

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**  
**CAMPUS DE BOTUCATU**

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PREVENTIVOS DE**  
**COCCIDIOSE PARA PERUS DE CORTE**

**ELISANE LENITA MILBRADT**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia como parte das  
exigências para a obtenção do título de Mestre.

**Botucatu-SP**  
**Dezembro de 2009**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**  
**CAMPUS DE BOTUCATU**

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PREVENTIVOS DE**  
**COCCIDIOSE PARA PERUS DE CORTE**

**ELISANE LENITA MILBRADT**

Médica Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Ariel Antonio Mendes

Co-orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Márcia Regina Boaro Fernandes Martins

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Zootecnia como parte das  
exigências para a obtenção do título de Mestre.

**Botucatu-SP**

**Dezembro de 2009**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Milbradt, Elisane Lenita, 1978-  
M638a Avaliação de métodos preventivos de coccidiose para perus de corte / Elisane Lenita Milbradt. - Botucatu : [s.n.], 2009.  
xi, 92 f. : tabs., fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2009  
Orientador: Ariel Antonio Mendes  
Co-orientador: Márcia Regina Boaro Fernandes Martins  
Inclui bibliografia.

1. Coccidiose. 2. Drogas anticoccidianas. 3. Perus. 4. Vacina. I. Mendes, Ariel Antonio. II. Martins Márcia Regina Boaro Fernandes. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

*Para ser grande, sê inteiro: nada*

*Teu exagera ou exclui.*

*Sê todo em cada coisa. Põe quanto és*

*No mínimo que fazes.*

*Assim em cada lago a lua toda*

*Brilha, porque alta vive.*

*Fernando Pessoa*

## OFEREÇO

*Para ti, que nunca medistes esforços para me proporcionar uma boa formação pessoal e profissional,*

*Para ti que partistes cedo, mas em tempo, me ensinastes a ter ideais e princípios,*

*Pra ti, que hoje anda ao meu lado...eu tenho certeza.*

*Meu Pai, Erni Alberto Milbradt.*

## DEDICO

*A minha mãe, Lenita Frantz Milbradt, pelo esforço dedicado a minha educação.*

*Obrigada mãe!*

*A meu marido, namorado, amigo e companheiro, Rodrigo Jaskulski, sem você nada disso seria possível!*

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor e Orientador Dr. Ariel Antônio Mendes, pela orientação e pela liberdade de ação a mim concedida durante a realização do curso.

À Professora e Co-orientadora Dr<sup>a</sup> Márcia Regina Boaro Martins, pelos conhecimentos transmitidos, pela amizade e carinho.

Ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP/Botucatu, pela oportunidade de realização deste trabalho e também pelo auxílio financeiro recebido.

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP – (Processo n° 2007-05738-7) pela concessão da bolsa de estudos e pelo auxílio financeiro concedido (Processo n° 2007-08525-4).

Ao Dr. Juan Solis, Laboratório Biovet, Centro de Pesquisa de Coccidiose, pelos seus ensinamentos, os quais foram fundamentais à realização deste trabalho. Ao senhor, minha profunda gratidão e admiração.

À Dr<sup>a</sup> Jane Fraga, Laboratório Biovet, pelos ensinamentos, pelo carinho e grande ajuda durante a produção dos inóculos.

Aos alunos de graduação e estagiários do setor de avicultura da FMVZ/UNESP – Botucatu, João Guilherme Ferreira e Cristiane Sanfelice, pela imprescindível ajuda na execução do experimento.

À amiga e mestranda Francine Vercese e ao mestrando Anderson de Pontes Silva pela amizade, ajuda e apoio nos momentos mais difíceis.

Ao Professor Dr. Arthur Gruber, Departamento de Parasitologia – USP/São Paulo, pelo conhecimento transmitido, pelos conselhos e pelo apoio nas horas difíceis.

Aos Professores do Departamento de Produção Animal, FMVZ/UNESP – Botucatu, Dr. Alcides de Amorin Ramos e Dr. Heraldo Cezar Gonçalves, pelo auxílio na análise estatística do experimento.

À pós-doutoranda Claudia Marie Komiyama, pelo auxílio na análise estatística e pela amizade.

À Dr<sup>a</sup>. Ibiara Correia Lima Almeida Paz, por toda a ajuda prestada.

Aos colaboradores Gilson Campos e Renato de Agostinho Arruda, funcionários do Setor de Avicultura da FMVZ/UNESP – Botucatu pela grande ajuda na condução dos experimentos, pela amizade, paciência e pelo companheirismo.

Ao Professor do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, FMVZ/UNESP – Botucatu, Dr. José Roberto Sartori, pelo empréstimo de equipamentos, conhecimentos transmitidos e, principalmente, pela amizade.

Ao Professor do Departamento de Produção Animal, FMVZ/UNESP – Botucatu, Dr. Edivaldo Antonio Garcia, pelo empréstimo de equipamentos, conhecimentos transmitidos e pela amizade.

Ao Professor Dr. Luiz Edivaldo Pezzato e Professora Dr<sup>a</sup>. Margarida Maria de Barros, FMVZ/UNESP – Botucatu, pelo empréstimo das instalações do Laboratório AquaNutri.

Ao Professor do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências, IB/UNESP – Botucatu, Dr. Reinaldo José da Silva, pelo empréstimo dos equipamentos e pela atenção recebida.

Ao Professor do Departamento de Zootécnica, FCAV/UNESP – Jaboticabal, Dr. Atushi Sugoaha pelo auxílio na produção de ração.

A empresa Perdigão Agroavícola Industrial, hoje BR Foods, pelo fornecimento das aves e equipamentos para a execução do experimento.

A empresa Doux Frangosul S.A., Setor de Nutrição, representado pelo Zootecnista Irineu Brugalli e a Médica Veterinária Márcia Barisch pelo auxílio na formulação das dietas experimentais. Também ao Médico Veterinário Dimas Rotava, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Laboratório Biovet por ceder as instalações do Centro de Pesquisa de Coccidiose para a produção dos inóculos utilizados no trabalho.

A empresa Intervet/Schering-Plough Animal Health pelo fornecimento da vacina de coccidiose (Coccivac® T).

A empresa Impextraco do Brasil pelo fornecimento da droga anticoccidiana (Madimpex®).

A empresa Imuvet pelo fornecimento de equipamento e auxílio técnico.

A empresa DSM pelo fornecimento do suplemento vitamínico utilizado na formulação das rações.

A empresa SANEX pelo fornecimento do adsorvente de micotoxinas (Vulgel®).

Ao setor de Ovinocultura, representado pela colaboradora Zootecnista Dr<sup>a</sup> Simone Fernandes, pelo empréstimo das instalações para realização das análises laboratoriais.

Aos alunos de graduação, Edson Katayama, Tamiris Nascimento e Bárbara Fernandes e a aluna de pós-graduação, Ticiane Rocha, pela colaboração.

Aos colaboradores Paulo Inácio Primo, José Ramos Martin, Adenilson Lima Lucas, Celso Paulo Martin, Antônio Carlos Godoy, Rodrigo Martin, José Antônio Franco,

funcionários da FMVZ/UNESP – Botucatu pela valiosa ajuda e dedicação na condução dos experimentos, e pela amizade adquirida.

Aos funcionários da Seção de Pós Graduação em Zootecnia, Seila Crisitna Cassinelli Vieira, Danilo Juarez Teodoro Dias e Carlos Pazzini Jr. Pela atenção recebida e auxílio prestado.

A todos que contribuíram de alguma forma para a execução deste trabalho e não foram citados nominalmente, mas que não estão esquecidos, muito obrigada!

## SUMÁRIO

	Página
<b>CAPÍTULO 1</b>	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
Introdução.....	2
Coccidiose aviária.....	2
Ciclo de vida das <i>Eimerias</i> .....	3
Espécies de <i>Eimerias</i> que parasitam perus.....	4
Imunidade do hospedeiro às <i>Eimerias</i> .....	9
Diagnóstico da doença.....	11
Controle e prevenção.....	13
Custos.....	17
Proposta do estudo.....	18
Referências Bibliográficas.....	20
<b>CAPÍTULO 2</b>	
AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE PERUS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PREVENÇÃO DA COCCIDIOSE.....	26
Resumo.....	27
Abstract.....	28
Introdução.....	29
Material e Métodos.....	31
Resultados e Discussão.....	37
Fase Inicial – Alojamento ao 28º dia.....	39
Fase Final - 29º dia até a idade de abate (70 dias).....	44
Contagem de oocitos.....	47
Conclusões.....	50
Referências Bibliográficas.....	51
<b>CAPÍTULO 3</b>	
AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO E MORFOMETRIA INTESTINAL DE PERUS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PREVENÇÃO DA COCCIDIOSE.....	55
Resumo.....	56

Abstract.....	57
Introdução.....	58
Material e Métodos.....	59
Resultados e Discussão.....	67
Fase Inicial – Alojamento ao 28º dia.....	74
Fase Final - 29º dia até a idade de abate (70 dias).....	79
Conclusões.....	86
Referências Bibliográficas.....	87
Implicações.....	91

## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
<b>CAPÍTULO 1</b>	
Tabela 1. Características das espécies de <i>Eimeria</i> de perus.....	12
<b>CAPÍTULO 2</b>	
Tabela 1. Composição percentual e estimada das dietas experimentais.....	36
Tabela 2. Médias de GPD das aves experimentais de 21 a 35 dias de vida.....	37
Tabela 3. Peso médio semanal (g) das aves experimentais na fase inicial.....	39
Tabela 4. Ganho de peso semanal, conversão alimentar, consumo médio de ração e viabilidade das aves experimentais na fase inicial.....	40
Tabela 5. Peso médio semanal (g) das aves experimentais na fase final de criação.....	44
Tabela 6. Ganho de peso semanal, conversão alimentar, consumo médio de ração e viabilidade das aves experimentais na fase final da criação...	45
Tabela 7. Resultados da contagem semanal de oocistos - fase inicial e fase final da criação.....	48
Tabela 8. Análise de correlação entre dados de desempenho e contagem de oocistos.....	48
<b>CAPÍTULO 3</b>	
Tabela 1. Composição percentual e estimada das dietas experimentais.....	66
Tabela 2. Médias de GPD das aves experimentais de 21 a 35 dias de vida.....	67
Tabela 3. Peso médio e ganho de peso semanal das aves experimentais no período entre o 1º e o 28º dia de vida.....	75
Tabela 4. Peso relativo do trato intestinal e altura dos vilos dos diferentes segmentos intestinais das aves experimentais no 27º dia de vida.....	75
Tabela 5. Peso médio e ganho de peso semanal das aves experimentais até 49º dia de vida.....	80
Tabela 6. Peso relativo do trato intestinal e altura dos vilos dos segmentos intestinais no 49º dia de vida das aves experimentais.....	81

