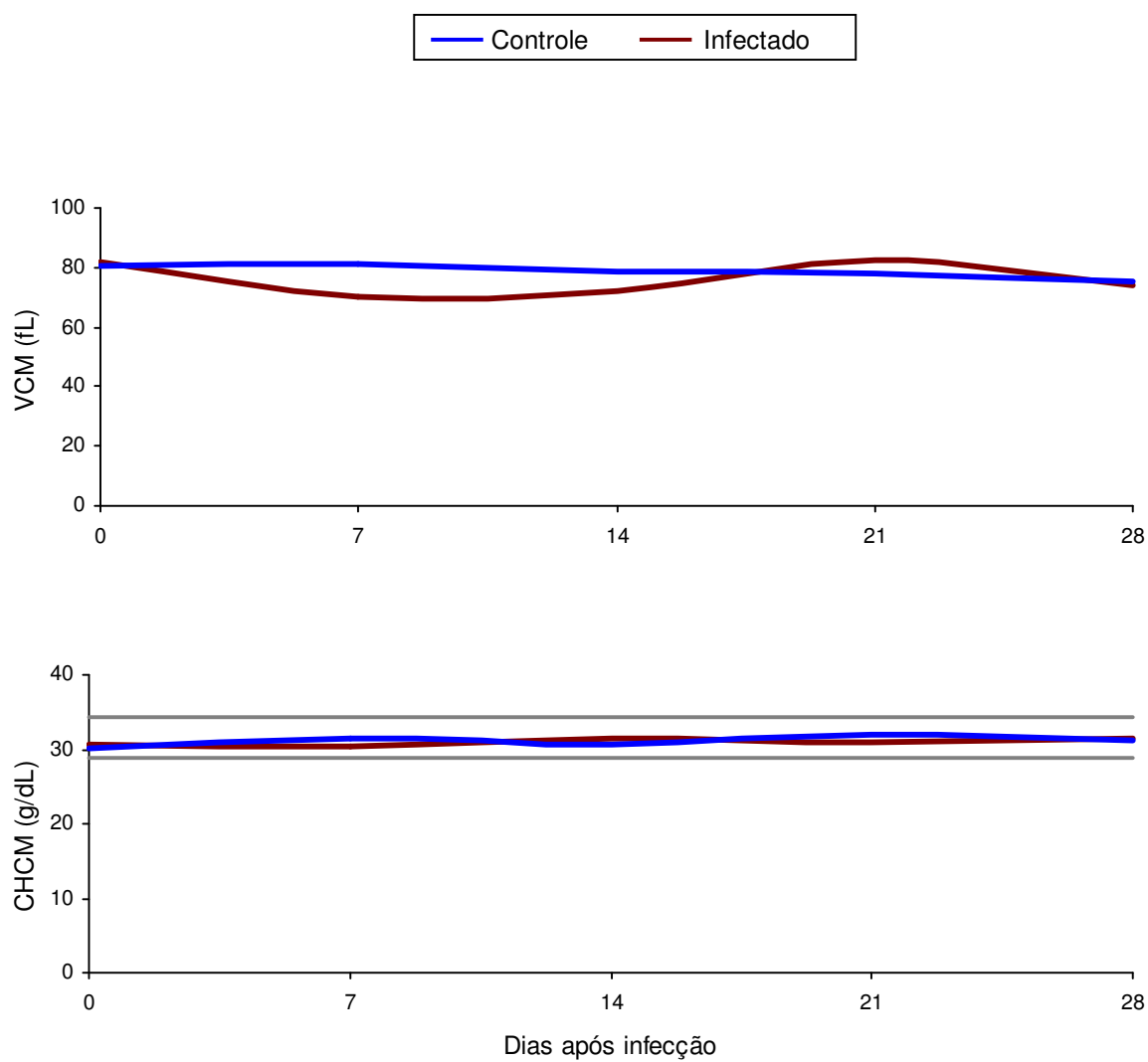
n.s: não significativo pelo teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade.

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente.

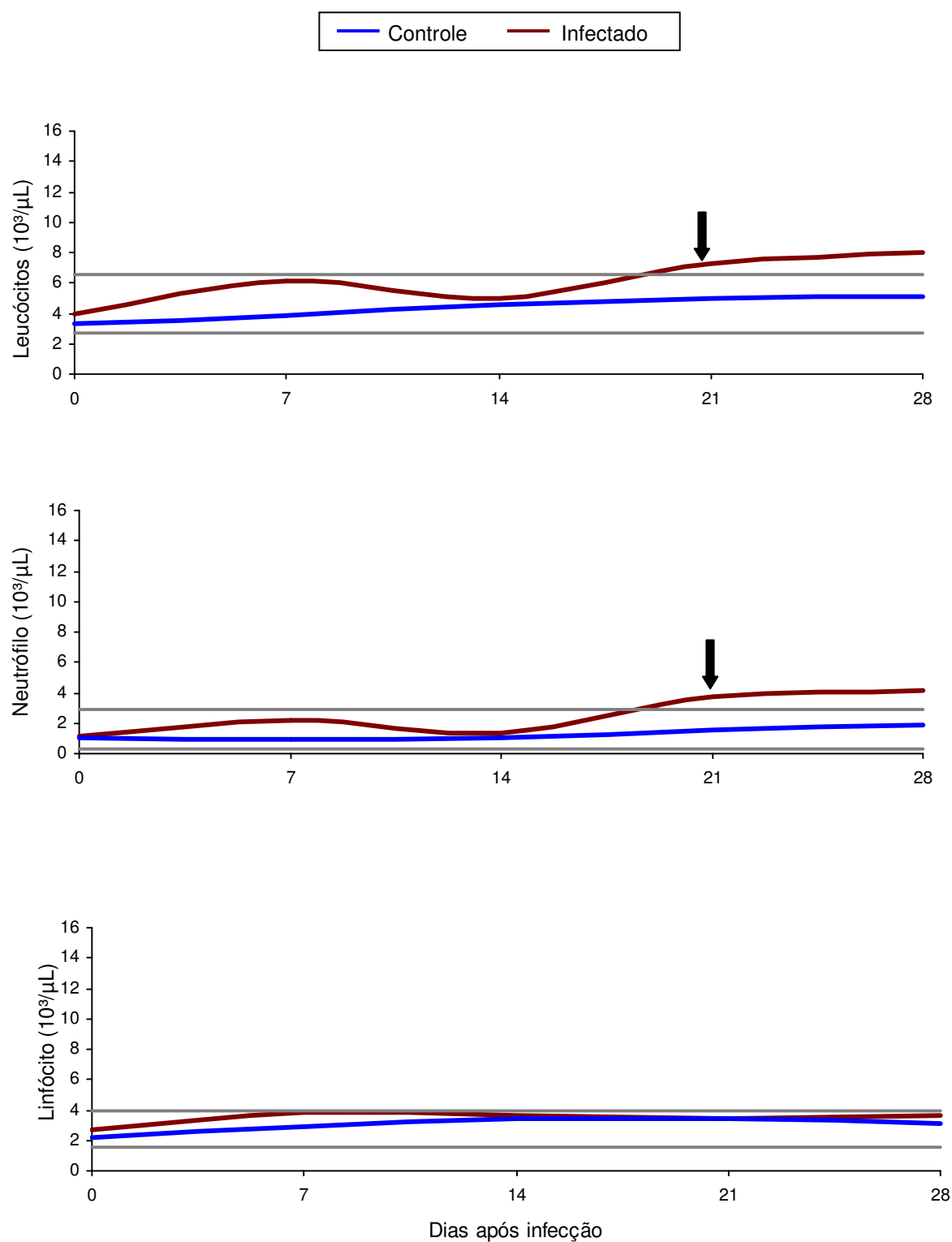
No 7º dai, os animais apresentaram anemia microcítica normocrômica retornando no 14º dai aos seus valores normais. Entretanto, o quadro anêmico retornou no 21º dai sendo caracterizado por um quadro macrocítico normocrômico. (Prancha 1 e 2). Os coelhos infectados apresentaram leucocitose no 21º e 28º dai decorrente de neutrofilia, tendo ainda uma discreta monocitose neste último dia; os valores dos linfócitos, eosinófilos e basófilos permaneceram dentro da normalidade durante todo o período experimental (Prancha 3). No estudo desenvolvido por ÇAM et al. (2008) observou-se linfopenia no 24º dai e leucocitose no 16º e 24º dai devido ao aumento do número de granulócitos. Nesse mesmo estudo, foi encontrada redução do hematócrito, hemoglobina e VCM no 24º dai nos animais infectados caracterizando uma anemia microcítica normocrômica.



Prancha 1- Média global de hemácias, teor de hemoglobina e hematócrito em coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

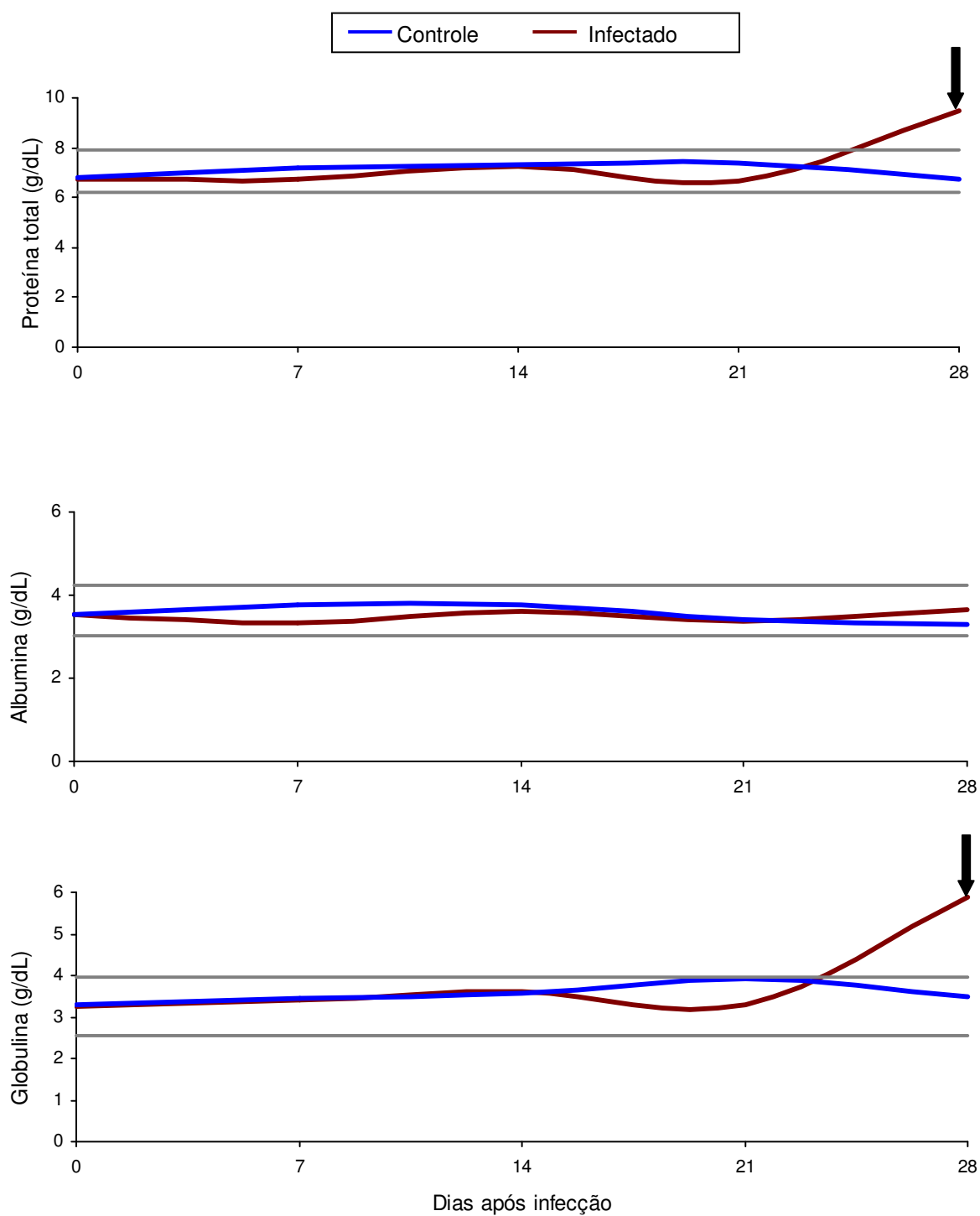


Prancha 2- Média do volume corpuscular e concentração de hemoglobina corpuscular em coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.