Tabela 7. Peso médio e ganho de peso semanal das aves experimentais durante toda a fase de criação.....	83
Tabela 8. Peso relativo do trato intestinal e altura dos vilos de porções de segmentos intestinais das aves experimentais no 70º dia de vida.....	84

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>CAPÍTULO 3</b>	
Figura 1. Porções de duodeno afetadas e não afetada por coccidiose.....	69
Figura 2. Porções de jejuno afetadas e não afetada por coccidiose.....	70
Figura 3. Porções de íleo afetadas e não afetada por coccidiose.....	71
Figura 4. Porções de ceco afetadas e não afetada por coccidiose.....	72
Figura 5. Porções de reto afetadas e não afetada por coccidiose.....	73

## **CAPÍTULO 1**

### **CONSIDERAÇÕES INICIAIS**

## INTRODUÇÃO

A indústria avícola brasileira tem demonstrado extraordinário desenvolvimento durante as últimas décadas. Neste contexto, a criação de perus vem se destacando, desde o ano de 2006. Já, no ano de 2008, o Brasil exportou 205 mil toneladas de carne de peru, quase a metade da produção anual (União Brasileira de Avicultura, 2008). Para atender o grande crescimento na demanda do produto, faz-se necessário intensificar, cada vez mais, o sistema de produção avícola.

Desde o início da década de 40, a necessidade de produzir carne em larga escala fez com que fossem intensificadas as pesquisas envolvendo genética, nutrição e manejo. Essas áreas evoluíram rapidamente, dando origem aos moldes de criação atuais, nos quais se obtém o máximo de rendimento das aves. Em consequência disso, nas últimas décadas, o setor avícola tem observado a melhora dos seus parâmetros produtivos e esta melhora tem significado um aumento no rendimento do produto, assim como um desafio para os participantes da cadeia produtiva.

Com a intensificação do confinamento das aves, estas são submetidas a conviver diretamente com seus dejetos, aumentando assim, as chances de quebra do equilíbrio intestinal. Dessa forma, protozoários, bactérias e vírus, antes tidos como comensais, tornam-se patogênicos e passam a ter ainda mais importância para a cadeia produtiva (Schnettler, 2005).

Desordens entéricas são um dos mais importantes grupos de doenças que afetam perus, causando grandes perdas econômicas, devido ao aumento nas taxas de mortalidade, decréscimo do ganho de peso, aumento na conversão alimentar e também nos custos, devido à medicação utilizada. Vários agentes patogênicos podem estar envolvidos nas doenças entéricas, agindo sozinhos ou em sinergismo com diferentes microorganismos ou, até mesmo, relacionados com fatores não infecciosos, como alimentação e manejo. Dentre as doenças entéricas de origem infecciosa com maior relevância para perus encontram-se: enterite hemorrágica, enterite necrótica, síndrome da enterite e mortalidade dos perus (PEMS) e a coccidiose (Hafez, 2004).

### **Coccidiose aviária**

Embora ainda seja alvo de muitos estudos, a coccidiose aviária é uma doença antiga, sendo que os primeiros relatos a respeito de *Eimerias* como parasitas de perus

foram feitos por Theobald Smith, no ano de 1895. Este pesquisador encontrou oocistos de *Eimeria* no ceco de perus acometidos por histomoníase e, verificou que se assemelhavam a oocistos de *Coccidium tenellum*, o qual parasitava o trato digestório de galinhas. Essa descoberta foi seguida por várias outras e, finalmente, por Ernest Tyzzer (1927) o qual fez a descrição da *Eimeria meleagridis*, seguida pela descrição das espécies *E. meleagritidis* e *E. dispersa*, no ano de 1929. Posteriormente, as demais espécies foram descobertas, sendo a última delas a *E. subrotunda*, a qual foi descrita em 1954 (Chapman, 2008).

A coccidiose aviária é causada por protozoários do gênero *Eimeria* que se reproduzem intracelularmente, ao longo do epitélio intestinal das aves, causando dano tecidual, o qual pode afetar os processos digestórios, principalmente, a absorção de nutrientes (McDougald, 2003).

O trato intestinal de perus é semelhante ao das galinhas. O intestino delgado é a porção mais longa do sistema digestório, responsável pela digestão final do alimento e absorção dos nutrientes (Boleli et al., 2002). A mucosa intestinal apresenta projeções microscópicas denominadas de vilos, que são constituídos por três tipos de células, funcionalmente distintas: enterócitos, células caliciformes e as células enteroendócrinas.

Quanto maior o número de células, maior o tamanho do vilos, e por consequência, maior a área de absorção de nutrientes. Yamauchi & Isshiki (1991) demonstraram que a densidade de vilos/área sofre redução com o aumento da idade das aves, este resultado evidencia que com o aumento da idade das aves ocorre aumento do tamanho do vilos. Os vilos do trato digestório dos perus decrescem no sentido duodeno, jejuno, íleo, reto e ceco (Clarkson, 1958).

### **Ciclo de vida das *Eimerias***

As aves se infectam com espécies de *Eimeria* ao ingerirem oocistos esporulados (oocistos contendo esporocistos), os quais sofrem ruptura da parede pela ação mecânica da moela, momento em que os esporocistos são liberados. Estes sofrem ação da temperatura corpórea, sais biliares e enzimas pancreáticas, liberando, assim, os esporozoítos. Uma vez livres, os esporozoítos invadem ativamente as células do hospedeiro, geralmente, enterócitos, células da lâmina própria ou criptas epiteliais (Kawazoe, 2009).

O gênero *Eimeria* possui um complexo ciclo de vida, dividido em três etapas: esquizogonia (fase assexuada), gamogonia ou gametogonia (fase sexuada) e esporogonia (esporulação). As duas primeiras fases são endógenas e a última é exógena. A esquizogonia, ou fase assexuada, tem início com a invasão celular pelos esporozoítos, os quais se transformam em meronte uninucleado. Este núcleo sofre várias divisões mitóticas e cada núcleo se individualiza, transformando-se numa célula alongada, o merozoíto. Um conjunto de merozoítos recebe o nome de esquizonte. Os merozoítos invadem novas células e formam uma ou várias gerações de merozoítos (Kawazoe, 2009).

A fase sexuada ou gamogonia tem início ao final da fase assexuada, quando a última geração de merozoítos penetra em novos enterócitos, diferenciando-se em macrogamontes (gametas femininos) e microgamontes (gametas masculinos). Os macrogamontes não sofrem divisão nuclear, mas crescem muito em tamanho, já os microgamontes sofrem repetidas divisões nucleares e citoplasmáticas, dando origem a microgametas que possuem dois ou mais flagelos. Posteriormente, o macrogameta é fecundado pelo microgameta, formando o oocisto e, finalizando a fase endógena, a parede celular é formada e o oocisto imaturo é liberado na luz intestinal (Kawazoe, 2009).

A fase externa, também chamada de esporogonia, ocorre após a liberação do oocisto para o meio externo juntamente com as fezes. Sob condições ideais de temperatura (28 a 30°C), presença de oxigênio e umidade, o oocisto poderá sofrer divisão meiótica seguida de divisão mitótica, dando origem a oito esporozoítos, sendo dois por esporocisto. Somente dessa forma, esporulados, os oocistos são infectivos ao hospedeiro (Kawazoe, 2009).

### **Espécies de *Eimerias* que parasitam perus**

Perus podem ser parasitados por sete espécies de *Eimeria*, quatro são consideradas de alta patogenicidade: *Eimeria adenoeides*, *E. meleagritidis*, *E. gallopavonis* e *E. dispersa*. As espécies *E. meleagridis*, *E. subrotunda* e *E. innocua* não possuem importância econômica, devido a sua baixa patogenicidade (McDougald, 2003).

***Eimeria adenoides*:**

Moore & Brown (1951) ao avaliarem amostras de fezes oriundas de criações comerciais de perus de corte do estado de Nova Iorque, encontraram oocistos com formas que não correspondiam a nenhuma das espécies de eimeria já descritas. Posteriormente, descobriram que se tratava de uma nova espécie, a qual foi chamada de *E. adenoides*. O desenvolvimento dessa espécie ocorre na parte distal do íleo, ceco e reto. Ela pode afetar a superfície do epitélio, o ápice das vilosidades, as criptas e glândulas profundas (Moore & Brown, 1951).

Sob condições laboratoriais, os sinais clínicos, em infecções produzidas por esta espécie, costumam surgir no quarto dia após a contaminação e, se traduzem por redução no consumo de ração, penas arrepiadas, desidratação e apatia. Em fortes infecções, as fezes apresentam-se muito liquefeitas e com grande quantidade de muco, que pode ser de cor branca ou alaranjada, com presença ou não de pequena quantidade de sangue. A partir do sexto dia, as fezes apresentam-se mais consistentes, com coloração amarelada, tornando-se normais nos dias seguintes (Clarkson, 1958).

Mudanças macroscópicas no intestino podem ser visualizadas a partir do quarto dia após a infecção. Nesse momento, o conteúdo intestinal é escasso, pois a ave diminui a ingestão de alimentos, o íleo apresenta-se abaulado, com a serosa congesta. O ceco, principalmente a porção mais estreita, apresenta-se edemaciada, podendo haver grande quantidade de muco amarelado ou conteúdo sólido caseoso formado por *debris* celulares e grande quantidade de oocistos. Em infecções severas, pode haver a presença de petéquias na serosa do íleo, ceco e reto. A mucosa desses segmentos pode apresentar coloração esbranquiçada, o conteúdo pode ser formado por grande quantidade de muco, com coloração amarelada ou marrom ou, por conteúdo sólido caseoso (Clarkson, 1958). Segundo Moore & Brown (1951), lesões macroscópicas nem sempre são vistas em infecções por *E. adenoides*, principalmente em casos menos severos.