Prancha 3- Média da contagem global de leucócitos, neutrófilos e linfócitos em coelhos experimentalmente infectados com ocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

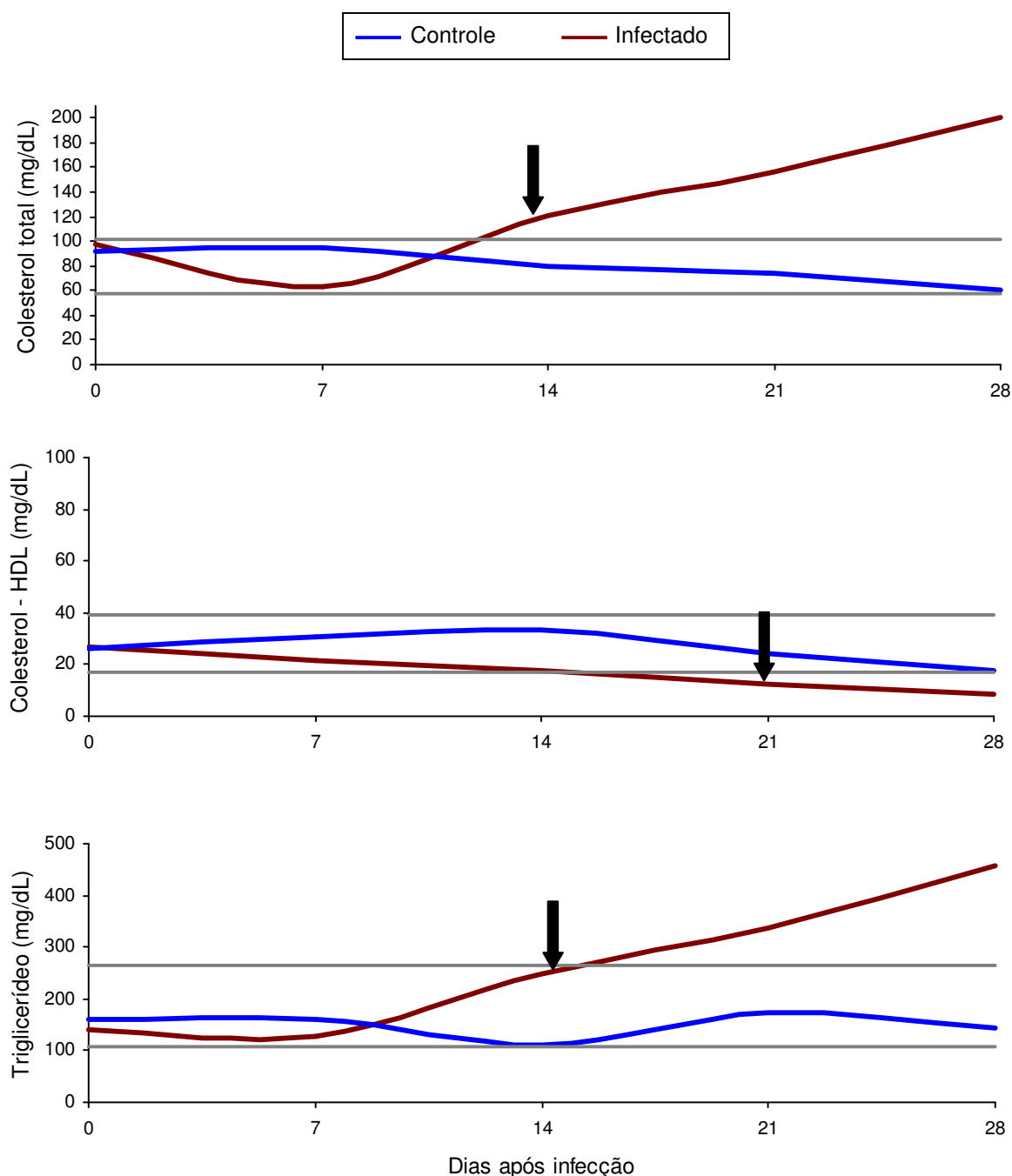
As concentrações de proteínas totais e globulinas aumentaram significativamente no 28º dia enquanto a albumina no soro dos animais infectados permaneceram dentro da normalidade até o término do período experimental (Prancha 4). A diminuição dos teores séricos de albumina pode estar relacionada com lesões hepáticas, pois a albumina é produzida exclusivamente neste órgão (MEYER et al., 1995). Entretanto, proteínas totais e albumina podem ser encontradas em teores normais mesmo na presença de lesões hepáticas, a menos que a hepatite envolva grande parte do fígado e seja severa o bastante para causar insuficiência (PINCUS e SCHAFFNER, 1999) conforme resultados obtidos no presente trabalho, observando-se concentrações normais de albumina diante de um processo inflamatório hepático ocasionado pela reprodução parasitária.



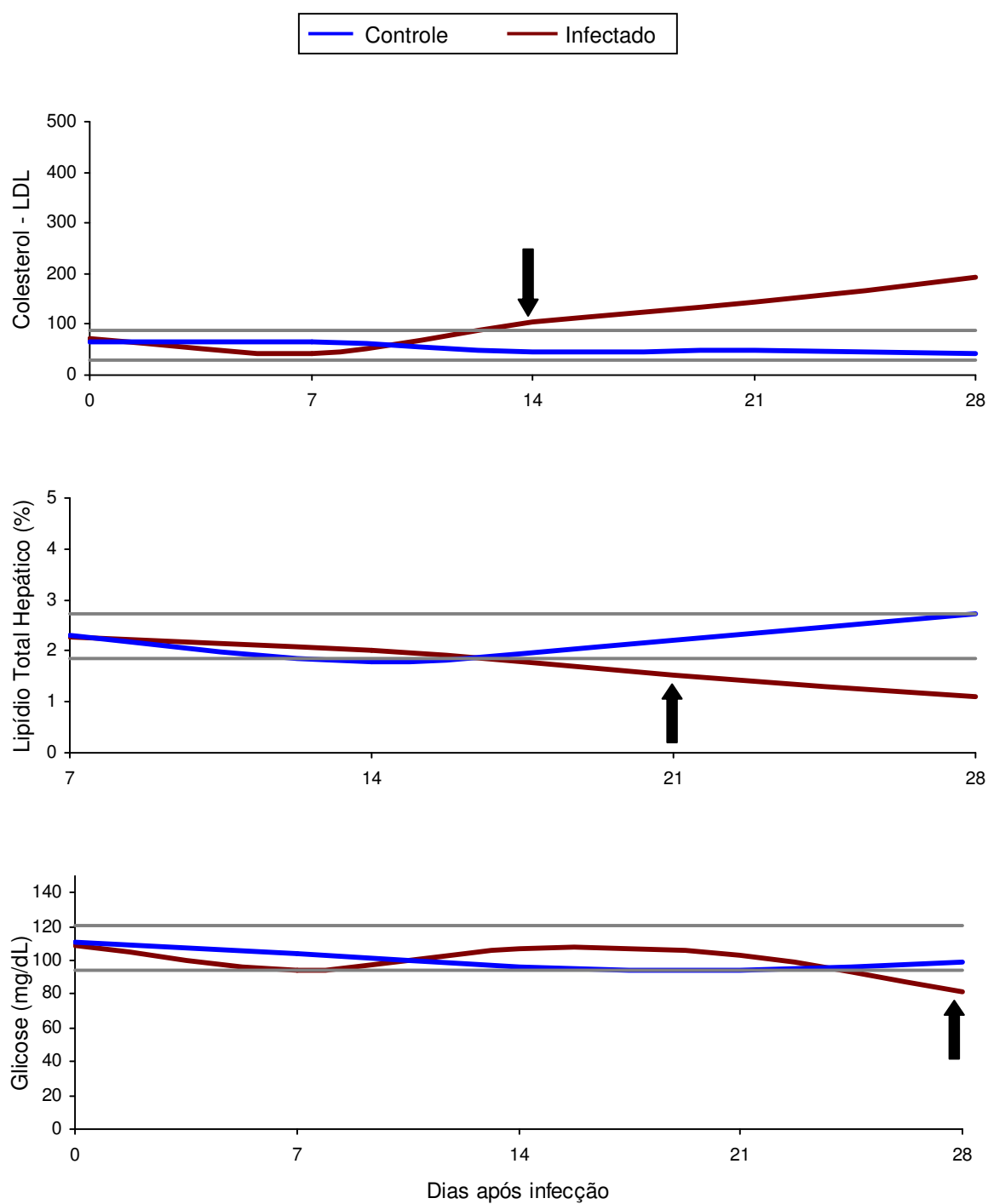
Prancha 4- Concentração média de proteína total, albumina e globulina no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

O colesterol total, triacilgliceróis e colesterol ligado às lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) elevaram-se significativamente nos animais infectados após o 14º permanecendo até o 28º dai acima das concentrações normais. O lipídio total hepático e o colesterol ligado às lipoproteínas de alta densidade (HDL-c) obtiveram concentrações abaixo dos valores normais a partir do 21º dai, porém o HDL apresentou uma redução significativa em relação ao grupo controle desde o 7º dai (Pranchas 5 e 6). Na presente pesquisa, a reprodução parasitária ocasionou redução na expressão de receptores de LDL-c nos hepatócitos contribuindo para que as concentrações dessa lipoproteína aumentassem no soro dos animais infectados. O aumento do colesterol total no soro ocorreu, possivelmente, devido a deficiência do organismo em produzir apo AI utilizada na composição da molécula de HDL, tendo em vista que essa apoproteína é sintetizada principalmente no fígado e, neste caso, o órgão encontrava-se comprometido. Baixos níveis de HDL comprometem o transporte reverso de colesterol e são encontrados em seres humanos com deficiência completa ou mutações da apo AI, deficiência completa ou parcial de LCAT, deficiências relacionadas ao transportador ABCAI, sendo todos de origem genética. Esses valores baixos de HDL são comumente encontrados em seres humanos associados a tabagismo (por diminuição de LCAT), obesidade visceral (por diminuição de LCAT e LLP), dieta muito pobre em gordura, hipertrigliceridemia e uso de alguns fármacos (ASHEN e BLUMENTHAL, 2005). Infecções parasitárias induzidas por *Dicrocoelium dentricum* (SANCHES-CAMPOS et al., 1999), *Fasciola hepatica* (KAYA et al., 2007) e *E. stiedae* (ÇAM et al., 2008) ocasionam destruição do parênquima hepático e ductos biliares resultando em peroxidação de lipídios. Os animais infectados apresentaram hipoglicemia no final da

infecção (Prancha 6), possivelmente, associada à mobilização de reservas orgânicas com diminuição dos glicogênios hepático e muscular na tentativa de suprir as necessidades decorrentes do parasitismo.

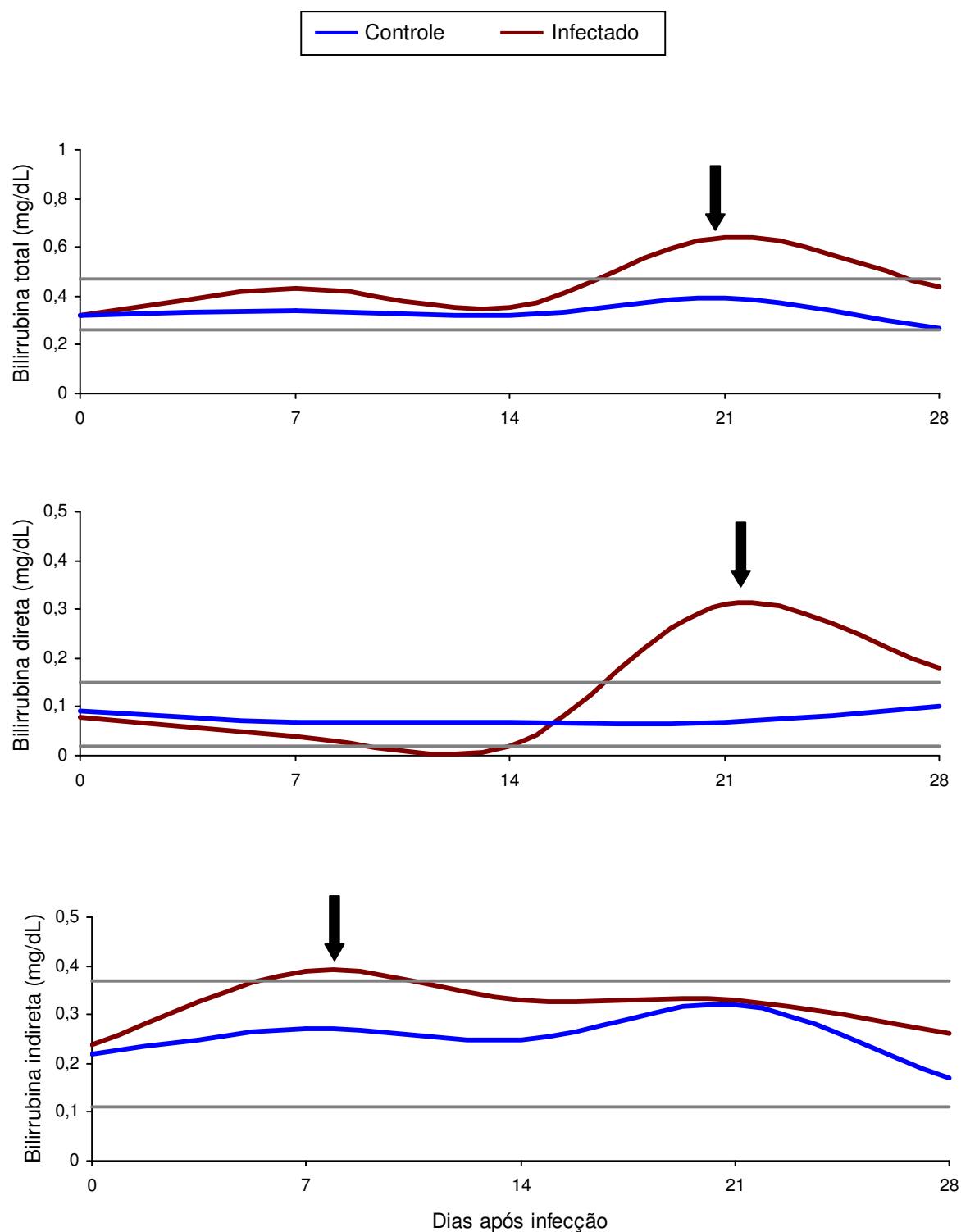


Prancha 5- Média das concentrações de colesterol total, colesterol ligado ao HDL e triglicerídeo no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.