A patogenicidade desta espécie varia de acordo com o número de oocistos ingeridos e idade do hospedeiro, porém esta é considerada uma das espécies mais patogênicas dentre as eimerias de perus. Infecções experimentais com inoculação de  $1 \times 10^3$  oocistos/ave, em aves de até cinco semanas de idade, podem causar até 100% de mortalidade. Aves com mais de seis semanas de idade, ao serem desafiadas com a mesma quantidade de oocistos, podem não apresentar sinais clínicos, porém, o

desempenho, geralmente, é afetado (McDougald, 2003). Clarkson (1958) isolou *E. adenoides* de vários casos de coccidiose clínica diagnosticados em criações comerciais da Inglaterra, segundo este, os sinais clínicos são semelhantes aos observados em laboratório.

***Eimeria meleagridis*:**

A espécie *E. meleagridis* foi descrita pela primeira vez por Tyzzer (1929), o qual a considerou de baixa patogenicidade, pois esta não foi capaz de causar mortalidade para as aves em nenhum dos seus estudos. Porém, estudos de Hawkins (1952) e Clarkson (1959a) comprovaram que se trata de uma espécie altamente patogênica, capaz de produzir até 100% de mortalidade em aves com menos de cinco semanas de vida. O principal sítio de lesão desta espécie é o duodeno e íleo, porém ela pode ser encontrada parasitando todo o trato intestinal. Este parasita se reproduz nas glândulas profundas, células epiteliais do ápice e da base das vilosidades.

Segundo Clarkson (1959a), um grupo de aves com três semanas de idade, infectadas com  $2 \times 10^5$  oocistos de *E. meleagridis*, apresentou 80% de mortalidade. As aves remanescentes apresentaram intensa desidratação, perda de peso e apatia. Perus com mais de cinco semanas de idade, ao serem infectados com a mesma quantidade de oocistos, apresentaram apenas perda de peso, aumento na conversão alimentar e, mesmo após a recuperação não foram capazes de alcançar o peso de aves não infectadas, criadas sob as mesmas condições. A manifestação dos primeiros sinais clínicos se dá a partir do quinto dia após a infecção. À necropsia, o intestino delgado apresenta-se congesto, com muitas petéquias na mucosa. A mucosa do duodeno, em infecções graves, pode apresentar grande quantidade de células necróticas o que lhe confere uma cor marrom avermelhada, sendo que essa coloração pode se estender ao longo do intestino delgado. No sétimo dia após a infecção, a mucosa intestinal apresenta-se, macroscopicamente, regenerada (Clarkson, 1959a).

***Eimeria dispersa*:**

A espécie *E. dispersa* foi descrita pela primeira vez por Tyzzer (1929), o qual a descreveu como sendo uma espécie comum a codornas, perus e faisões. Essa espécie foi descrita novamente, duas décadas mais tarde, por Hawkins (1952), porém, este

demonstrou que a espécie era incapaz de infectar outros hospedeiros. Long & Millard (1979) ao descreverem uma cepa variante isolada na Inglaterra, também não obtiveram êxito na tentativa de demonstrar a capacidade infectiva dessa espécie em outros hospedeiros. Ainda, contrariando os achados de Ernest Tyzzer, esta foi considerada de moderada patogenicidade por Hawkins (1952), principalmente quando comparada a espécies como a *E. meleagriditis* e *E. adenoides*. Em condições experimentais, diarreia aquosa e perda de peso são as manifestações clínicas mais comumente observadas e costumam iniciar de três a quatro dias após a ingestão de oocistos infectantes. Ao exame macroscópico, o intestino delgado pode apresentar intensa dilatação e afinamento das paredes, com conteúdo líquido e de coloração creme. O ciclo endógeno do parasita ocorre ao longo do intestino delgado, mais especificamente na base e no ápice das vilosidades, sem atingir as criptas de Leiberkühn (Hawkins, 1952 e Long & Millard, 1979).

Long & Millard (1979) encontraram oocistos de *E. dispersa* no ceco de aves contaminadas, mas nenhum estágio do parasita foi encontrado no epitélio cecal. Seus estudos com a variante isolada na Inglaterra também demonstraram que a espécie possui patogenicidade moderada. Aves com idade entre três a cinco semanas, inoculadas com doses entre  $1 \times 10^2$  e  $1 \times 10^6$  oocistos/ave, apresentaram apenas decréscimo no ganho de peso, sem mortalidade. Segundo Long & Millard (1979), essa espécie tem sido isolada com frequência nas criações comerciais de perus, porém, sua importância econômica permanece questionável.

### ***Eimeria gallopavinis*:**

Hawkins (1952) descreveu uma nova espécie de *Eimeria*, a *E. gallopavinis*. Esta espécie pode parasitar o íleo, os cecos e o reto. Segundo Farr et al. (1961), esta pode ser considerada uma espécie de alta patogenicidade, principalmente para aves com menos de seis semanas de idade. Os sinais clínicos da doença costumam surgir a partir do quinto dia a partir da infecção, e se caracterizam por diarreia, desidratação e perda de peso. Ao exame macroscópico, as regiões afetadas apresentam intenso edema, a mucosa apresenta pontos de necrose esbranquiçados e o conteúdo intestinal pode apresentar pequena quantidade de sangue (McDougald, 2003). Segundo Moore & Brown (1951), a patogenicidade desta espécie é duvidosa, sendo necessárias maiores investigações a

respeito. Existem poucos relatos na literatura a respeito do ciclo de vida desta espécie, porém, McDougald (2003) a classifica como altamente patogênica.

#### ***Eimeria meleagridis:***

A espécie *E. meleagridis* foi a primeira espécie de *Eimeria* a ser descrita, em perus, por Tyzzer (1927). Segundo Clarkson (1959b), esta espécie se desenvolve nas células epiteliais do íleo, ceco e reto, sendo que uma cepa variante isolada na Inglaterra demonstrou capacidade de se desenvolver nas glândulas profundas do ceco. Sob condições laboratoriais, aves infectadas com  $2,5 \times 10^3$  e  $1 \times 10^6$  oocistos/ave não apresentaram nenhum tipo de sinal clínico da doença e, tão pouco, sofreram efeitos negativos nos parâmetros de desempenho. As fezes, geralmente, apresentam-se normais, mas ocasionalmente pode haver a presença de material caseoso formado por *debris* celulares e grande número de oocistos, os quais desaparecem a partir do sétimo dia após o início da infecção (Clarkson & Gentles, 1958). Embora esta espécie se reproduza nas células epiteliais da mucosa intestinal, não há presença de sangue nas fezes e o epitélio apresenta rápida recuperação (Clarkson, 1959b). Por esses motivos, esta espécie é considerada de baixa patogenicidade.

#### ***Eimeria innocua:***

Moore & Brown (1952) descreveram a espécie *E. innocua*, a qual foi isolada de amostras de fezes oriundas de criações comerciais de perus de corte do estado de Nova Iorque. O ciclo endógeno do parasita ocorre ao longo do intestino delgado, causando maior dano no ápice das vilosidades. A espécie pode ser considerada de baixa patogenicidade, pois, em infecções experimentais, aves de cinco semanas de idade foram inoculadas com grandes doses de oocistos infectantes e não exibiram nenhum sinal clínico da infecção, tão pouco, lesões macroscópicas foram encontradas no trato intestinal. O desempenho das aves também não foi afetado.

#### ***Eimeria subrotunda:***

A *E. subrotunda* foi descrita por Moore et al. (1954), esta foi a última espécie de *Eimeria* de perus a ser identificada. A espécie foi isolada e descrita a partir de uma amostra de eimerias que Philip Hawkins acreditava tratar-se de *E. gallopavonis*. Esta

espécie pode parasitar o duodeno, jejuno e a parte proximal do íleo. Existem poucos relatos na literatura a respeito do ciclo de vida e demais detalhes pertinentes a espécie. Segundo McDougald (2003), a *E. subrotunda* raramente tem sido isolada de amostras de fezes de criações comerciais de perus de corte e matrizes, o que torna a sua existência duvidosa.

### **Imunidade do hospedeiro às *Eimerias***

A infecção com espécies de *Eimeria* induz o sistema imunológico das aves a responder de forma diversificada, principalmente, devido ao complexo ciclo de vida do parasita. A resposta do hospedeiro à invasão das células intestinais envolve vários mecanismos do sistema imunológico, principalmente, aqueles relacionados aos tecidos linfóides associados ao trato intestinal (GALT – *Gut Associated Lymphoid Tissue*), os quais contêm linfócitos T e B, responsáveis pela imunidade adquirida pelo hospedeiro à coccidiose aviária (Kawazoe, 2009).

Jeurissen et al. (1996) descreveram três pontos do ciclo de vida das eimerias, nos quais o sistema imune da ave pode exercer efeito inibitório, sendo eles:

- a) durante o período em que o esporozoítio deixa o oocisto e penetra na célula do hospedeiro;
- b) dentro do epitélio do hospedeiro, permanecendo exposto aos linfócitos intra-epiteliais;
- c) durante o transporte do esporozoítio do enterócito de superfície, através da lâmina própria e até a cripta do epitélio.

Após a invasão intestinal por eimerias, tanto a resposta imune humoral quanto a celular são estimuladas. O papel de ambas, ainda é alvo de muitas investigações e controvérsias. A resposta imune humoral, através de linfócitos B e sua produção de anticorpos, contribui para a proteção do hospedeiro, representando um papel importante, talvez não fundamental (Lillehoj & Lillehoj, 2000). Em se tratando de imunidade local, foram mensuradas imunoglobulinas do tipo IgA, específicas para *Eimeria* (imunidade de mucosas), as quais foram detectadas no intestino de aves infectadas, sendo que as áreas parasitadas apresentavam grandes quantidades de anticorpos, quando comparadas com as regiões livres de parasitas (Girard et al., 1997). Segundo Lillehoj (1987), o papel direto desses anticorpos na imunidade contra coccidiose é mínimo ou nenhum, pois a

imunidade em uma re-infecção não é diminuída em aves bursectomizadas, por exemplo. Porém, anticorpos específicos contra eimerias podem ter um papel indireto na imunidade, representado pela redução da infectividade do parasita por meio de vários mecanismos, dentre eles, a aglutinação e neutralização destes, redução da motilidade parasitária e inibição do desenvolvimento intracelular do mesmo (Lillehoj & Lillehoj, 2000). Vários estudos têm demonstrado a passagem de anticorpos maternos das matrizes para sua progênie, sendo esta uma opção para o controle da coccidiose em galinhas (Wallach, 1997).

Não existem muitos questionamentos com relação à importância dos linfócitos T na imunidade adquirida para coccidiose aviária. Aves submetidas a tratamentos com drogas imunossupressoras como a dexametasona apresentaram grande susceptibilidade a infecções por esses parasitas, mesmo com o aumento do número de anticorpos específicos. Este fato pode ser considerado um bom indicativo da importância da imunidade mediada por células nas infecções por *Eimerias* (Lillehoj & Lillehoj, 2000).

Teoricamente, aves jovens são mais susceptíveis à coccidiose e, aves mais velhas são, relativamente, mais resistentes à infecção, uma vez que, estas desenvolvem imunidade à *Eimerias* durante infecção primária, porém a resposta imune será mais efetiva a partir de uma re-infecção do hospedeiro (Lillehoj, 1998). A resposta imunológica não previne a invasão das células, mas impede o desenvolvimento do parasita dentro delas (Allen & Fetterer, 2002).

Existem poucas investigações a respeito da resposta imune celular e humoral para infecções por *Eimeria* em perus (Chapman, 2008). Perus de todas as idades são susceptíveis a infecção primária por *Eimerias*, porém, aves mais velhas demonstram mais resistência à infecção (Clarkson, 1959 ab). Clarkson (1959 ab) reportou esse fato ao descrever a patogenicidade de isolados de *E. meleagrimitis* e *E. adenoeides*, segundo o autor a resistência não depende da exposição prévia aos parasitas. Segundo Joyner (1978), em perus, a resistência adquirida com a idade é um fenômeno bem estabelecido. Porém, os mecanismos envolvidos no processo ainda permanecem obscuros e, evidências contrárias têm sido obtidas (Chapman, 2008). McDougald & McQuiston (1978) desafiaram perus com mais de 10 semanas de idade com grande quantidade de oocistos de *E. adenoeides*, estes apresentaram severa redução no ganho de peso. Segundo Chapman (1999), para a comprovação da afirmativa que perus desenvolvem

resistência à *Eimerias* com a idade, é necessário que as aves sejam criadas totalmente livres de contaminação por estes patógenos. Long (1978) afirma que aves mantidas isentas de contaminação por *Eimerias* são susceptíveis a estas, independente da idade do desafio.

Espécies de *Eimeria* são altamente específicas aos seus hospedeiros, isto é, perus imunizados para uma espécie de *Eimeria* são susceptíveis para outras. De acordo com McDougald (2003), a *E. dispersa* é a única *Eimeria* de perus que pode se desenvolver em mais de um hospedeiro.

### **Diagnóstico da doença**

O diagnóstico de coccidiose, em perus, é extremamente complicado, pois os sinais clínicos da doença não são patognomônicos e, incluem diarreia, penas arrepiadas, anorexia e desidratação. Essas manifestações clínicas são comuns a uma série de enfermidades entéricas que acometem perus. Portanto, o diagnóstico requer a avaliação dos sinais clínicos aliada ao exame macroscópico do trato intestinal e, se possível, exame microscópico de raspados da mucosa intestinal para detecção do parasita (Clark & Augustine, 2003). Exames histopatológicos devem ser realizados para a confirmação do diagnóstico.

A determinação de escore de lesões, prática comumente realizada em galinhas, não é recomendada para perus. Segundo Jeffers & Bentley (1980), a falta de caracterização precisa das lesões produzidas por eimerias em perus, torna impossível a utilização de um padrão de escore de lesões. A avaliação microscópica de raspados da mucosa intestinal pode ser útil no diagnóstico da doença, até mesmo como forma de diagnóstico diferencial, através da visualização de diferentes estágios do ciclo de vida do parasita.

A identificação das espécies envolvidas na infecção não é uma tarefa simples, já que, formas simples de identificação como sítios de lesão, período pré-patente, forma e dimensão de oocistos não devem ser utilizadas para identificação de *Eimerias* de perus, devido à grande semelhança existente entre elas, o que pode conduzir a interpretações errôneas dos resultados (Tabela 1) (Reid, 1972). A forma mais segura para identificação de *Eimerias* de perus, até o presente momento, são os testes de imunização cruzada, porém, para realização destes testes é necessário a utilização de amostras puras

(Chapman, 2008). Técnicas modernas e precisas de identificação de Eimerias, como a PCR (*Polimerase Chain Reaction*) ainda não estão disponíveis comercialmente, principalmente devido à falta de amostras puras, necessárias para o desenvolvimento da mesma.

Tabela 1. Características das espécies de *Eimeria* de perus.

<b>Espécie</b>	<b>Período pré-patente (dias)</b>	<b>Forma do oocisto</b>	<b>Comprimento do oocisto (µm)</b>	<b>Altura do oocisto (µm)</b>
<i>E. adenoides</i>	5	Elipsoidal	18,9 a 31,3	12,6 a 20,9
<i>E. dispersa</i>	6	Oval	21,8 a 31,1	17,7 a 23,9
<i>E. gallopavonis</i>	5	Elipsoidal	22,7 a 32,7	15,2 a 19,4
<i>E. innocua</i>	5	Esférico	18,5 a 25,8	17,3 a 24,4
<i>E. meleagridis</i>	5	Elipsoidal	20,3 a 30,8	15,4 a 20,6
<i>E. eleagrimitis</i>	5	Oval	15,8 a 26,9	13,1 a 21,9
<i>E. subrotunda</i>	4	Esférico	16,4 a 26,42	14,2 a 24,4

Fonte: McDougald (2003).

Segundo Williams et al. (2000), a contagem de oocistos nas fezes ou cama de aviário não é indicada como método de diagnóstico da doença. Na prática, este tipo de avaliação é muito utilizado por algumas empresas, com a finalidade de avaliar a saúde intestinal das aves, no que diz respeito à coccidiose. Segundo Clark & Augustine (2003), esta ferramenta de avaliação possui um valor muito limitado, devido ao fato de não ser possível realizar uma correlação segura entre os resultados das contagens e o desempenho do lote. Esses autores realizaram monitoramento da excreção de oocistos de vários lotes comerciais de perus de corte, durante três anos consecutivos, com o objetivo de correlacionar esta variável ao manejo e desempenho dos lotes. As variáveis correlacionadas foram: número de aves alojadas, idade das aves, ganho de peso diário, conversão alimentar, viabilidade e peso final. Somente o número de aves alojadas apresentou correlação significativa com a contagem de oocistos na cama e, nenhuma correlação foi encontrada com os parâmetros de desempenho avaliados.

A contagem de oocistos nas fezes também pode ser usada como forma de avaliação da eficácia de drogas anticoccidianas, porém, Morehouse & Baron (1970)

consideraram esta técnica muito laboriosa e de baixa correlação com os parâmetros avaliados. Segundo Clark & Augustine (2003), a excreção de oocistos, geralmente, atinge o pico máximo às quatro semanas de idade das aves, mesmo em lotes saudáveis. Porém, Long & Millard (1977) ao monitorarem vários lotes comerciais de perus de corte, tratados com diferentes drogas anticoccidianas, afirmaram que a idade do pico de eliminação de oocistos pode variar de acordo com a droga administrada. Dessa forma, a utilização deste indicativo de sanidade deve ser avaliada com cautela.

### **Controle e prevenção**

Nas décadas passadas o controle da coccidiose baseou-se, principalmente, no tratamento dos surtos da doença com quimioterápicos. Porém, o conceito de medicação preventiva emergiu rapidamente, principalmente devido aos danos causados pelo parasita ao trato intestinal das aves, os quais podem levar a grandes prejuízos econômicos (McDougald, 2003). Atualmente, a maioria das criações de perus recebe drogas anticoccidianas na alimentação, como forma de controle e prevenção da doença. Muitas drogas, originalmente utilizadas para frangos de corte, demonstram eficácia no controle da doença em perus, embora nem todas estejam disponíveis ou aprovadas para uso, por entidades reguladoras (Chapman, 2008). Além disso, alguns princípios ativos utilizados em frangos de corte podem ser extremamente tóxicos para perus, principalmente se os níveis de inclusão forem superiores aos indicados para a espécie (Lee & White, 2001).

Segundo o Regulamento da Comunidade Européia (CE) nº 1831/2003 (Diário Oficial da União, 2004), as drogas anticoccidianas podem ser agrupadas em dois grandes grupos, sendo: compostos químicos e antibióticos ionóforos. Sendo que as de uso permitido, para perus, de acordo com este regulamento são: monensina de sódio, lasalocida de sódio, maduramicina de amônio, narasina, cloridrato de robenidina, bromidato de halofuginona, diclazuril e nicarbazina.

As drogas anticoccidianas agem das mais diversas formas sobre os parasitas. Os compostos químicos possuem modo de ação específico e simplificado, agindo em apenas uma determinada etapa do desenvolvimento ou fase do metabolismo do parasita, possibilitando, dessa forma, rápida adaptação desses ao fármaco. As sulfonamidas, por exemplo, competem pela incorporação do PABA (*para-amino benzoic acid*) e

metabolismo do ácido fólico. O amprolium compete pela absorção de tiamina pelo parasita (Kawazoe, 2009).