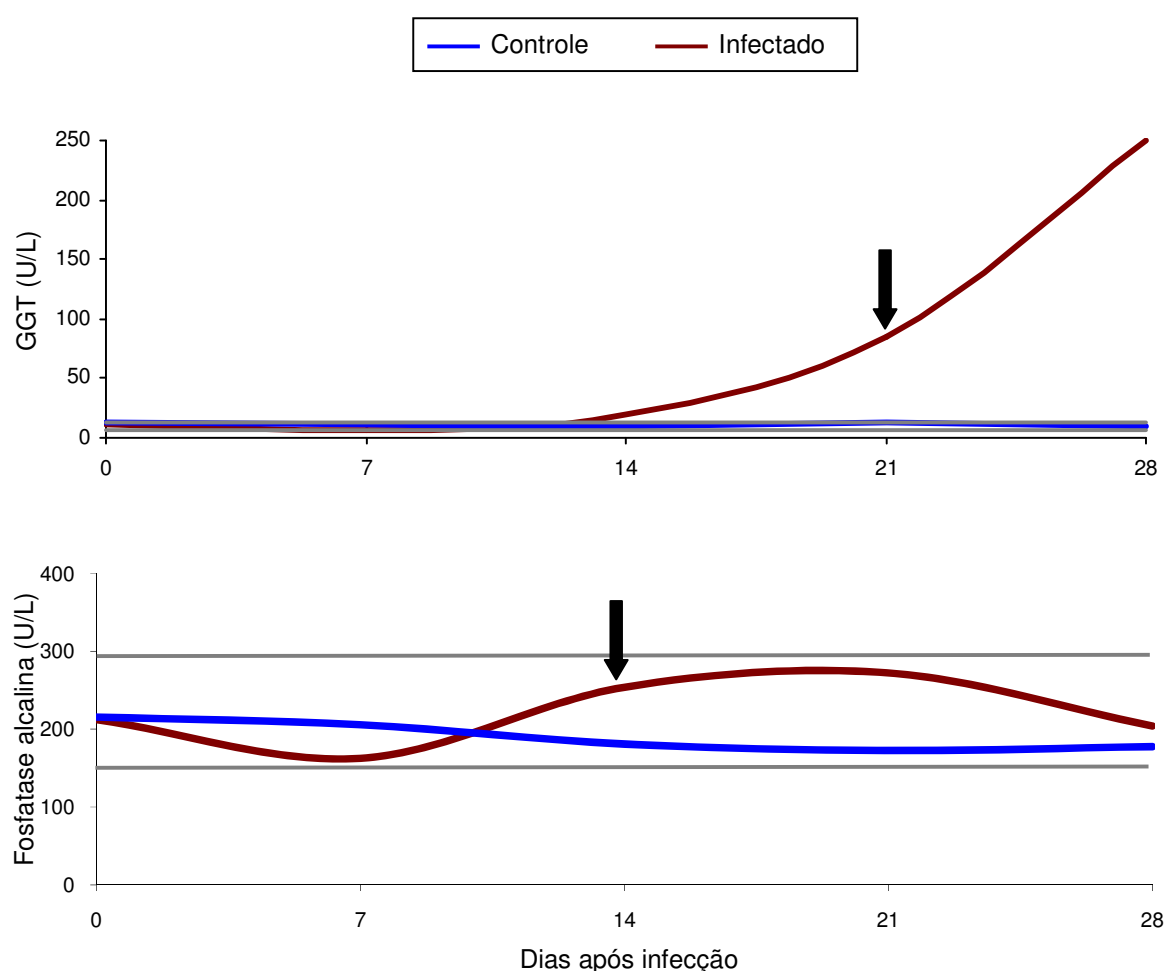
Prancha 6- Concentração média de colesterol ligado ao LDL, lipídio total hepático e glicose em coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

A bilirrubinemia observada no grupo infectado ocorreu pelo aumento da bilirrubina direta (Prancha 7) decorrente da lise de eritrócitos no 21^o dai mostrando a capacidade do fígado em conjugar ácido glicurônico à bilirrubina evidenciando a permanência de algumas funções hepáticas mesmo quando o órgão encontra-se lesionado. Na pesquisa desenvolvida por ÇAM et al. (2008), os animais infectados não apresentaram alterações nos níveis de glicose, proteínas totais e globulinas, tendo redução nas concentrações de albumina no 24^o dai ocasionada pela degeneração hepática decorrente da infecção.



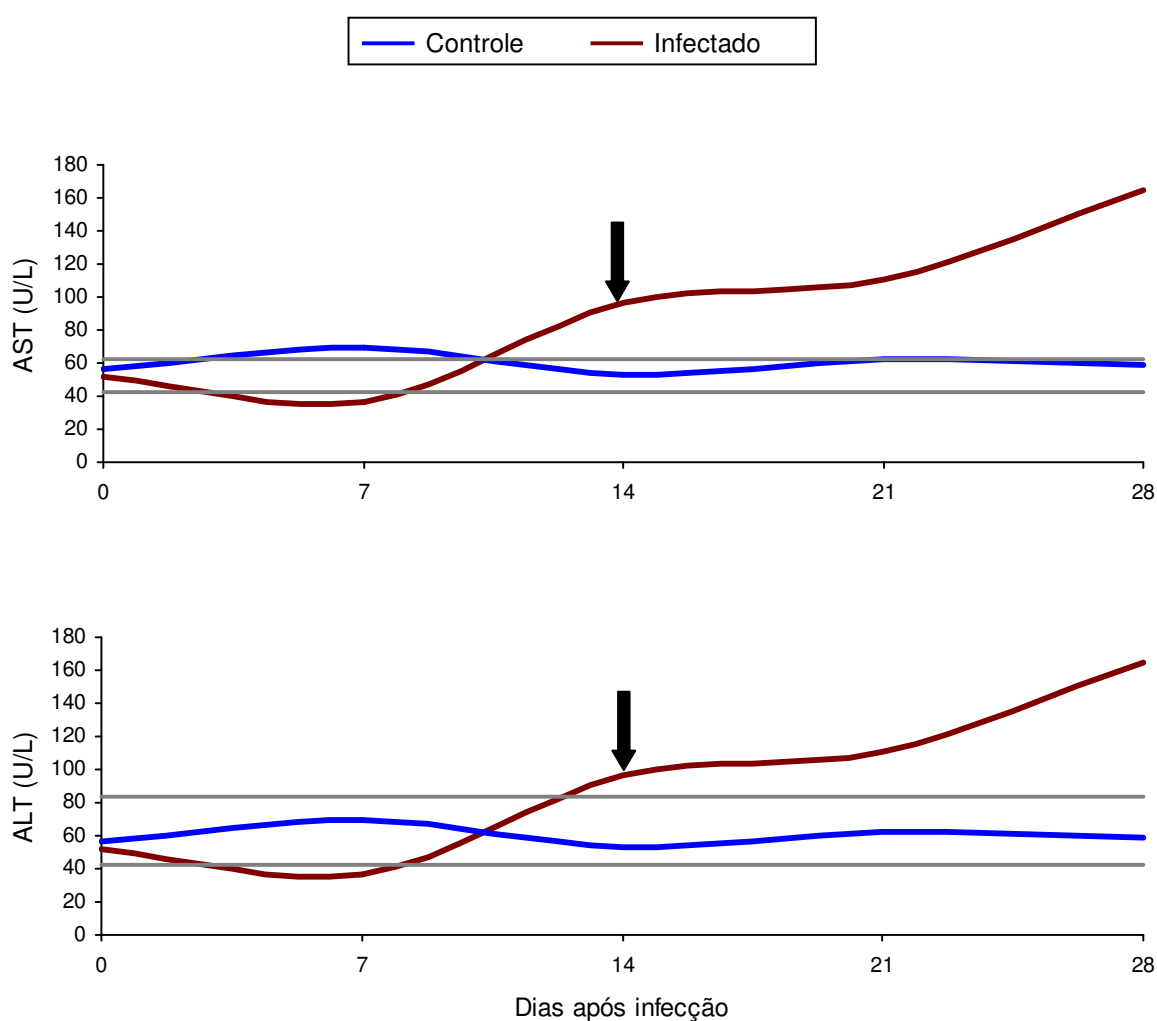
Prancha 7- Concentração média de bilirrubina total, bilirrubina direta e bilirrubina indireta no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

Os valores de gama-glutamilttransferase (GGT) aumentaram significativamente a partir do 21º daí, permanecendo elevados até o 28º dai acima dos valores normais para a espécie ocorrendo, possivelmente, devido a um quadro de colestase (HEIN e LAMMLER, 1978; JOYNER et al., 1983). Nesse período, as concentrações de fosfatase alcalina (FA) elevaram-se significativamente em relação ao grupo controle após o 14º dai, porém permaneceram dentro dos valores normais (Prancha 8).



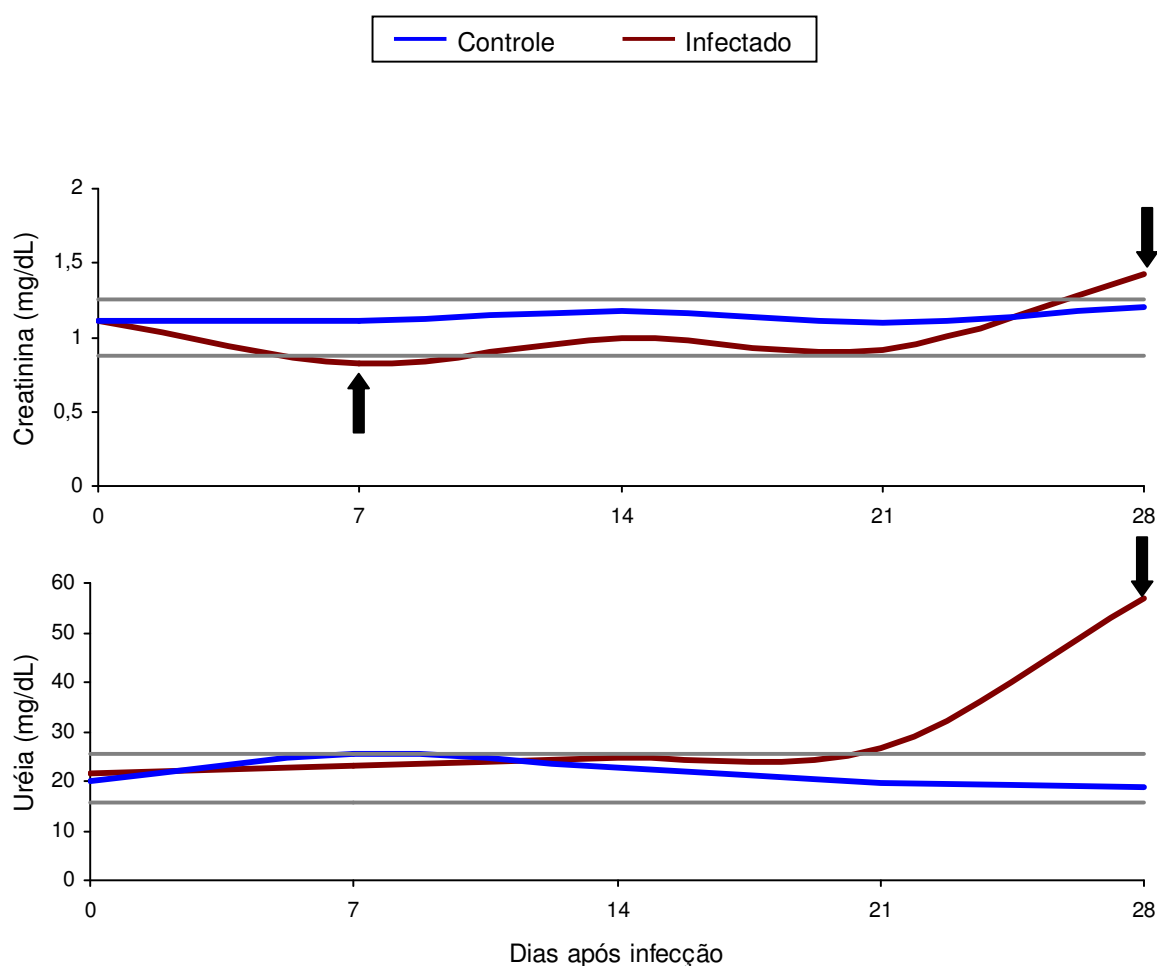
Prancha 8- Concentração média de gamaglutamilttransferase (GGT) e fosfatase alcalina no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

As concentrações de alanino aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) que, inicialmente encontraram-se reduzidas, possivelmente, devido a algum efeito inibitório exercido pelo parasito sobre as células hepáticas, tiveram seus valores elevados à partir do 14º dia permanecendo até o final do período experimental (Prancha 9), sendo decorrente do dano hepatocelular (SAN MARTIN NUNEZ et al., 1988).



Prancha 9- Concentração média de aspartato aminotransferase (AST) e alanino aminotransferase (ALT) no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

A creatinina e uréia aumentaram seus valores somente no último dia experimental (Prancha 10). As concentrações de uréia aumentaram no soro significativamente no 28º dai devido ao aumento do catabolismo protéico e uma deficiência renal em excretar uréia; nos soro dos animais infectados, os níveis de fosfatase alcalina elevaram-se em relação ao grupo controle, porém permaneceram em valores considerados normais. Na pesquisa desenvolvida por ÇAM et al. (2008), observaram-se elevações nas concentrações de GGT, ALT e AST no 16º dai permanecendo até o 24º dai que corresponde ao término do período experimental.



Prancha 10- Concentração média de creatinina e uréia no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

O proteinograma evidenciou 19 proteínas de fase aguda, porém 10 foram identificadas apenas pelo peso molecular. Não houve elevações nas concentrações de proteínas com peso molecular de 101 kD e 238 kD e na glicoproteína IgG no grupo infectado, sendo este último resultado já esperado, pois a resposta por anticorpo não é eficiente contra parasitos do gênero *Eimeria*. As proteínas com peso molecular 115 kD, 175 kD e 30 kD, a imunoglobulina A e a albumina não apresentaram alterações significativas. As proteínas com peso molecular de 24 kD, 26 kD, 27 kD, 30 kD, 32 kD e 206 kD elevaram-se significativamente em relação ao grupo controle, porém esse aumento não ocorreu de forma progressiva conforme observado na ceruloplasmina e transferrina (Prancha 11 a 17).

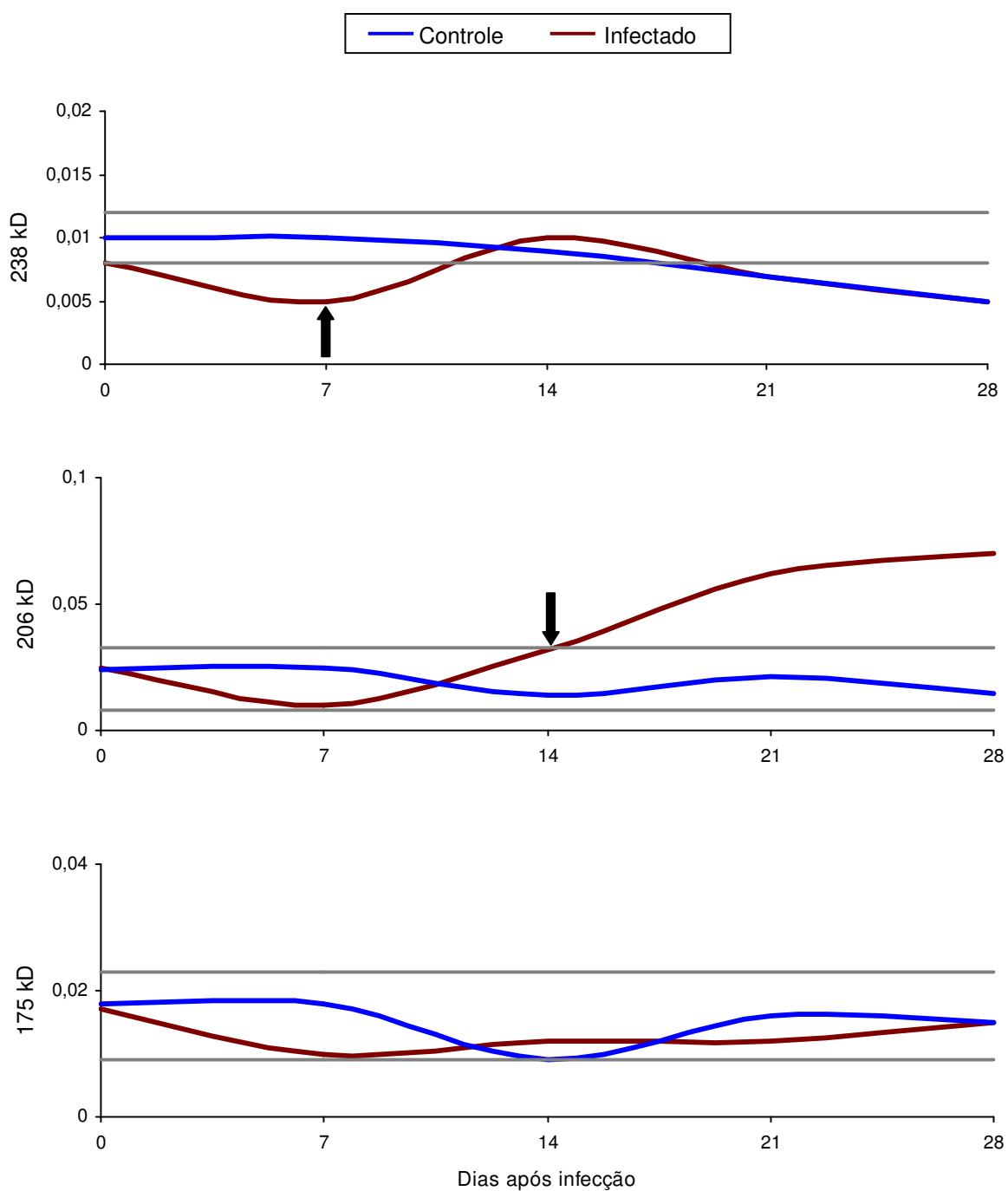
No grupo infectado, a ceruloplasmina elevou-se a partir do 7º dai, permanecendo com concentrações aumentadas até o 28º dai. A ceruloplasmina é liberada na circulação sangüínea imediatamente após a instalação do processo inflamatório (CONNER et al., 1988) decorrente de agentes infecciosos e parasitários (JAIN, 1993), sendo encontrada em níveis 1,4 vezes maior do que no momento anterior ao dano tecidual (GANROT, 1973). A transferrina elevou-se a partir do 7º dai e assim permaneceu até o final do período experimental, sugerindo uma carência de ferro quando associada com anemia microcítica normocrônica observada nos animais do presente experimento. Os sinais de insuficiência de ferro aparecem em etapas: primeiro se esgotam os depósitos (deficiência latente), caracterizado por uma diminuição da ferritina sérica; se o aporte continuar insuficiente, ocorre o comprometimento do aporte de ferro tissular (eritropoese deficiente em ferro), que se caracteriza, precocemente, por um aumento nos receptores da transferrina e, mais

tarde, por uma diminuição na saturação dessa transferrina. Finalmente, se persistir o balanço negativo, observa-se a etapa mais severa, caracterizada por uma anemia microcítica hipocrômica (OLIVARES e WALTER, 2004). Logo, o aumento da transferrina observado nos coelhos, ao final deste estudo, sugere que os animais encontram-se na segunda fase e que, posteriormente, pode ocorrer uma anemia ferropriva com microcitose e hipocromia.

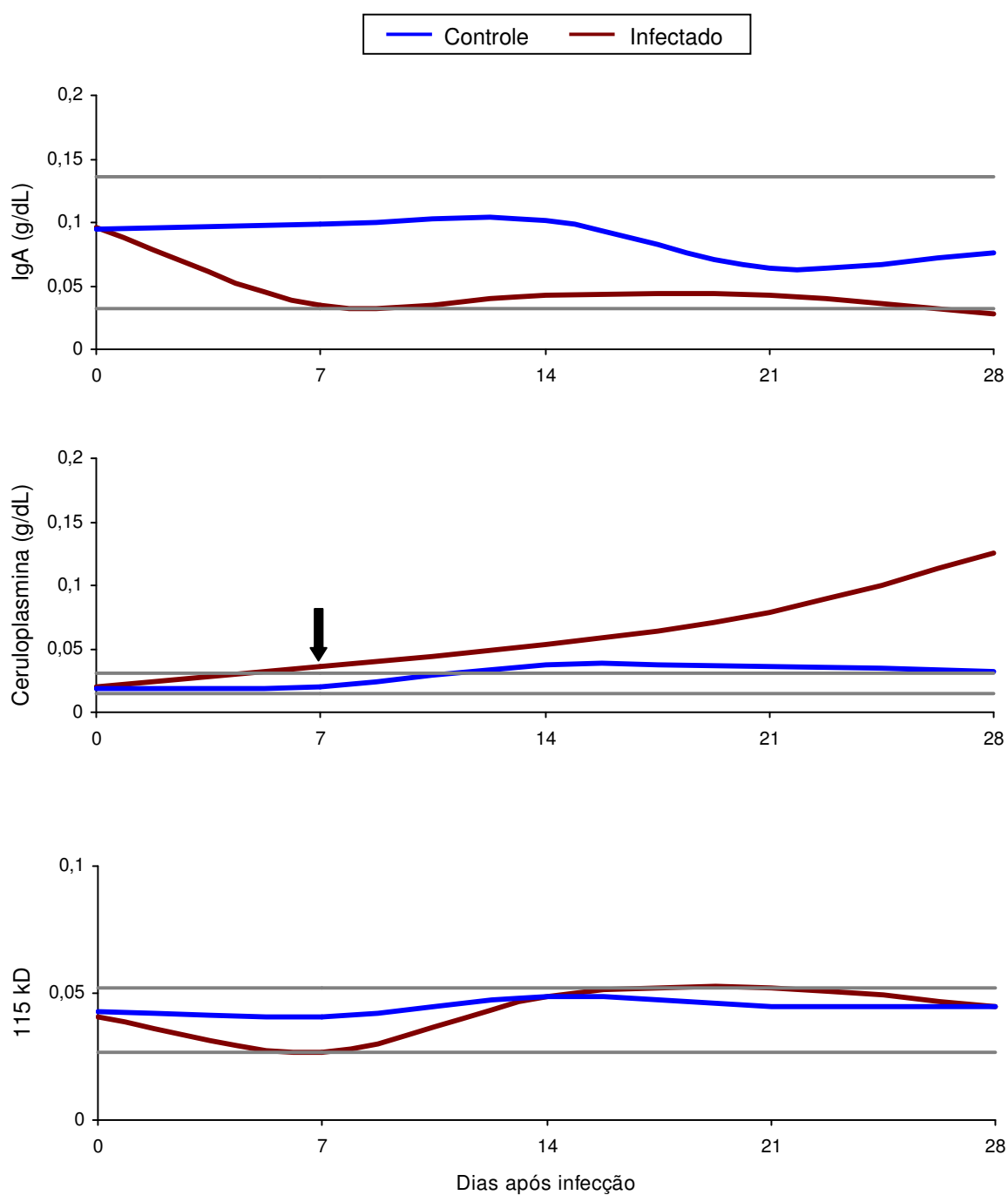
A glicoproteína ácida e haptoglobina apresentou-se elevada no 14º e 28º dia. A haptoglobina é uma alfa-2-proteína, responsável pelo transporte de hemoglobina nas células do sistema mononuclear fagocitário para que haja a recuperação do íon ferro durante o processo de hemocaterese e na defesa contra microorganismos. Outros efeitos propostos incluem a modulação da função de linfócitos e macrófagos e a inibição da atividade da catepsina (HARVEY e WEST, 1987). A concentração da haptoglobina aumenta em processos inflamatórios agudos, estresse e, às vezes, durante processos neoplásicos recentes (CORAZZA, 1997).

Em relação às proteínas da fase aguda é importante reconhecer que se elevam nos animais em diferentes patologias, tendo pouca especificidade diagnóstica para determinar a causa, portanto, não é usada como diagnóstico primário (CERÓN et al., 2005). Entretanto, tem alta sensibilidade na determinação de inflamações ou infecções subclínicas. No trabalho realizado por OHWADA e TAMURA (1995), foi possível identificar cães com parvovirose duas semanas antes do surgimento dos sinais clínicos, por meio do aumento da glicoproteína ácida. Estudos como esse têm permitido sugerir, de acordo com a proteína da fase aguda que se altera, o tipo de infecção que está ocorrendo. Em cães, esses trabalhos já são abundantes, conhecendo-se as proteínas

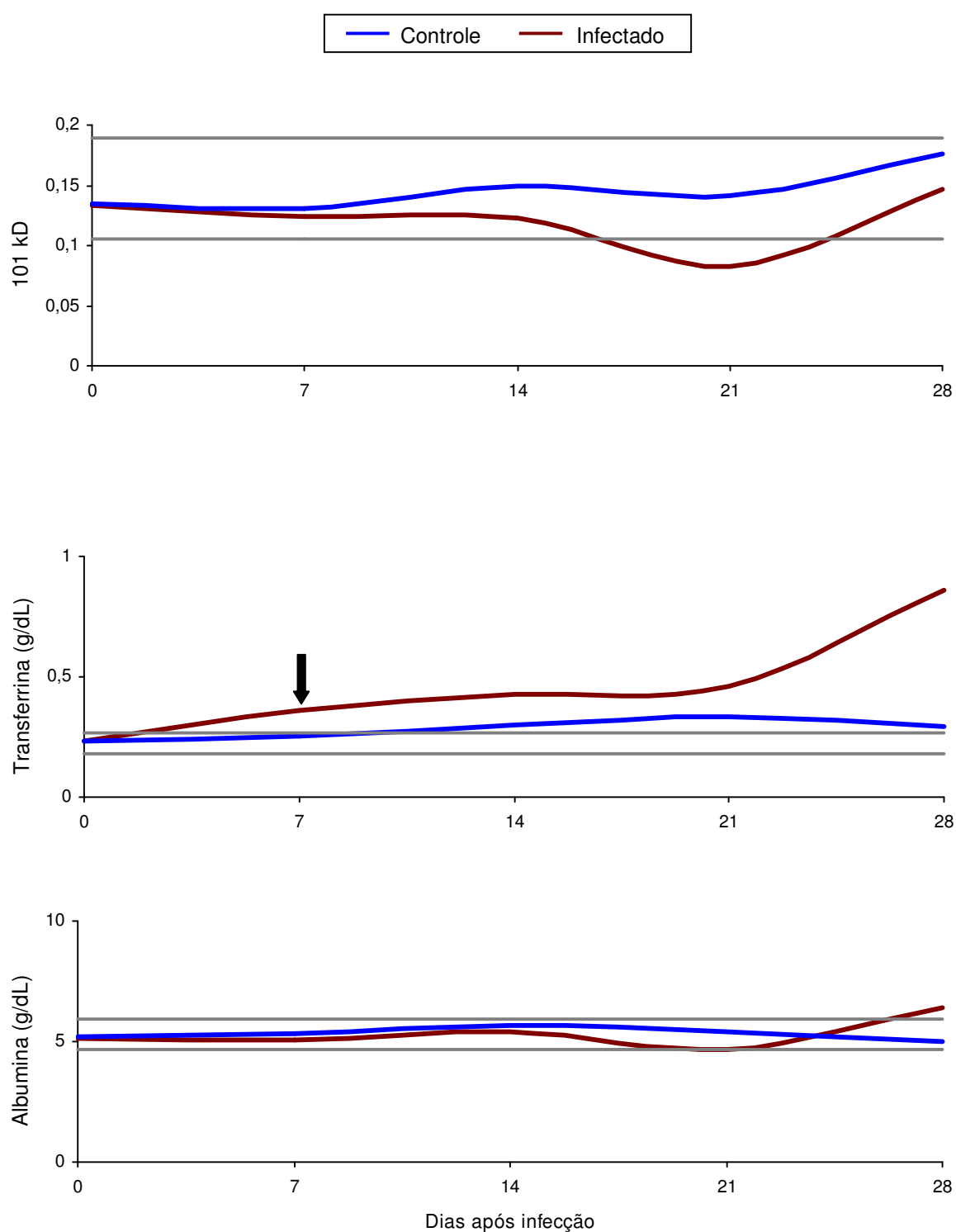
que elevam-se babesiose, leishmaniose, parvovirose e nas infecções por *Bordetella bronchiseptica*, *Ehrlichia canis* e *Escherichia coli*, podendo entrar com o tratamento antes do agravamento do quadro clínico (CERÓN et al., 2005). Também FAGLIARI et al. (2003) observaram o aumento de ceruloplasmina, α 1-antitripsina, haptoglobina e glicoproteína ácida após duas horas da infecção em bezerros com *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*, sugerindo o uso das dosagens dessas proteínas para detecção da doença pré-clínica.