Os diversos compostos pertencentes a classe dos antibióticos ionóforos agem de forma semelhante, interferindo no balanço osmótico das células dos protozoários, tendo como principal foco de ação o transporte de energia na mitocôndria. Estes princípios ativos formam complexos do tipo lipídeo-solúveis com cátions  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  ou  $Mg^{2+}$  e alteram a velocidade da difusão desses complexos através das barreiras de lipídeos das membranas do parasita. Essa ação sobre as membranas resulta em inchaço, vacuolização interna e degradação dos estágios de esporozoíto e merozoíto, principalmente devido ao dano osmótico. A outra forma de ação das drogas é através do estímulo no processo de glicólise do metabolismo do parasita, o que conduz a diminuição no armazenamento de carboidratos e, conseqüentemente, a morte do parasita (Kawazoe, 2009). Poucos estudos têm sido realizados com espécies de *Eimeria* de perus, para comprovação de que o mecanismo de ação das drogas é semelhante ao que ocorre com *Eimerias* de galinhas (Augustine et al., 1987).

Sabe-se que os parasitas podem sofrer a ação das drogas anticoccidianas nos diferentes estágios do seu ciclo de vida. Porém, existem poucas informações a respeito da ação destas sobre as *Eimerias* de perus (Chapman, 2008). As quinolonas inibem o desenvolvimento de esquizontes de *E. meleagrimitis* e, segundo Warren & Ball (1963), o amprolium afeta a primeira geração de esquizontes da *E. adenoides* e a sulfaquinoxalina a segunda geração. A monensina e a salinomicina, assim como os demais ionóforos, agem sobre os esporozoítos. Estudos realizados por Augustine et al. (1987), demonstraram que estas drogas foram capazes de reduzir em 50% a invasão das células intestinais por esporozoítos de *E. adenoides*.

Atualmente, as drogas anticoccidianas mais utilizadas, em criações comerciais de perus, no Brasil, são a monensina, a maduramicina e a lasalocida. A maduramicina pertence ao grupo dos poliéteres ionóforo originada da fermentação do fungo *Actinomadura yumaensis*.

A maioria das drogas anticoccidianas não inibe totalmente a multiplicação dos parasitas, o que possibilita o desenvolvimento de imunidade no hospedeiro (Chapman, 2008). Segundo Mathis (1993) e Mathis et al. (1997), anticoccidianos do tipo ionóforo não interferem no desenvolvimento da imunidade. Porém, Chapman et al. (2004),

investigaram o desenvolvimento de imunidade em perus medicados com 5ppm de monensina, via ração. As aves foram inoculadas com baixo número de oocistos aos três, cinco, sete e nove dias de idade, simulando um nível de infecção leve, semelhante ao que ocorre no campo. Na décima semana, o grupo controle não medicado e as aves medicadas foram desafiadas e, posteriormente, avaliadas com relação a resposta imunológica. Somente as aves do grupo controle desenvolveram imunidade aos parasitas. Este, talvez seja um dos motivos da ocorrência de problemas intestinais em lotes onde é realizada a retirada precoce das drogas anticoccidianas (Chapman, 2004). Segundo Clark & Augustine (2003), em decorrência disso, as empresas têm optado pelo uso de drogas que não possuam longo período de carência. Nos Estados Unidos, em cerca de 10 a 20% das criações de perus, a droga anticoccidiana é retirada somente poucos dias antes do abate e, existem evidências que o desempenho desses lotes é significativamente melhor, quando comparado aos lotes nos quais a retirada da droga é precoce.

Em perus, assim como em frangos de corte, tem sido relatado o problema da resistência das eimerias às drogas anticoccidianas. Atualmente, a monensina é uma das drogas mais utilizadas para o controle da coccidiose, em perus de corte, nos Estados Unidos (Chapman, 2008) e também no Brasil. Chapman & Rathinam (2007) realizaram um estudo a fim de determinar a sensibilidade de cepas de eimerias, isoladas de criações comerciais dos Estados Unidos, à monensina, estes autores concluíram que a maioria dos isolados apresentou resistência à droga. Uma alternativa utilizada no intuito de amenizar o problema da resistência são os programas de rotação de drogas, nos quais compostos com diferentes modos de ação são alternados em sucessivos lotes (Chapman, 2007). Segundo Chapman (2008), entre os anos de 2005 e 2007, 68% das criações comerciais de perus de corte dos Estados Unidos utilizou uma mesma droga anticoccidiana durante toda vida do lote. Programas do tipo “dual”, nos quais são utilizados dois tipos de drogas anticoccidianas foram empregados em 16% das criações e, a administração de um ionóforo seguida por um composto químico e vice-versa, em 15% das criações.

Segundo Anon (2006), o uso de drogas anticoccidianas na alimentação de perus é seguro, desde que sejam observados os níveis de inclusão e a indicação do produto para a espécie. A toxicidade das drogas, geralmente, é resultante de erros de cálculo na

formulação da ração, mistura inadequada e fornecimento desta às espécies não indicadas (Hooper, 1985). Perus são particularmente sensíveis a ação da narasina e salinomicina, por isso essas drogas não são indicadas para espécie (Davis, 1983).

O controle da coccidiose também pode ser feito através da vacinação, ou até mesmo, da associação desta com drogas anticoccidianas, em programas rotacionais. O controle da doença através da resposta imunológica é atrativo, uma vez estabelecida, a imunidade permanece por toda a vida da ave (Clark & Augustine, 2003).

A primeira vacina contra coccidiose de perus surgiu nos Estados Unidos, na década de 60. Atualmente, existem dois tipos de vacina, comercialmente disponíveis, a Coccivac®-T e Immucox®-T, ambas do tipo viva e virulenta. A vacina pode ser administrada através da ração, água de bebida ou através de outros métodos de exposição, como as cabines de vacinação por *spray*, as quais são instaladas no incubatório, minimizando assim, possíveis erros no processo de vacinação à campo (Chapman, 2008). A exposição das aves à vacina através de blocos de gel também tem sido relatada (Lee & Soares, 2005).

Segundo Kawazoe (2009), para o sucesso da utilização das vacinas vivas é imprescindível que o processo da vacinação seja conduzido de forma correta, permitindo assim, que as aves recebam oocistos viáveis, simultaneamente e de forma uniforme. Caso contrário, podem ocorrer falhas na imunização, com conseqüentes surtos de coccidiose. Porém, Clark & Augustine (2003) ressaltam que a exposição adequada das aves as *Eimerias* vai além do momento da aplicação da vacina e, se estende as primeiras semanas de vida da ave. Nesse período, é fundamental o manejo adequado da cama do aviário, pois nessa fase ocorre a “reciclagem” dos oocistos, isto é, a eliminação e re-ingestão de oocistos vacinais das fezes, desencadeando, dessa forma, uma re-infecção na ave. Este processo é indispensável para o desenvolvimento da imunidade.

As vacinas vivas têm como objetivo indução de imunidade sólida e duradoura. Devido à imunidade às *Eimerias* ser do tipo espécie específica, várias espécies de *Eimeria* devem estar presentes em uma vacina. Isto faz com que a problemática deste tipo de vacina não se restrinja, somente, aos danos intestinais causados pela reprodução das espécies vacinais, mas também, a possibilidade de introdução de espécies patogênicas e variabilidade antigênica que pode ocorrer entre as cepas vacinais e as de

campo (Martin, 1997). Alternativas à imunização de aves com vacinas vivas tem sido utilizadas com sucesso, como, por exemplo, o uso de vacinas vivas atenuadas ou com proteínas recombinantes (Lillehoj & Lillehoj, 2000). Porém, esta é uma realidade restrita a vacinas para galinhas, em perus, pouco se sabe a respeito de atenuação de *Eimerias*. Matsler & Chapman (2007) fizeram a primeira tentativa de atenuação de uma cepa de *E. meleagridis*, a qual obteve sucesso. Os autores selecionaram uma cepa de *E. meleagridis*, a qual apresentou redução de quatro a oito horas no período pré-patente e menor patogenicidade, quando comparada a cepa de origem. Em sucessivos testes, esta foi capaz de proteger perus desafiados com cepas de campo de *E. meleagridis*. Segundo Chapman (2008), atualmente a *E. adenoides* está sendo alvo de pesquisas, com objetivo de obtenção de cepas atenuadas.

A coccidiose também pode ser prevenida através da imunização das aves pela exposição a pequenos números de oocistos infectantes. Essa forma de prevenção tem sido utilizada com sucesso nos Estados Unidos e Canadá, onde existem produtos comercialmente disponíveis para essa finalidade (Coccivac-T7® e Immucox7®, respectivamente). A forma de utilização é simples, o produto pode ser adicionado à ração durante os primeiros sete dias de vida das aves. Porém, essa forma de prevenção requer cuidados adicionais com o manejo do lote, principalmente quanto à qualidade da cama do aviário, a qual pode possibilitar condições adequadas para esporulação de grande número de oocistos e, posterior ocorrência de doença nas aves (McDougald, 2003).

### **Custos**

Segundo Williams (1999), a coccidiose aviária é a doença parasitária que mais traz custos para indústria avícola, estima-se que cerca de 800 milhões de dólares anuais. Esses custos estão relacionados à medicação preventiva e curativa, e a custos conseqüentes com mortalidade, baixo ganho de peso e alta conversão alimentar.

Em aves de crescimento rápido, como perus, qualquer fator que, por ventura, venha a interferir na absorção de nutrientes, pode conduzir a perdas econômicas. É extremamente difícil estimar o verdadeiro impacto da coccidiose sobre a produção de perus. Isto se deve, em grande parte, ao fato de que a coccidiose, em perus, dificilmente é diagnosticada, principalmente em aves mais velhas. A ausência de sinais clínicos

característicos, ou até mesmo, a presença da doença na forma subclínica, na qual somente o desempenho das aves é afetado, faz com que a doença seja de difícil diagnóstico (Radu, 2004).

#### PROPOSTA DO ESTUDO

O crescente apelo da maioria dos mercados consumidores ao aperfeiçoamento dos critérios de utilização dos antibióticos na produção de aves está expondo, novamente, antigos problemas, tidos como equacionados. A saúde intestinal, atualmente, é objeto de estudo e total atenção. As linhagens atuais possuem extraordinária capacidade genética para desempenho, mas podem ter todo seu potencial desperdiçado ou seriamente afetado se as funções intestinais não estiverem íntegras.

Além da tendência mundial à substituição dos fármacos na alimentação animal por substâncias naturais, o problema da resistência dos parasitas às drogas anticoccidianas e a ausência de pesquisas e lançamento de novas drogas, torna emergente a necessidade de criação de opções viáveis e seguras para o controle da coccidiose em perus.