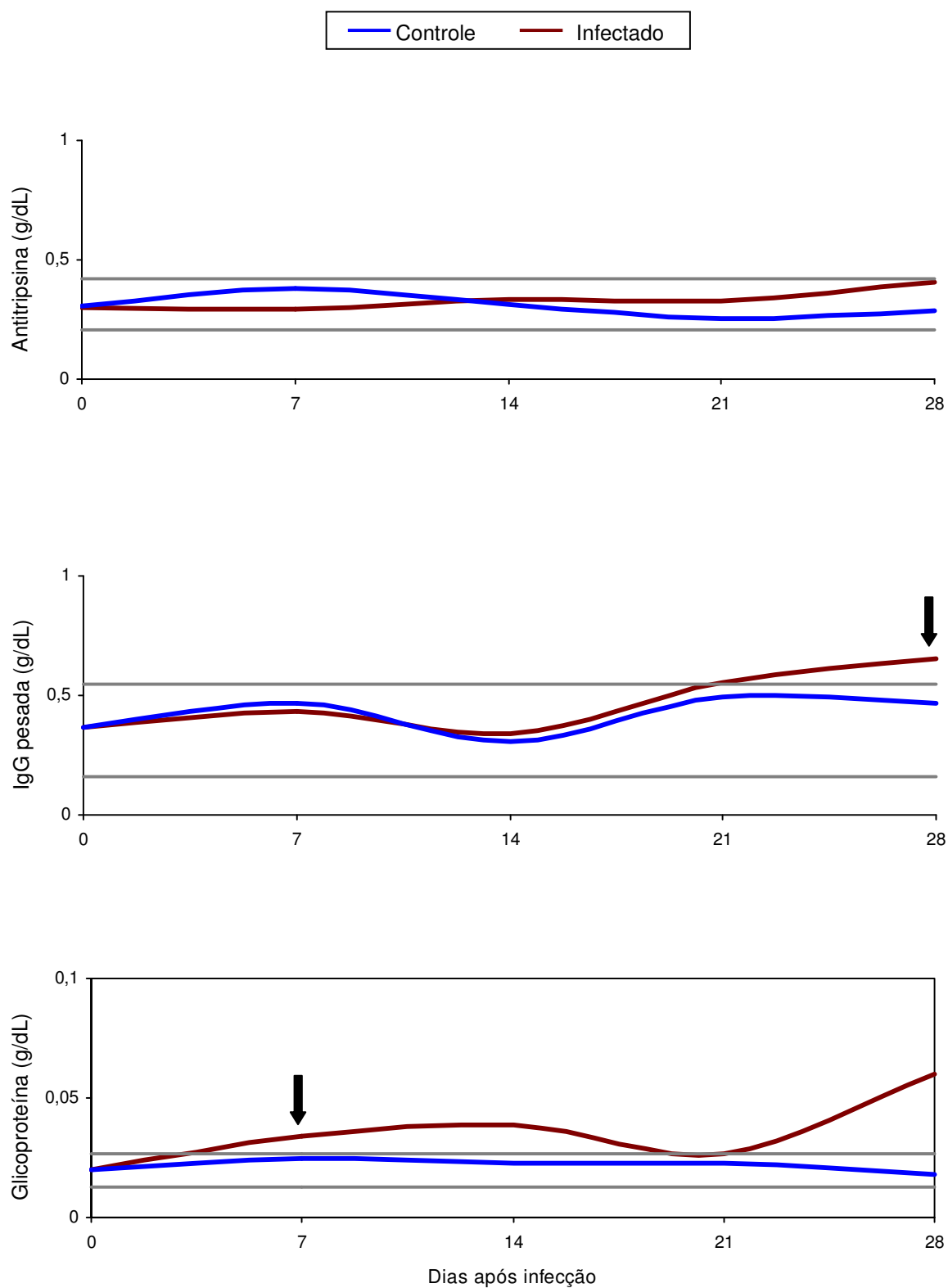
Prancha 11- Concentração média de proteínas de peso molecular 238 kD, 206 kD e 175 kD no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.



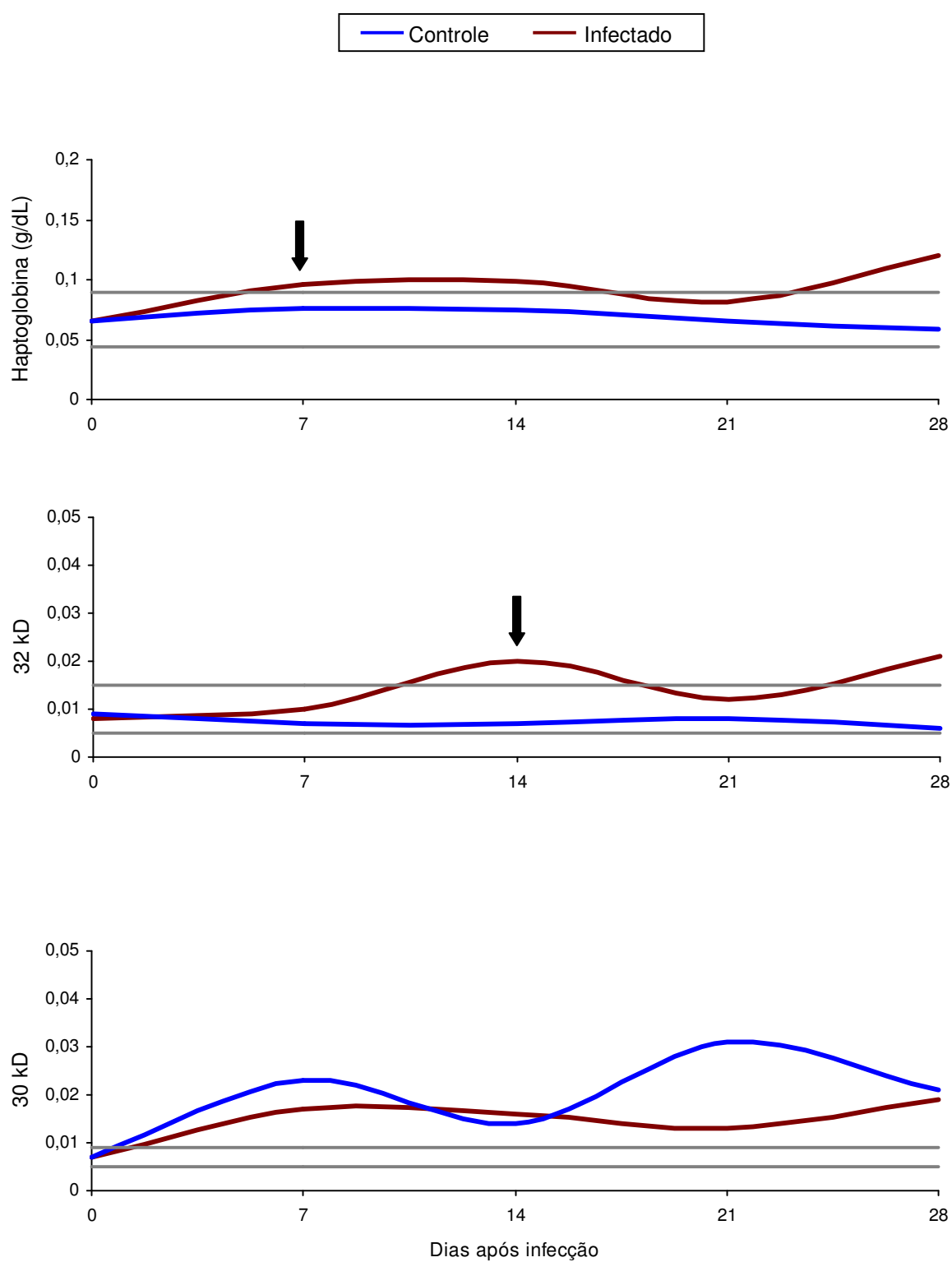
Prancha 12- Concentração média de IgA, ceruloplasmina e proteína de peso molecular 115 kD no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.



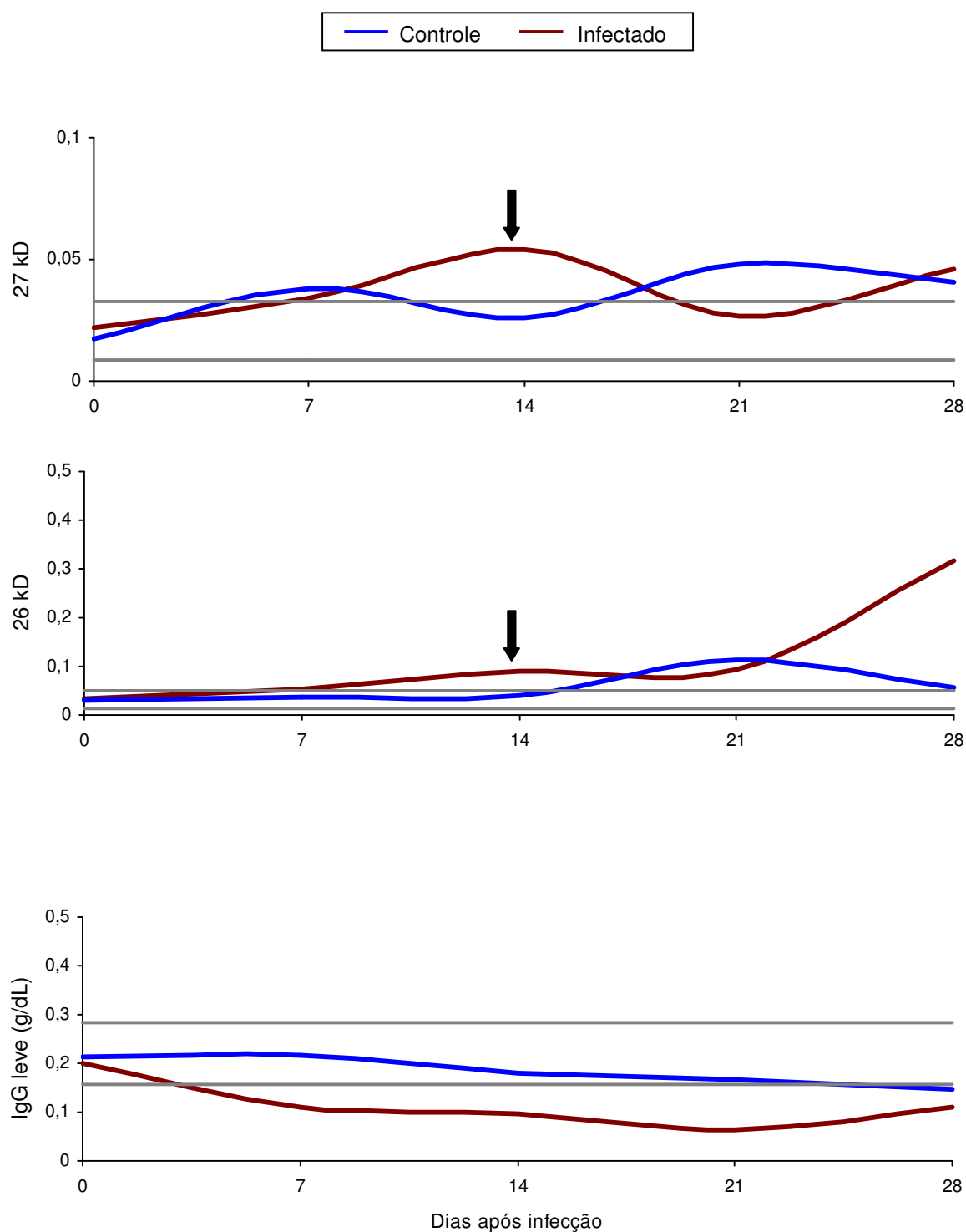
Prancha 13- Concentração média de proteína de peso molecular 101 kD, transferrina e albumina no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.



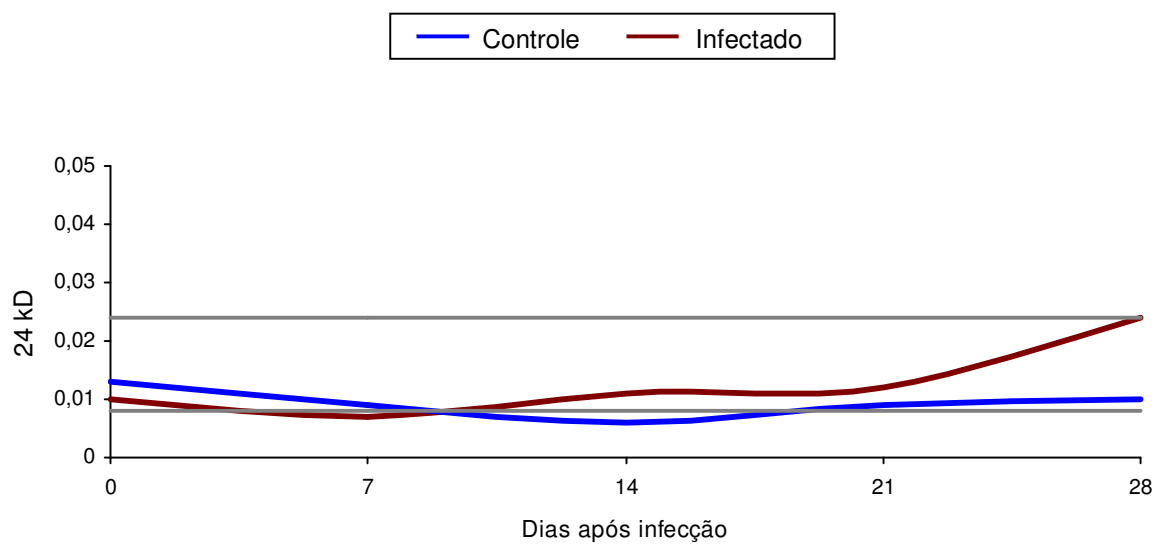
Prancha 14- Concentração média de antitripsina, IgG de cadeia pesada e glicoproteína ácida no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.