Diante disso, surge a proposta do estudo, que tem como objetivo avaliar diferentes métodos de prevenção de coccidiose, dando ênfase a métodos preventivos baseados na imunização das aves.

Para tanto, foi realizado um experimento, representado pelo capítulo 2, denominado: **AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE PERUS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PREVENÇÃO DA COCCIDIOSE**. Este foi redigido de acordo com as normas editoriais da Revista Brasileira de Ciência Avícola - *Brazilian Journal of Poultry Science* (ISSN1516-635X) e teve como objetivo avaliar o efeito dos diferentes métodos de prevenção da coccidiose sobre o desempenho das aves experimentais.

O capítulo 3, denominado **AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO E MORFOMETRIA INTESTINAL DE PERUS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PREVENÇÃO DA COCCIDIOSE** foi redigido de acordo com as normas editoriais da Revista Brasileira de Ciência Avícola - *Brazilian Journal of Poultry Science* (ISSN1516-635X) e teve como objetivo avaliar o efeito dos

diferentes métodos de prevenção da coccidiose sobre a morfometria intestinal e desempenho das aves.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ANON. Safety and toxicity of polyether ionophores in poultry. In: FEATHERDATA, AN UPDATE OF RECENT POULTRY RESEARCH, 2006. Fort Lee, Alpharma Animal Health, 8p.

AUGUSTINE, P. C. et al. Effect of ionophorous anticoccidials on invasion and development of *Eimeria*: comparison of sensitive and resistant isolates and correlation with drug uptake. **Poultry Science**, v. 66, p. 960-965, 1987.

BOLELI, I. C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: Macari M, Furlan RL, Gonzales E, editores. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: Funep; 2002. p. 75-96.

CHAPMAN, H. D. Coccidiosis in the turkey. **Avian Pathology**, v. 37, n. 3, p. 205-223, 2008.

CHAPMAN, H. D. Future prospects for coccidiosis control in the turkey. In: FIRST TURKEY SCIENCE AND PRODUCTION CONFERENCE, **Proceeding...**Macclesfield, UK, 2007. p. 25-27.

CHAPMAN, H. D.; RATHINAM, T. Sensitivity of field isolates of *Eimeria* to monensin in the turkey. **Avian Diseases**, v. 51, p. 954-957, 2007.

CHAPMAN, H. D.; MATSLER, P. L.; CHAPMAN, M. E. Control of coccidiosis in turkeys with diclazuril and monensin: effects upon performance and development of immunity to *Eimeria* species. **Avian Diseases**, v. 48, p. 631-634, 2004.

CHAPMAN, H. D. Anticoccidial drugs and their effects upon the development of immunity to *Eimeria* infections in poultry. **Avian Pathology**, v. 28, p. 521-535, 1999.

CLARK, R. S.; AUGUSTINE, P. Coccidiosis in turkeys: disease. **World Poultry – Turkey Special**, p. 14-17, 2003.

CLARKSON, M. J. Life history and pathogenicity of *Eimeria adenoeides* Moore and Brown, 1951, in the turkey poult. **Parasitology**, v. 48, p. 70-88, 1958.

CLARKSON, M. J.; GENTLES, M. A. Coccidiosis in turkeys. **The Veterinary Record**, v. 70, p. 211-214, 1958.

CLARKSON, M. J. The life history and pathogenicity of *Eimeria meleagrimitis* Tyzzer 1929, in the turkey poult. **Parasitology**, v. 49, p. 70-82, 1959a.

CLARKSON, M. J. The life history and pathogenicity of *Eimeria meleagridis* Tyzzer, 1927, in the turkey poult. **Parasitology**, v. 49, p. 519-528, 1959b.

DAVIS, C. Narasin toxicity in turkeys. **The Veterinary Record**, v. 113, p. 627, 1983.

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. Regulamento (CE) nº 1831/2003, Seção 1, p. 63, 2004.

DRAKE, A. D. et al. Peripheral blood leukocyte response and macrophage function during *Eimeria adenoeides* infection in turkey poults. **Discovery**, v. 2, p. 13-20, 2001.

FARR, M. M.; WEHR, E. E.; SHALKOP, W. T. Pathogenicity of *E. gallopavonis*. **The Virginia Journal of Science**, v. 12, p. 150-151, 1961.

GIRARD, E. G.; FORT, P.; QUERE, P. Kinetics of specific immunoglobulin A, M and G production in the duodenal and caecal mucosa of chickens infected with *Eimeria acervulina* or *Eimeria tenella*. **International Journal for Parasitology**, v. 27, p. 803-809, 1997.

HAFEZ, H. M. Overview on enteric diseases of turkeys and their economic impact. In: 5<sup>th</sup> INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TURKEY DISEASES, 2004, Berlin, Germany. **Proceeding**... Berlin. 2004. v. 1, p. 128-170.

HAWKINS, P. A. Coccidiosis in turkeys. **Technical Bulletin**, p. 226, 1952.

HOOPER, R. S. Anticoccidials and turkeys. **The Veterinary Record**, v. 116, p. 224, 1985.

JEFFERS, T. K.; BENTLEY, E. J. Monensin sensitivity of recent field isolates of the turkey coccidian. **Poultry Science**, v. 59, p. 1722-1730, 1980.

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

JOYNER, L. P. The identification and diagnosis of avian coccidiosis. **British Poultry Science Limited**, p. 29-49, 1978.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: BERCHIERI JUNIOR, SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. F. editores, **Doenças das aves**. 2<sup>a</sup> edição. Campinas, FACTA, São Paulo. 2009. p. 837-858.

LEE, E. H.; WHITE, M. Vaccination to control coccidiosis in turkeys. **International Poultry Production**, v. 9, n. 5, p. 35, 2001.

LEE, E. H.; SOARES, R. Efficacy of gel spray as a delivery system for turkey coccidiosis vaccine consisting of *Eimeria adenoides* and *Eimeria meleagrimitis*. In: IX<sup>th</sup> INTERNATIONAL COCCIDIOSIS CONFERENCE, 2005, Foz do Igassu, Brazil. Symposium “**Legislation on drug and vaccine use**”, Foz do Igassu, 2005, p. 141-142.

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

LILLEHOJ, H. S. Role of T lymphocytes and cytokines in coccidiosis. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1071-1081, 1998.

LILLEHOJ, H. S. Effects of immunosuppression on avian coccidiosis: cyclosporin A but not hormonal bursectomy abrogates host protective immunity. **Infection and Immunity**, v. 55, p. 1616-1621, 1987.

LONG, P. L. The problem of coccidiosis: general considerations. **British Poultry Science Limited**, p. 3-28, 1978.

LONG, P. L.; MILLARD, B. J. Coccidiosis in turkeys: some recent work in Britain. **Turkeys**, p. 19-21, 1979.

LONG, P. L.; MILLARD, B. J. Coccidiosis in turkeys: evaluation of infection by the examination of turkeys broiler house litter for oocysts. **Avian Pathology**, v. 6, p. 227-233, 1977.

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

MATHIS, G. F. Toxicity and acquisition of immunity to coccidian in turkeys medicated with anticoccidials. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 2, p. 239-244, 1993.

MATHIS, G. F.; CATIGLIA, A.; CHENG, T. A comparison of the turkey anticoccidials: lasalocid, monensin, maduramicin and halofuginone, using the parameters of efficacy and development of acquired coccidial immunity. In: VIIIth INTERNATIONAL COCCIDIOSIS CONFERENCE, 1997, Oxford, England. Symposium "Control of coccidiosis into the Next Millennium", **Proceeding...**, Oxford, 1997, p. 44.

MATSLER, P. L.; CHAPMAN, H. D. Selection for early (precocious) development of *Eimeria meleagridis* from the turkey. **Avian Diseases**, v. 51, p. 122-124, 2007.

McDOUGALD, L. R. Coccidiosis. In: SAIF, Y. M.; BARNES, H. J.; GLISSON, J. R.; FADLY, A. M.; McDOUGALD, L. R.; SWAYNE, D. E. (Eds.). **Diseases of Poultry 11<sup>th</sup>**. Iowa, 2003, p. 974-991.

McDOUGALD, L. R.; McQUISTION, T. E. Innate and acquired immunity vs. anticoccidial medication in managing coccidiosis in turkeys. **Avian Diseases**, v. 22, p. 765-770, 1978.

MOORE, E. N.; BROWN, J. A. A new coccidium pathogenic for turkeys, *Eimeria adenoeides* n. sp. (Protozoa: Eimeriidae). **The Cornell Veterinarian**, v. 41, p. 124-135, 1951.

MOORE, E. N.; BROWN, J. A. A new coccidium of turkeys, *Eimeria innocua* n. sp. (Protozoa: Eimeriidae). **The Cornell Veterinarian**, v. 52, p. 395-402, 1952.

MOORE, E. N.; BROWN, J. A.; CARTER, R. D. A new coccidium of turkeys, *Eimeria subrotunda* n. sp. (Protozoa: Eimeriidae). **Poultry Science**, v. 33, p. 925-929, 1954.

MOREHOUSE, F. N.; BARON, R. R. Coccidiosis: Evaluation of coccidiostats by mortality, weight gains, and fecal scores. **Experimental Parasitology**, v. 28, p. 30-36, 1970.

RADU J. I. Coccivac®-T, long-term anticoccidial strategy turkeys. In In: 5<sup>th</sup> INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TURKEY DISEASES, 2004, Berlin, Germany. **Proceeding**... Berlin. 2004. v. 1, p. 276-278.

REID, W. M. Turkey. In: HOFSTAD, M. S.; CALNEK, B. W.; HELMBOLDT, C. F.; REID, W. M.; YODER, H. W. (Eds.) **Diseases of Poultry. 6<sup>th</sup>**, Ames, Iowa State Press, 1972, p. 977-986.

SCHNETTLER, P. Manejo de perus comerciais. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Santos, Brasil. **Simpósio de Perus, Anais...** Santos, 2005, v. 2, p. 259-268.

TYZZER, E. E. Species and strains of coccidia in poultry. **The Journal of Parasitology**, v. 13, p. 215, 1927.