Prancha 15- Concentração média de haptoglobina e proteínas de peso molecular 32 kD e 30 kD no soro coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.



Prancha 16- Concentração média de proteínas de peso molecular 27 kD, 26 kD e IgG de cadeia leve no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.



Prancha 17- Concentração média de proteína de peso molecular 24 kD no soro de coelhos experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008.

Os animais eutanasiados no 28º dia apresentaram marcante distensão abdominal que ocorreu devido à presença de líquido na cavidade, sendo confirmado após a incisão na parede abdominal. Os animais infectados apresentaram considerável hepatomegalia associada com congestão e fibrose em diferentes graus de evolução (Figura 1), tendo ainda espessamento da parede da vesícula biliar e grande quantidade de líquido biliar de coloração verde-clara. Ao realizar um corte transversal no lobo hepático verificou-se considerável rigidez e nódulos no parênquima hepático. Houve ainda meteorismo intestinal e presença de conteúdo intestinal de coloração esverdeada (Figura 2). A infecção por *Eimeria stiedae*, possivelmente, ocasionou um aumento nas concentrações de TNF- α contribuindo para redução da ação da lipase lipoproteica endotelial responsável pela quebra de lipoproteínas no soro e auxiliando no processo de regeneração hepática, sendo um possível fator contribuinte para formação dos nódulos hepáticos nos animais infectados. As citocinas estão envolvidas, entre várias funções, e de forma diversa, na resposta inflamatória de pacientes que recebem carga adicional de toxinas por diversos microorganismos. A citocina fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) está envolvida na regeneração hepática quando o hospedeiro entra em contato com agentes que possam danificar o fígado estimulando a regeneração hepática, que em última análise pode participar no mecanismo de defesa desse hospedeiro contra toxicinas e/ou infecções (CALLERY, KAMEI e FLYE, 1991; KIMURA, 1997). Essa citocina desempenha papel crucial na formação do granuloma esquistossomótico e seus altos níveis estão associados a um aumento de risco na fibrose porta esquistossomótica (HASEEB, SHIRAZIAN e PREIS, 2001; JESUS et al., 2002).

Nos animais eutanasiados no 28º dai, observou-se hiperplasia de ductos biliares com dilatação da luz. As projeções intra-luminais dos ductos eram papilíferas com intensa presença de mitose, havendo presença marcante de estruturas parasitárias do protozoário dentro das células e na luz do ducto. Ao redor dos ductos e no espaço-porta foram encontrados proliferações de tecido conjuntivo (em torno de seis camadas) e infiltrado celular inflamatório mononuclear (Figura 3). Houve ainda congestão hepática e degeneração vacuolar moderada dos hepatócitos. O baço apresentou hiperplasia linfóide folicular e infiltrado de células inflamatórias na polpa vermelha em moderada quantidade (Figura 4); os rins não apresentaram alterações macroscópicas, mas acredita-se que a reprodução parasitária interferiu em sua capacidade de excretar uréia no último dia experimental, porém não foi realizado exame histopatológico do referido órgão. Diversos autores já relataram efeitos patológicos e fisiológicos ocasionados por coccídios em vários hospedeiros, sendo encontradas lesões em diferentes órgãos do corpo de acordo com a espécie do gênero *Eimeria* envolvida na infecção (GÓMEZ-BAUTISTA, ROJO-VAZQUEZ e ALUNDA, 1987; CARDOSO e GUIMARÃES, 1993; HOBBS e TWIGG, 1998). As lesões hepáticas observadas no presente trabalho são semelhantes às encontradas por outros autores (KHALIFA, EL-ELYANI e TOULAH, 1998; AL-MATHAL, 2008; ÇAM et al., 2008), ressaltando-se que no parasitismo por *E. stiedae* essas lesões afetam o metabolismo hepático e, conseqüentemente, provocam um atraso no crescimento e, ocasionalmente, a morte do animal infectado. Ao utilizar a mesma dose infectante, MARTINE e YVORÉ (1974) observaram bilirrubinemia somente no 20º e 22º dai, enquanto que BARRIGA e ARNONI (1979 e 1981) observaram bilirrubinemia a partir do 22º dai permanecendo até o 50ºdai. No 14º dai, as

concentrações séricas de AST e ALT aumentaram significativamente permanecendo até o 28º dai, sendo semelhantes aos resultados obtidos por BARRIGA e ARNONI (1979 e 1981). Na pesquisa desenvolvida por MARTINE e YVORE (1974) observou-se que a AST aumentou consideravelmente no 11º dai diferindo dos dados obtidos na presente pesquisa. Este resultado foi também obtido por POTTER e DICK (1979) ao estudarem a atividade das enzimas do soro, aspartato-amino-transferase e fosfatase alcalina, em coelhos infectados por este mesmo parasito. GOMES-BAUTISTA et al. (1987), observaram aumento transitório nas concentrações de ALT no soro de coelhos infectados com *E. stiedae* entre 10 e 28 dai atribuindo essa alteração ao processo inflamatório nos ductos biliares. ABDEL-GHAFFAR et al. (1990) também observaram elevados níveis de AST e ALT no soro de coelhos no 23º dai, porém os níveis de fosfatase alcalina permaneceram normais.

Na presente pesquisa, é importante ressaltar que o aumento das transaminases está relacionado com a extensão e gravidade da lesão, caracterizando a coccidiose hepática como uma doença de caráter crônico devido ao tempo que essas enzimas permaneceram elevadas no organismo. A bilirrubinemia, associada ao aumento das enzimas séricas, sugere que o parasita ocasionou lesão hepática e colestase, sendo esta última resultante de disfunção hepatocelular ou obstrução biliar associada com elevações séricas de fosfatase alcalina, pois essa enzima está presente no epitélio dos ductos biliares e na membrana canicular dos hepatócitos ocasionando acúmulo de pigmento biliar dentro do parênquima hepático causando dilatação dos canalículos biliares e degeneração dos hepatócitos. A obstrução prolongada da árvore biliar induziu

a distensão e proliferação dos ductos biliares nos tratos portais, com edema e neutrófilos periductulares ocasionando fibrose do trato portal.

O citoplasma do hepatócito é rico em ALT e a lesão hepatocelular causada pelo parasito resulta na liberação dessa enzima em maior quantidade para o sangue. De acordo com HANADA et al. (2003), o aumento na atividade de ALT está associado com o dano decorrente da citólise dos hepatócitos e aumento da GGT que, em níveis elevados, caracteriza obstrução dos ductos biliares. ABDEL-GHAFFAR et al. (1990) relata que elevações nas atividades enzimáticas, particularmente nas enzimas hepáticas, é um importante parâmetro no diagnóstico de doenças hepáticas, ressaltando que um aumento dessas enzimas do soro pode indicar não somente lesões patológicas como também degenerativas dos tecidos envolvidos. De acordo com HANADA et al. (2003), o parasito penetra nas células hepatobiliares de coelhos causando intensiva colestase e cirrose hepática. Segundo GUTIERREZ (2003), os parasitos ao penetrarem no epitélio biliar provocam destruição das células parasitadas ocasionando uma forte reação inflamatória e proliferação celular, sendo observado anteriormente por BARRIGA e ARNONI (1981) aumento da massa hepática de acordo com a dose infectante. Na pesquisa desenvolvida por HANADA et al. (2003), observaram-se merozoítos nas células dos ductos biliares e neutrófilos na submucosa dos ductos biliares no 8^o dia. GUTIERRES (2003), também relata que animais infectados por *E. stiedae* apresentam espessamento dos ductos biliares, hepatomegalia, cirrose hepática, aumento da vesícula biliar, presença de bile de coloração amarelada e meteorismo intestinal.

A cirrose hepática e ascite ocasionam hipertensão intra-hepática (resistência aumentada ao fluxo de sangue portal) contribuindo para o processo de congestão

observado macro e microscopicamente. Nos seres humanos, alterações semelhantes são observadas em pacientes com doenças hepáticas crônicas, tais como cirrose, fibrose hepática congênita, colangite esclerosante e cirrose biliar primária (GREENWEL et al., 1994; GARCÍA-TSAO 1995; JASKIEWICZ e HALL, 1995; KIRSCH, BARS e ARIAS, 1995).

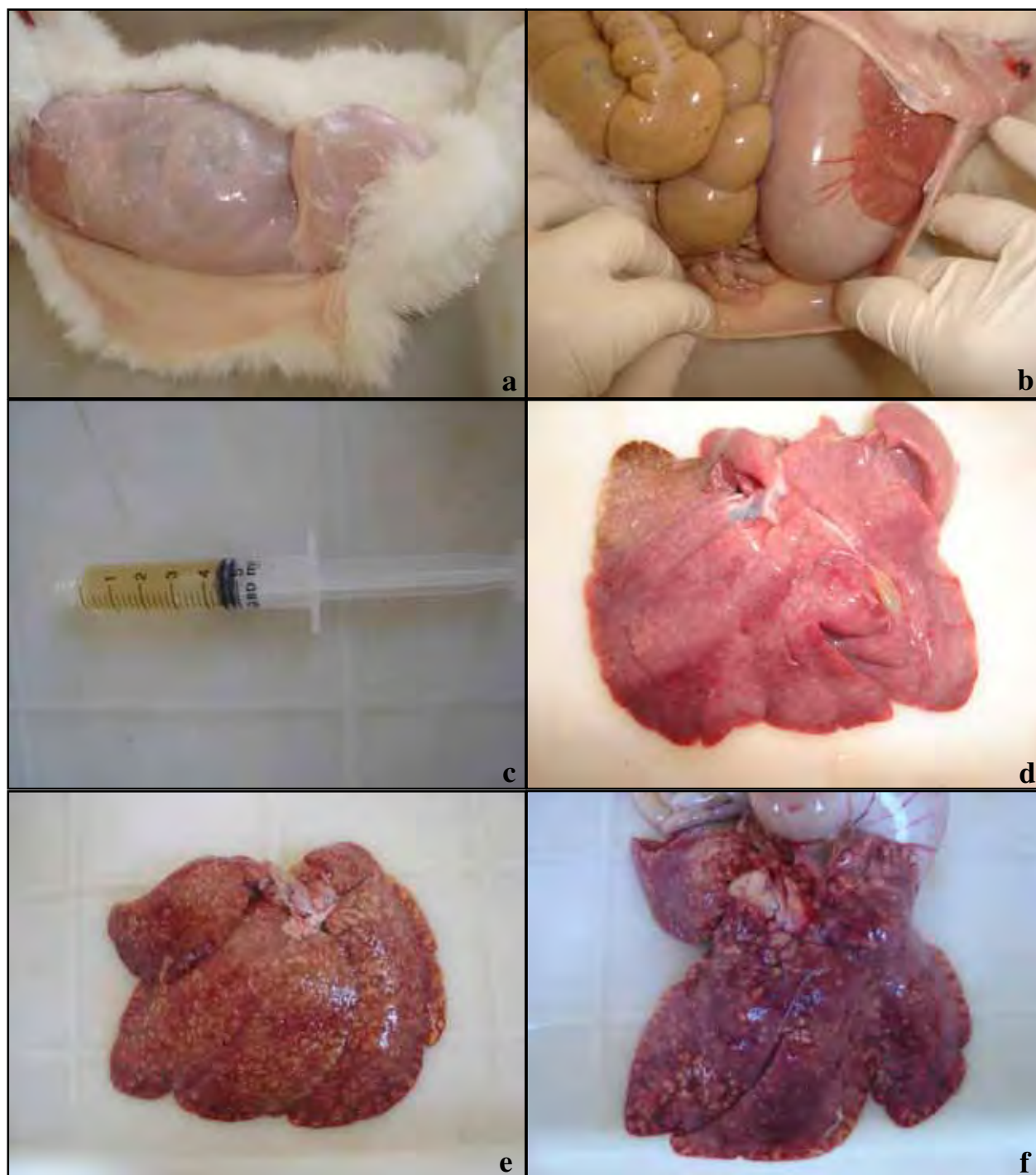


Figura 2- Alterações macroscópicas observadas em coelhos infectados experimentalmente com oocistos de *E. stiedae*, Jaboticabal, 2008. a) Distensão abdominal no 14º dai. b) Presença de líquido na cavidade abdominal no 14º dai. c) Líquido aspirado da cavidade abdominal de um coelho infectado no 14º dai. d-f) Diferentes graus de congestão e fibrose hepática no 28º dai.

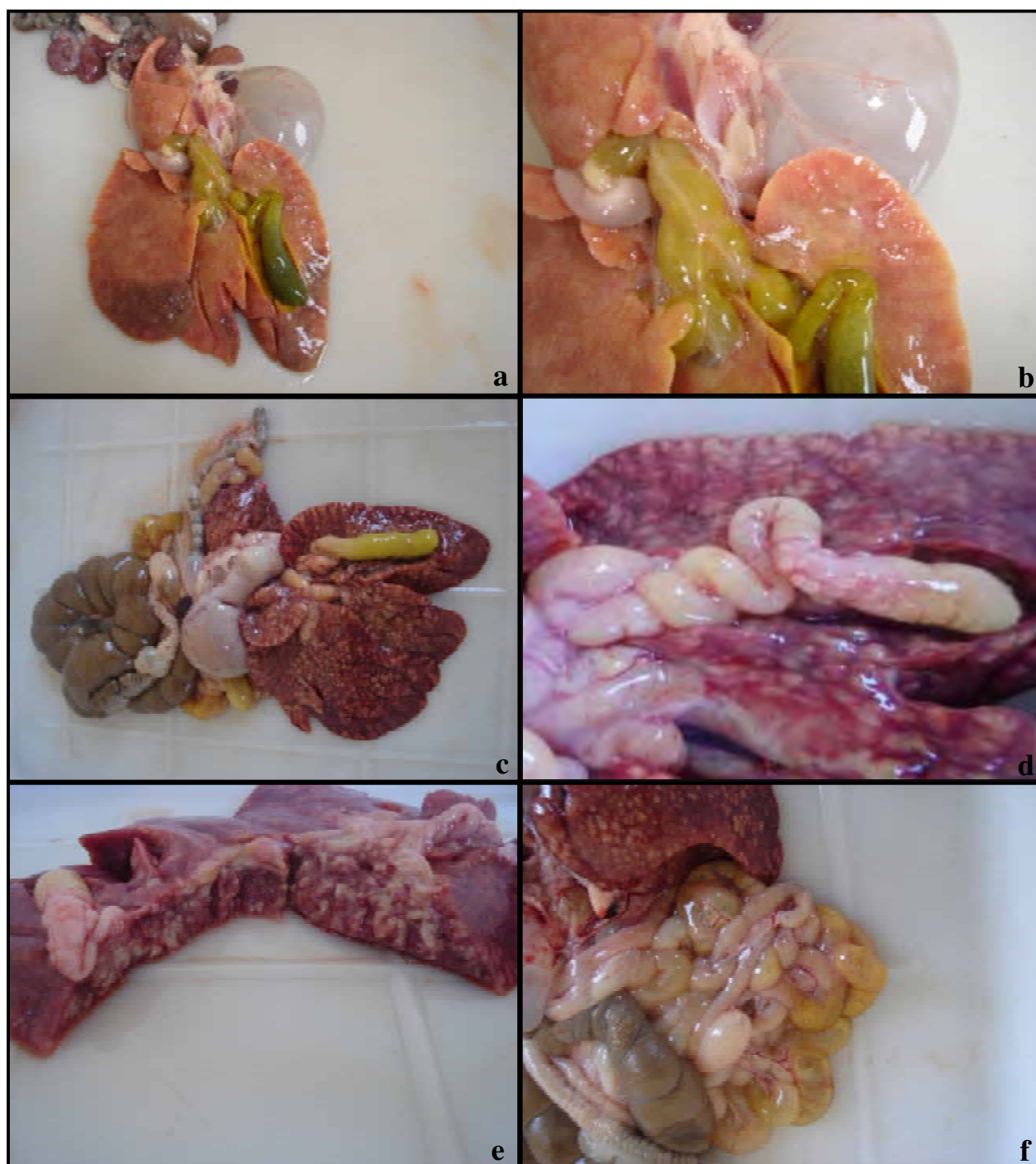


Figura 3- Alterações macroscópicas observadas em coelhos infectados experimentalmente com oocistos de *E. stiedae*, Jaboticabal, 2008. a-b) Congestão hepática e retenção de líquido biliar no 14º dai. c) Fibrose e congestão hepática no 28º dai. d) Fibrose da vesícula biliar no 28º dai. e) Nódulos no parênquima hepático no 28º dai. f) Acúmulo de gases no lúmen intestinal no 28º dai.

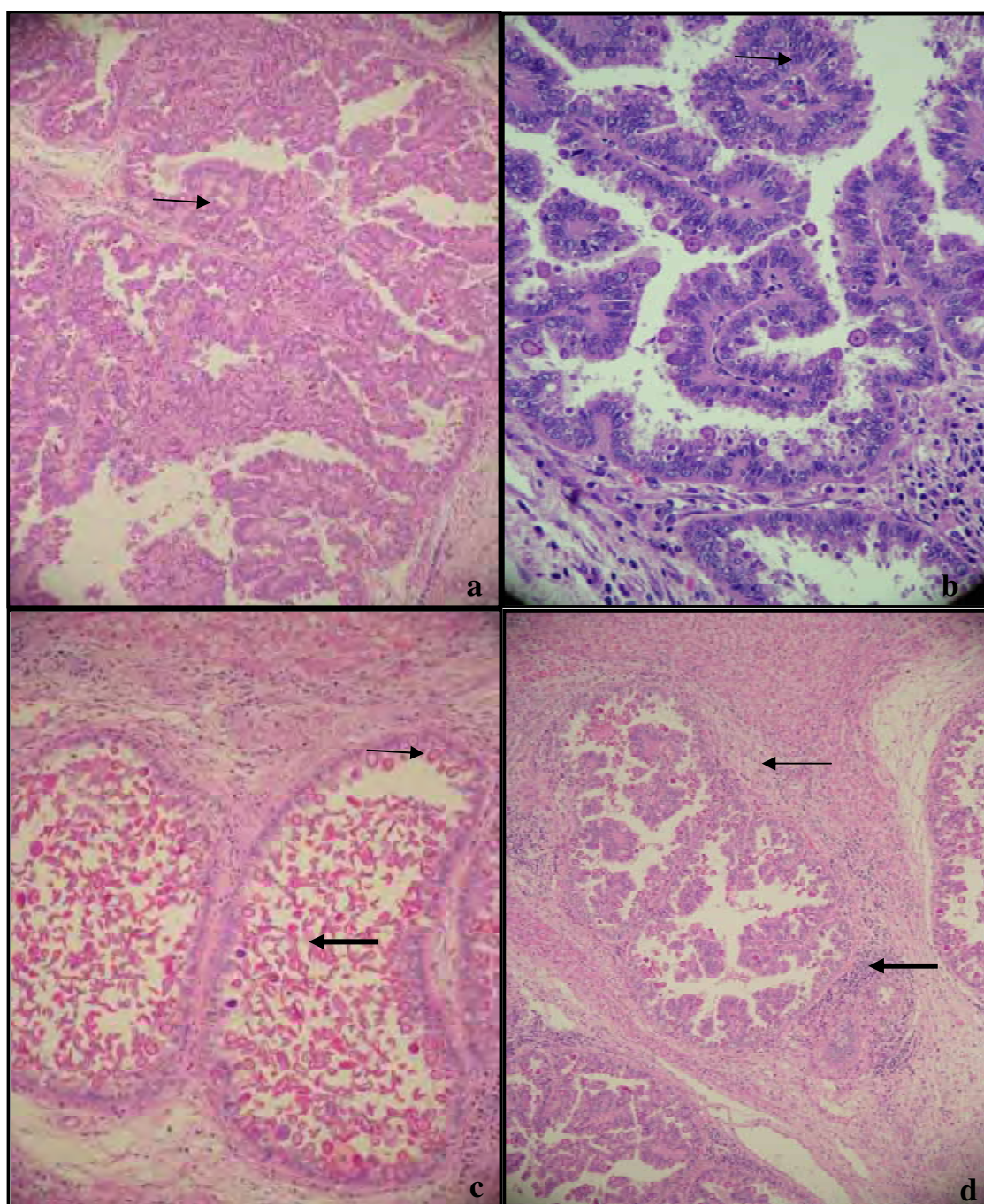


Figura 4- Alterações microscópicas observadas no 28 dai em coelhos infectados experimentalmente com oocistos de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008. a) Hiperplasia de ductos biliares (seta). H. E., 100x. b) Intensa atividade mitótica nos ductos biliares (seta). H. E., 200x. c) Grande quantidade de zigotos em células (seta fina) e oocistos no lúmen (seta espessa) dos ductos biliares (setas). H. E., 400x. d) Presença de tecido conjuntivo (seta fina) e infiltrado inflamatório mononuclear (seta espessa) em torno de ductos biliares. H. E., 100x.

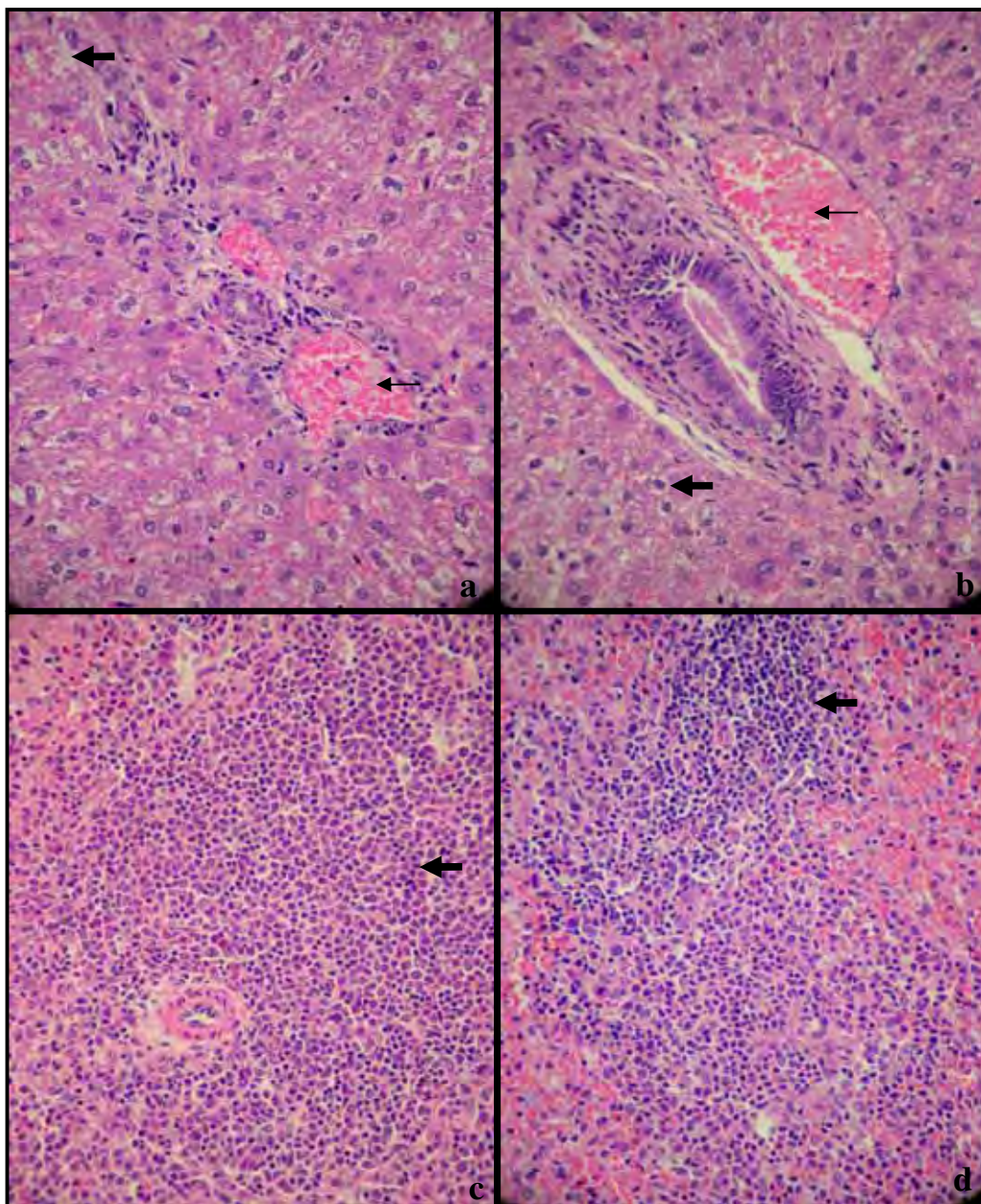


Figura 5- Alterações microscópicas observadas no 28º dai em coelhos infectados experimentalmente com oocistos de *Eimeria stiedae*, Jaboticabal, 2008. a-b) Congestão hepática (seta fina) e degeneração vacuolar dos hepatócitos (seta espessa). H. E., 400x. c) Hiperplasia folicular linfóide (seta espessa). H. E., 400x. d) Infiltrado de células inflamatórias na polpa vermelha esplênica (seta espessa). H. E., 400x.

V. CONCLUSÕES

Coelhos infectados experimentalmente com 1×10^4 oocistos esporulados de *Eimeria stiedae* tiveram cirrose hepática que afetou o funcionamento normal do referido órgão alterando o metabolismo de proteínas e lipídios e possibilitando detectar elevações na síntese de proteínas de fase aguda sinalizadoras do processo inflamatório.

VI. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABDEL-GHAFFAR, F.; MARZOUK, M.; ASHOUR, M. B.; MOSAAD, M. N. Effects of *Eimeria labbeana* and *E. stiedai* infection on the activity of some enzymes in the serum and liver of their hosts. **Parasitology Research**, v.76, n.1, p.440-443, 1990.

AEC. **Recomendações para nutrição animal**. 5.ed. Rhône-Poulenc Animal Nutrition, 1987. 86p.

ALAIN, C. A.; POON, L. S.; CAHN, C. S. G.; RICHMOND, W.; FU, P. C. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clinical Chemistry**, v.20, n.1, p.470-475, 1974.

AL-MATHAL, E. M. Hepatic coccidiosis of the domestic rabbit *Oryctolagus domesticus* L. in Saudi Arabia. **World Journal of Zoology**, v.3, n.1, p.30-35, 2008.

ARNONI, J. V. **Prevalência e aspectos patológicos da coccidiose hepática em *Oryctolagus cuniculus* em Pelotas, RS**. 1978.73f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1978.

ASHEN, M. D.; BLUMENTHAL, R. S. Low HDL-cholesterol levels. **New England Journal Medicine**, v.352, n.12, p.1252-1260, 2005.

BARRIGA, O. O.; ARNONI, J. V. *Eimeria stiedae*: weight, oocyst output, and hepatic function of rabbits with graded infections. **Experimental Parasitology**, v.48, n.1, p.407-414, 1979.

BARRIGA, O. O.; ARNONI, J. V. Pathophysiology of hepatic coccidiosis in rabbits. **Veterinary Parasitology**, v.8, n.1, p.201-210, 1981.

BAUMANN, H.; GAULDIE, J. The acute phase response. **Immunology Today**, v.15, n.2, p.74-80, 1994.

BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A.; Fisiologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004, 1082p.

BHAT, T. K.; JITHENDRAN, K. P.; KURADE, N. P. Rabbit coccidiosis and its control: a review. **World Rabbit Science**, v.4, n.1, p.37–41, 1996.

BLIGH, E. J.; DYER, N. J. Rapid method of total lipid extract purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology**, v.37, n.1, p. 911-917, 1959.