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

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA - UBA, **Relatório anual 2008**. Brasília, 2009. 84p.

WALLACH, M. The importance of transmission-blocking immunity in the control of infections by apicomplexan parasites. **International Journal for Parasitology**, v. 27, p. 1159- 1167, 1997.

WARREN, E. W.; BALL, S. J.; FAGG, J. R. Age resistance by turkeys to *Eimeria meleagrimitis* Tyzzer, 1929. **Nature**, v. 200, 238-240, 1963.

WILLIAMS, R. B.; JOHNSON, J. D.; ANDREWS, S. J. Anticoccidial vaccination of broiler chickens in various management programmes: relationship between oocyst accumulation in litter and the development of protective immunity. **Veterinary Research Communications**, v. 24, p. 309-325, 2000.

WILLIAMS, R. B. A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1209- 1229, 1999.

YAMAUCHI, K. E.; ISSHIKI, Y. Scanning electron microscopic observations on the intestinal villi in growing White Leghorn and broiler chickens from 1 to 30 days of age. **British Poultry Science**, v. 32, p. 67-78, 1991.

## **CAPÍTULO 2**

### **AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE PERUS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE PREVENÇÃO DA COCCIDIOSE.**

## RESUMO

Com o objetivo de avaliar a eficiência de diferentes métodos preventivos de coccidiose para perus de corte, foram utilizados 420 perus de corte, fêmeas da linhagem BUT 9 distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado dividido em quatro tratamentos: **T1**- dieta controle sem vacinação contra coccidiose e droga anticoccidiana, **T2**- dieta acrescida de droga anticoccidiana do 1º até os 60 dias de vida das aves (maduramicina 1%, 5ppm), **T3**- vacinação contra coccidiose (vacina comercial), **T4**- imunização pela exposição à cepas de campo (*pool* de oocistos). A administração da vacina e do *pool* de oocistos foi realizada via ração, no sétimo dia de vida das aves. As aves foram alojadas com densidade de 21 aves/m<sup>2</sup> até o sétimo dia, 9,8 aves/m<sup>2</sup> entre o oitavo dia e a sexta semana e, 4,2 aves/m<sup>2</sup> até a idade do abate, 70 dias. Aos 21 dias de idade, as aves foram submetidas ao desafio de coccidiose, representado por um *pool* de oocistos, sem a identificação das espécies, na dosagem de 20.000 oocistos por ave, a qual foi aplicada diretamente no esôfago. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com auxílio do programa estatístico SAS, as médias comparadas pelo teste “t” a 5% de significância. A análise do experimento foi dividida em duas partes, sendo, fase inicial compreendida entre o dia do alojamento e o 28º dia de vida e fase final, compreendida entre o 29º dia até o abate. Na fase inicial, os tratamentos influenciaram ( $P \leq 0,05$ ) o peso médio semanal, o ganho de peso médio, a conversão alimentar e o consumo médio de ração semanal, sendo que as aves do tratamento controle apresentaram desempenho inferior quando comparado aos demais. Na fase final, as aves apresentaram excelente recuperação do desempenho, sendo que somente o peso médio, aos 70 dias, foi afetado pelos tratamentos ( $P \leq 0,05$ ). Portanto, todos os métodos de prevenção e controle da coccidiose aplicados foram eficientes, pois além de não produzirem efeitos adversos sobre os parâmetros avaliados, ainda foram capazes de proteger as aves contra o desafio de coccidiose administrado.

**PALAVRAS CHAVE:** desempenho, doença, droga anticoccidiana, perus, vacinação

### ABSTRACT

In order to evaluate the effectiveness of various preventive methods of coccidiosis control for turkeys, four hundred and twenty females BUT 9 strain were used distributed in a completely randomized design divided into four treatments: T1- control diet without coccidiosis vaccination and anticoccidial drug, T2- control diet increased by anticoccidial drug at the 1st until 60 days of age (maduramicin 1%, 5ppm), T3- control diet and vaccination (commercial vaccine), T4- control diet and oocysts mixed pool administration. The vaccine and pool administration was done into diet, on the seventh day of age. The birds were housed with a 21 birds / m<sup>2</sup> density by seventh day, 9.8 birds / m<sup>2</sup> of at the eighth day until sixth week, and 4.2 birds / m<sup>2</sup> up to the age of slaughter, 70 days. At 21 days of age, birds were submitted to the challenge of coccidiosis, represented by an oocysts pool without identifying the species, the dose of 20,000 oocysts/bird, which was applied directly in the birds' esophagus. The results were submitted to variance analysis (ANOVA) using the SAS statistical program and compared by means of Test "t" to 5%. The trial analysis was divided into two parts, the initial stage understood at housing day until 28th day of age, and the final stage, at 29th day until killing. In the initial stage, the treatments affected ( $P \leq 0.05$ ) the weekly weight average, weight gain average, feed conversion, weekly consumption average and total feed intake, and the birds in the control treatment showed worse performance compared with others. In the final stage, the birds showed excellent performance recovery, with only the weight average, at 70 days, was affected by treatments ( $P \leq 0.05$ ). Therefore, all prevention and control methods of coccidiosis applied were efficient, as well as no adverse effect on the parameters evaluated, were still able to protect the birds against administered coccidiosis challenge.

**Keywords:** anticoccidial drug, diseases, performance, turkeys, vaccine

## INTRODUÇÃO

A avicultura de corte baseia-se, principalmente, na eficiência do ganho de peso e na conversão alimentar das aves. Dessa forma, a atividade pode ou não ser economicamente viável, caso esses parâmetros não sejam alcançados. Inúmeros são os fatores capazes de interferir na eficiência produtiva das aves, sendo que um dos principais é o equilíbrio intestinal. Em aves de crescimento rápido, como perus, é comum que esse equilíbrio seja rompido, devido a agentes patogênicos e, dentre eles, o causador da coccidiose aviária.

A coccidiose aviária é causada por protozoários do gênero *Eimeria* e, apesar de ser uma doença relativamente antiga, ainda é uma das principais causadoras de perdas econômicas na indústria avícola (Radu, 2004). Sete espécies de *Eimerias* podem parasitar perus, dentre elas, quatro são consideradas de alta patogenicidade: *Eimeria meleagritidis*, *E. adenoides*, *E. gallopavonis* e *E. dispersa*. As demais espécies, *E. innocua*, *E. meleagridis* e *E. subrotunda* não provocam grandes perdas econômicas, devido ao baixo poder patogênico (McDougald, 2003).

Aves de todas as idades são sensíveis à infecção primária por *Eimerias*, a qual é iniciada após a ingestão de oocistos esporulados, os quais representam o estágio infeccioso do parasita, sendo capazes de sobreviver no ambiente por longo período de tempo (Linckersdorff-Sietz *et al.*, 2004). Os sinais clínicos da coccidiose são caracterizados por diarreia aquosa ou mucóide, anorexia, desidratação e penas arrepiadas, podendo existir algumas variações, dependendo da espécie de *Eimeria* envolvida. Porém, estes sinais não são patognomônicos, podendo ser confundidos com uma série de manifestações clínicas de outras enfermidades entéricas que acometem a espécie (Chapman, 2008).

Muitas vezes, a doença pode cursar sem a manifestação de sinais clínicos e lesões intestinais específicas, sendo esta forma chamada de doença subclínica. Essa forma de apresentação é comum em aves mais velhas, após o desenvolvimento da imunidade aos parasitas. Infecção leve ou subclínica pode incidir sobre o desempenho das aves, principalmente, sobre o ganho de peso e conversão alimentar. Além disso, os danos intestinais causados pelos parasitas podem servir de porta de entrada para outros agentes infecciosos, como o *Clostridium perfringens* (McDougald, 2004).

O controle e a prevenção da coccidiose podem ser realizados através do uso de drogas anticoccidianas ou através da imunização das aves (McDougald, 2003). As drogas anticoccidianas, químicos e ionóforos, vêm sendo utilizadas no controle da doença desde a década de 40, após a descoberta dos efeitos terapêuticos das sulfonamidas (Chapman *et al.*, 2004). Porém, o uso contínuo e exagerado desses compostos conduziu a diminuição de sua eficiência, devido ao surgimento de resistência do parasita às drogas (Chapman, 2000). Atualmente, os antibióticos ionóforos têm sido largamente utilizados no controle da doença, dentre eles destacam-se a monensina, maduramicina, lasalocida e halofuginona. Compostos químicos, como o diclazuril, podem ser utilizados intercaladamente com ionóforos e vacinas vivas, fazendo parte de programas de controle da doença (Chapman, 2000)

A coccidiose também pode ser controlada através da imunização por vacinação ou pela exposição das aves a pequenas quantidades de oocistos infectantes (McDougald, 2003). A administração de vacinas vivas resulta em forte e variada resposta imunológica, semelhante ao que ocorre quando as aves se infectam naturalmente com espécies de *Eimeria*. O sucesso de um programa de vacinação depende, em grande parte, da correta exposição inicial das aves aos oocistos vacinais. Porém, Clark & Augustine (2003) ressaltam que a exposição adequada das aves a forma infectante dos parasitas vai além do momento da aplicação da vacina e, se estende as primeiras semanas de vida da ave. Nesse período, é fundamental o manejo adequado da cama do aviário, pois nessa fase ocorre a “reciclagem” dos oocistos, isto é, a eliminação e re-ingestão de oocistos vacinais das fezes, desencadeando, dessa forma, uma re-infecção na ave. Este processo é indispensável para o desenvolvimento de imunidade sólida. Atualmente, a prática da vacinação, em perus, é utilizada nos Estados Unidos e Canadá, porém os dados da literatura são restritos a esse respeito (Chapman *et al.*, 2005).

O uso de drogas anticoccidianas no controle e prevenção da doença pode ser considerado uma opção de sucesso. Porém, a pressão do mercado consumidor para a diminuição ou, até mesmo, a extinção do uso de fármacos na alimentação animal é crescente (Chapman *et al.*, 2005). Recentemente, a União Européia proibiu o uso de antibióticos como promotores de crescimento e, o futuro das drogas anticoccidianas ainda permanece incerto. Aliado a isso, o surgimento de resistência dos parasitas às drogas anticoccidianas e a ausência de lançamentos de novas drogas faz emergente a

necessidade de pesquisa de novas estratégias de prevenção e controle da coccidiose em perus.