CALLERY, M. P.; KAMEI, T.; FLYE, M. W. Kupffer cell tumor necrosis factor-alpha production is suppressed during liver regeneration. **Journal Surgical Research**, v.50, n.5, p.515-519, 1991.

ÇAM, Y.; ATASEVER, A.; ERASLAN, G.; KIBAR, M.; ATALAY, O.; BEYAZ, L.; INCI, A.; LIMAN, B. C. *Eimeria stiedae*: Experimental infection in rabbits and the effect of treatment with toltrazuril and ivermectin. **Experimental Parasitology**, v.119, n.1, p.164–172, 2008.

CARDOSO, M. A.; GUIMARÃES JÚNIOR, J. S. Ocorrência de *Eimeria* spp em coelhos domesticos (*Oryctolagus cuniculus*) em quatro Municípios do Norte do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v.14, n.1, p.12-16, 1993.

CÉRON, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTINEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v.34, n.2, p.85-99, 2005.

CHAPMAN, M. J. Are the effects of statins on HDL-cholesterol clinically relevant? **European Heart Journal**, v.6, supl.C, p.C58-C63, 2004.

CONNER, J. G. et al. Acute phase response in the dog following surgical trauma. **Research in Veterinary Science**, v. 45, n.1, p.107-110, 1988.

CORAZZA, M. et al. Dati preliminari sulla determinazione dell'aptoglobinemina in cani sani ed affetti da patologie in fase acuta e cronica. **Annali della Facolta di Medicina Veterinaria de Pisa**, v.L, p.241-249, 1997.

COUDERT, P. Les Coccidioses de Lapin. **Informations techniques des Services Veterinaires**, v.51-54, n.1, p.143-155, 1975.

CURTISS, L. K.; BOISVERT, W. A. Apolipoprotein E and atherosclerosis. **Current Opinion in Lipidology**, v.11, n.3, p. 243-251, 2000.

DALE, L. G.; CAMPOS, M.; ATTAH-POKU, S. K.; REDMOND, M. J.; CORDEIRO, D. M.; SETHI, M. S.; HARLAND, R. J.; BABIUK, L. A. Serum haptoglobulin as an indicator of acute phase response in bovine respiratory disease. **Veterinary Immunology**, v.51, n.3-4, p.277-292, 1996.

DELLO, C.P. et al. Influence of inflammation on serum concentration, molecular heterogeneity and drug binding properties of canine alpha-1-acid glycoprotein. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.11, n.1, p.71-76, 1988.

FAGLIARI, J. J.; WEISS, D. J.; MCCLENANHAN, D.; EVANSON, O. A. Serum protein concentrations in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.4, p.383-387, 2003.

FAYER, R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. **Veterinary Parasitology**, v.6, n.1-4, p.75-103, 1980.

FORRESTER, J. S.; MAKKAR, R.; SHAH, P. K. Increasing high-density lipoprotein cholesterol in dyslipidemia by cholesteryl ester transfer protein inhibition. An update for clinicians. **Circulation**. v.111, n.14, p.1847-1854, 2005.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**, 3 ed. São Paulo: Ícone, 1997.

FORTI, N.; DIAMENT, J. Lipoproteínas de Alta Densidade: aspectos metabólicos, clínicos, epidemiológicos e de intervenção terapêutica. Atualização para os clínicos. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.87, n.5, p.671-679, 2006.

FREITAS, F. L. C.; ALMEIDA, K. S. ; MACHADO, R. Z.; MACHADO, C. R. Lipid and glucose metabolism of broilers (*Gallus gallus domesticus*) experimentally infected with *Eimeria acervulina* Tyzzer, 1929 oocysts. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 10, n.3, p.147-152, 2008b.

FREITAS, F. L. C.; ALMEIDA, K. S.; NASCIMENTO, A. A.; TEBALDI, J. H.; MACHADO, R. Z.; MACHADO, C. R. Aspectos clínicos e patológicos em frangos de corte (*Gallus gallus domesticus*) infectados experimentalmente com oocistos esporulados de *Eimeria acervulina* Tyzzer, 1929. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n.1, p.16-20, 2008a.

GANROT, K. Plasma protein response in experimental inflammation in the dog. **Research Experimental Medicine**, v.161, n.4, p.251-261, 1973.

GARCÍA-TSAO, G. Cirrhotic ascites: pathogenesis and management. **Gastroenterologist**, v.3, n.1, p.41–54, 1995.

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.

GIORGI, W. Doenças observadas em coelhos durante o quinquênio 1963-1967, no Estado de São Paulo. **Biológico**, v.34, n.1, p.71-82, 1968.

GOMEZ-BAUTISTA, M. ; ROJO-VAZQUEZ, F. A.; ALUNDA, J. M. The effect of the host's age on the pathology of *Eimeria stiedai* Infection in rabbits. **Veterinary Parasitology**, v.24, n.1, p.47-57, 1987.

GOMEZ-BAUTISTA, M.; GARCIA, M. V.; ROJO-VAZQUEZ, F. A. The levels of total protein fractions in the serum of rabbits infected with *Eimeria stiedae*. **Annales de Parasitologie Humaine et Compare**, v.61, n.1, p.393–400, 1986.

GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J.; PATIÑO, H. O.; RINEIRO, L. A. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. 108p.

GONZÁLEZ, F. H.; SILVA, S. C. **Introdução à Bioquímica Veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003, 198p.

GOOD, N. E.; WINGER, G. D.; WINTER, W.; CONNOLY, T. N.; IZAWA, S.; SINGH, R. M. M. Hydrogen ion buffer for biological research. **Biochemistry**, v.5, n.1, p.467, 1966.

GREENWEL, P.; GEERTS, A.; OGATA, I.; SOLIS-HERRUZO, J. A.; ROJKIND, M. Liver fibrosis. In: ARIAS, I. M, BOYER, J. L.; FAUSTO, N.; JAKOBY, W. B.; SCHACHTER, D. A.; SHAFRITZ, D. A. **The liver: biology and pathobiology**. Raven, New York, 1994, p.1367–1381.

GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. M. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. **Veterinary Bulletin**, v.64, n.1, p.1009-1018, 1994.

GUTIERREZ, J. F. Tratamientos y profilaxis de la coccidiosis en el conejo. **Cunicultura**, abril, p.97-106, 2003.

GUYTON, A. C. **Tratado de Fisiología Médica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

HANADA. S.; OMATA, Y.; UMEMOTO, Y.; KOBAYASHI, Y.; FURUOKA, H.; MATSUI, T.; MAEDA, R.; SAITO, A. Relationship between liver disorders and protection against *Eimeria stiedai* infection in rabbits immunized with soluble antigens from the bile of infected rabbits. **Veterinary Parasitology**, v.111, n.1, p.261-266, 2003.

HARVEY, J. W.; WEST, C. L. Prednisone-induced increases in serum alpha-2-globulin and haptoglobin concentration in dogs. **Veterinary Pathology**, v.24, n.1, p.90-92, 1987.

HASEEB, M. A.; SHIRAZIAN, D. J.; PREIS, J. Elevated serum levels of TNF- α , sTNF-RII in murine schistosomiasis correlate with schistosome oviposition and circumoval granuloma formation. **Cytokine**, v.15, n.5, p.266-269, 2001.

HEIN, B.; LAMMLER, G. Alteration of enzyme activities in serum of *Eimeria stiedae* infected rabbits. **Zeitschrift fur Parasitenkunde**, v.57, n.1, p.199–211, 1978.

HOBBS, R. P.; TWIGG, L. E. Coccidia (*Eimeria* spp) of wild rabbits in southwestern Australia. **Australian Veterinary Journal**, v.76, n. 3, p. 209-210, 1998.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. **Journal of Public Health**, v.9, n.1, p.283-291, 1934.

JAIN, N. C. Acute phase proteins. In: KIRK, R. W. **Current veterinary therapy X: small animal practice**. Philadelphia: Saunders, 1989. p.468-471.

JAIN, N.C. The plasma proteins, dysproteinemias, and immune deficiency disorders. In: JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia : Saunders, 1993. p.349-380.

JASKIEWICZ, K.; HALL, P. Histopathological assessment of liver disease. In: KIRSCH, R.; ROBSON, S.; TREY, C. **Diagnosis and management of liver disease**. Chapman & Hall, London, pp 62–76, 1995.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. 6 ed. São Paulo: Manole, 2000.

JOYNER, L. P.; CATCHPOLE, J.; BERRETT, S. *Eimeria stiedae* in rabbits. The demonstration of responses to chemotherapy. **Research in Veterinary Science**, v.34, n.1, p.64–67, 1983.

KANEKO, J. J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p.391-405.

KAYA, S.; SU TCU, R.; CETIN, E. S.; ARIDOGAN, B. C.; DELIBAS, N.; DEMIRCI, M. Lipid peroxidation level and antioxidant enzyme activities in the blood of patients with acute and chronic fascioliasis. **International Journal of Infectious Diseases**, v.11, n.1, p.251–255, 2007.

KHALIFA, S. A. M.; EL-ELYANI, R. A. A.; TOULAH, F. H. F. The effect of dried leaves water suspension of neem plant (*Azadirachta indica*) on some organs of rabbits (*Oryctolagus domesticus* L.) infected by coccidiosis (*Eimeria stiedae*). I – Some

cytological, histological and hystochemical studies on the livers. **Egypt Journal Histology**, v.21, n.1, p.19-32, 1998.

KIMURA, T.; SAKAIDA, I.; TERA, S.; MATSUMURA, Y.; UCHIDA, K.; OKITA, K. Inhibition of tumor necrosis factor- α production retards liver regeneration after partial hepatectomy in rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.231, n.3, p.557-560, 1997.

KIRSCH, R.; BASS, N.; ARIAS, I. Biochemical evaluation of liver disease. In: KIRSCH, R.; ROBSON, S.; TREY, C. **Diagnosis and management of liver disease**. London, 1995, Chapman & Hall, pp 9–21.

KOŁODZIEJCZYK, L.; SIEMIENIUK, E.; SKRZYDLEWSKA, E. *Fasciola hepatica*: effects on the antioxidative properties and lipid peroxidation of rat serum. **Experimental Parasitology**, v.113, n.1, p.43–48, 2006.

KWITEROVICH, P. O. The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein and triglycerides: a current review. **American Journal Cardiology**, v.86, n.12, supl.1, p.5-10, 2000.

LIMA, E. S.; COUTO, R. D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.42, n.3, p.169-178, 2006.

LINSEL-NITSCHKE, T. A. HDL as a target treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.4, n.3, p.193-205, 2005.

MARTINE, G.; YVORE, D. Aspects pathogeniques de la coccidiose hepatique du lapin domestique. **Canada Medical Veterinary**, v.43, n.1, p.147–158, 1974.

McDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992. 524p.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de Laboratório Veterinária**. Interpretação e Diagnóstico. São Paulo: Roca, 1995. 308p.

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.

NAGELE, V.; HEAGELE, O. E.; SAUER, G.; WIEDEMAN, E.; LEHMANN, P.; WAHLEFELD, A. W.; GRUBER, W. J. **Journal of Clinical Chemistry Biochemistr**, v.22, n.1, p.164-165, 1984.

NATT, M. P.; HERRICK, C. A. The effect of cecal coccidiosis on the blood cells of the domestic fowl. **Poultry Science**, v.34, n.1, p.1100-1106, 1955.

OHWADA, K.; TAMURA, K. Usefulness of alpha 1 acid glycoprotein (alpha 1-AG) values in screening pound dogs acquired from animal shelters for experimental use. **Journal of Experimental Animal Science**, v.42, n.4, p.627-630, 1995.

OWEN, D. Life cycle of *Eimeria stiedai*. **Nature**, v. 227, p. 304, 1970.

PASSARELI, M.; QUINTÃO, E. R. Metabolismo das lipoproteínas de alta densidade. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v.10, n.6, p.734-743, 2000.

PINCUS, M. R.; SCHAFFNER, J. A. Função hepática. In: HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 19 ed. São Paulo: Manole, cap.25, p. 594-615, 1999.

POLOZOWSKI, A. Coccidiosis of rabbits and its control. **Wiadomosci Parazytologiczne**, v.39, n.1, p.13–28, 1993.

POTTER, L. M.; DICK, J. W. Serum enzyme activity in rabbits infected with *Eimeria stiedai*. **Poultry Science**, v.58, p.1021, 1979.

REY, L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 695p.

RIEGEL, R. E. **Bioquímica**. São Leopoldo: UNISINOS, 2004.

SAN MARTIN-NUNEZ, B. V.; ORDONEZ-ESCUADERO, D.; ALUNDA, J. M. Preventive treatment of rabbit coccidiosis with a-difluoromethylornithine. **Veterinary Parasitology**, v.30, n.1, p.1–10, 1988.

SANCHEZ-CAMPOS, S.; TUNON, M. J.; GONZALES, P.; GONZALES-GALLEGO, J. Oxidative stress and changes in liver antioxidant enzymes induced by experimental dicroceliosis in hamsters. **Parasitology Research**, v.85, n.6, 468–474, 1999.

SCHOSINSKY, K. H.; LEHMANN, H. P.; BEEELER, M. F. Measurement of ceruloplasmin from its oxidase activity in serum by use of o-dianisidine dihydrochloride. **Clinical Chemistry**, v.20, n.12, p.1556-1563, 1974.

SINGLA, L. D.; JUJYAL, P. D.; SANDHU, B. S. Pathology and therapy in naturally *Eimeria stiedae* infected rabbits. **Journal of Protozoology Research**, v. 10, n.1, p.185-191, 2000.

SMITH, E. L.; HIL, R. L.; LEHMAN, I. R. **Bioquímica dos mamíferos**. Rio de Janeiro: 7^o ed. Guanabara Koogan. 1988. 620p.

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.

WILLIS, I. I. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. **Medical Journal of Australia**, v.8, p.375-376, 1921.

WITCHER, J. T.; DIEPPE, P. A. Acute phases proteins. **Clinical Immunology Allergy**, v.5, p.425-446, 1985.