Em face ao exposto, o presente trabalho objetivou avaliar o desempenho de perus de corte submetidos a diferentes métodos preventivos de coccidiose.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Experimento I

Um experimento com duração de 35 dias foi realizado na UNESP, Campus de Botucatu, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), com o objetivo de avaliar a eficiência de um inóculo contendo um *pool* de oocistos de *Eimerias* de campo como desafio de coccidiose para perus de corte. Para tal, foram alojados, em gaiolas de arame galvanizado medindo 0,69 metros de altura, 0,99 metros de largura e 0,96 metros de comprimento, 42 perus de corte machos, de um dia de idade da linhagem B.U.T. 9. As aves foram distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo seis tratamentos com sete repetições cada (uma ave equivaleu a uma unidade experimental), sendo eles:

Tratamento 1: controle negativo

Tratamento 2:  $2 \times 10^4$  oocistos por ave

Tratamento 3:  $3 \times 10^4$  oocistos por ave

Tratamento 4:  $4 \times 10^4$  oocistos por ave

Tratamento 5:  $5 \times 10^4$  oocistos por ave

Tratamento 6:  $6 \times 10^4$  oocistos por ave

O fornecimento de água e ração foi à vontade, sendo que as dietas foram isonutritivas. Semanalmente, foi realizada a pesagem individual das aves.

Como desafio, foi utilizado um *pool* de oocistos de *Eimeria*, o qual foi confeccionado a partir de amostras de fezes coletadas em diferentes aviários de criações comerciais de perus de corte da cidade de Castro, no estado do Paraná. Para recuperação dos oocistos das fezes foi utilizada a técnica preconizada por Shirley (1995). Antes da administração do inóculo, este passou por um processo de limpeza, o qual consistiu na remoção do dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) da solução, através de múltiplas centrifugações com água destilada. A solução foi ressuspensa com água destilada e, posteriormente, quantificada com auxílio de câmara de Neubauer e microscópio óptico,

sendo que a concentração encontrada foi de 111.000 oocistos esporulados por mililitro (mL) de solução. A partir dessa informação foram determinadas as quantidades de solução para que as aves fossem desafiadas de acordo com o tratamento do qual faziam parte.

Aos 21 dias de idade, devido à administração do desafio, as aves do tratamento controle foram isoladas das demais, porém foram mantidas sob as mesmas condições de manejo e ambiência do restante das aves. A pessoa responsável pelo manejo destas aves não manteve contato com as demais.

A inoculação do desafio foi realizada individualmente, sendo que a solução de oocistos foi administrada diretamente no esôfago das aves com auxílio de uma pipeta semi-automática.

Devido ao fato de não se ter conhecimento das espécies presentes no inóculo e, tão pouco, suas características, como sítios de lesão, após o desafio, as aves foram divididas da seguinte forma:

- Três aves foram destinadas a pesagem diária até o 14º dia após a inoculação, objetivando verificar a influência da dose desafiante sobre o ganho de peso diário (GPD) das aves.

- Quatro aves foram destinadas a necropsia no quinto dia após a inoculação do desafio.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com auxílio do programa estatístico SAS (1996) e as médias comparadas pelo Teste de “t” (0,05%).

## **Experimento II**

Um experimento, com duração de 70 dias, foi conduzido na UNESP, Campus de Botucatu, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), no aviário experimental do Setor de Avicultura. Foram alojados, em boxes, 420 perus de corte fêmeas, de um dia de idade da linhagem B.U.T. 9. As aves foram distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições de 21 aves cada, sendo eles:

- Tratamento 1 (Controle): dieta controle sem vacinação contra coccidiose e drogas anticoccidianas,

Tratamento 2 (Ionóforo): dieta acrescida de droga anticoccidiana do 1º até os 60 dias de vida das aves (maduramicina amônio 1%, 5ppm),

Tratamento 3 (Vacina comercial): imunização com vacinação contra coccidiose (vacina comercial),

Tratamento 4 (Cepas de campo): imunização com cepas de *Eimeria* de campo.

As aves foram alojadas com densidade populacional de 21 aves/m<sup>2</sup> até o 7º dia, entre o oitavo dia e a sexta semana, a densidade populacional foi de 9,8 aves/m<sup>2</sup>, a partir da sétima semana, a densidade populacional passou a ser de 4,2 aves/m<sup>2</sup> até a idade de abate (Manual da Linhagem B.U.T., 2008). Foi utilizada maravalha para forração dos boxes experimentais.

Para imunização das aves do tratamento três foi utilizada uma vacina comercial do tipo viva e virulenta contendo quatro espécies de *Eimerias*: *E. adenoides*, *E. dispersa*, *E. meleagritidis* e *E. gallopavonis*. As aves do tratamento quatro foram imunizadas com um *pool* de oocistos contendo espécies de *Eimeria* de campo (sem a identificação das espécies presentes). Para produção do *pool* foi utilizada a técnica de recuperação de oocistos das fezes, adaptada de Shirley (1995).

A vacina (seguindo orientações do fabricante do produto) e o *pool* de oocistos foram administrados, via ração, no sétimo dia de vida das aves, após um período de jejum alimentar de seis horas. Após a administração dos imunógenos, os boxes contendo aves de diferentes tratamentos foram isolados por meio de lonas plásticas. Equipamentos de proteção individual, separados de acordo com o tratamento, como luvas descartáveis e botas plásticas também foram adotados, a fim de evitar a contaminação dos tratamentos não vacinados e, impedir a disseminação das diferentes espécies de *Eimeria* entre os tratamentos.

O manejo das aves dos diferentes tratamentos foi semelhante, diferindo apenas pela viragem da cama, que nos tratamentos imunizados foi realizada somente no 15º dia após a administração dos imunógenos, enquanto nos demais tratamentos este manejo foi semanal. Esse procedimento foi adotado a fim de proporcionar correta exposição das aves aos oocistos vacinais oriundos das fezes visando, apenas, a indução de resposta imunológica, sem a ocorrência de doença.

O fornecimento de água e ração foi à vontade. As dietas foram isonutritivas, sendo o programa alimentar dividido em quatro fases: inicial (1 a 21 dias), transição (22

a 35 dias), engorda (36 a 53 dias) e final (54 a 70 dias). As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas à base de milho e farelo de soja, os níveis nutricionais seguiram os recomendados pelo Manual da Linhagem B.U.T. 9.

Aos 21 dias de idade, as aves foram desafiadas com  $2 \times 10^4$  oocistos por ave, o inóculo foi administrado diretamente no esôfago, com o auxílio de uma pipeta semi-automática, previamente aferida.

Não foi realizada a troca de aviário e da cama ao final da fase inicial (28 dias), porém, as aves foram transportadas durante uma hora, em caixas adequadas, a fim de simular o procedimento de transferência de instalações (fase inicial para fase final), realizado comercialmente.

Os parâmetros de desempenho avaliados foram: peso médio semanal, ganho de peso médio semanal, consumo médio de ração, conversão alimentar semanal (corrigida pela mortalidade) e viabilidade semanal.

Para obtenção do peso médio semanal, as aves foram pesadas em grupo, dividindo-se o peso total obtido pelo número de aves pesadas.

O ganho de peso semanal foi obtido pela diferença entre as pesagens que foram efetuadas no 1º, 7º, 14º, 21º, 28º, 35º, 42º, 49º, 56º, 63º e 70º dias de vida das aves.

O consumo médio de ração semanal foi obtido pela diferença entre a quantidade de ração fornecida na semana e a sobra no momento da pesagem, o valor foi dividido pelo número de aves do box. Para o cálculo do consumo médio de ração foi considerada a data da mortalidade para calcular o número de aves corrigido, conforme preconizado por Sakomura & Rostagno (2007).

A conversão alimentar foi corrigida, considerando-se o dia da mortalidade das aves, conforme metodologia descrita por Sakomura & Rostagno (2007). Este índice foi calculado através do ganho de peso semanal das aves e consumo de ração.

Sempre que houve mortalidade esta foi anotada e a viabilidade foi calculada semanalmente.

A coleta de fezes para a contagem de oocistos (oocistos por grama de fezes – OPGs) foi realizada semanalmente. As fezes foram retiradas diretamente da cloaca de todas as aves do box, sem entrar em contato com a cama, evitando-se, dessa forma, possíveis contaminações com oocistos remanescentes e materiais indesejáveis, como penas e maravalha. A contagem dos oocistos foi realizada através da técnica de

MacMaster desenvolvida por Gordon-Whitlock (1939). Os resultados da contagem de oocistos sofreram transformação para base logarítmica ( $\log_{10}$ ) para viabilizar a análise de variância, porém, nos resultados são apresentados os dados reais.

Os resultados referentes aos parâmetros de desempenho e contagem de oocistos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), as médias foram comparadas pelo Teste t (5%), com auxílio do programa estatístico SAS (1996).

Modelo estatístico utilizado para análise de variância:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + B(A)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad i = 1, \dots, a; \quad j = 1, \dots, b; \quad k = 1, \dots, n$$

onde:

$y_{ijk}$  = observações  $k$  no nível  $i$  do fator  $A$  e nível  $j$  do fator  $B$

$\mu$  = media geral

$A_i$  = o efeito do nível  $i$  sobre o fator  $A$

$B(A)_{ij}$  = o efeito do nível  $j$  sobre o fator  $B$  dentro do nível  $i$  do fator  $A$

$\varepsilon_{ijk}$  = erro ao acaso com média 0 e variância  $\sigma^2$

$a$  = número de níveis de  $A$ ;  $b$  = número de níveis de  $B$ ;  $n$  = número de observações por nível  $B$ .

Tabela 1. Composição percentual e estimada das dietas experimentais.

Ingredientes	Tipo de Ração							
	Inicial	Inicial T2	Transição	Transição T2	Engorda	Engorda T2	Final	Final T2
Farelo de Soja	51,15	51,17	47,69	47,70	42,42	42,43	38,71	38,72
Milho	35,91	35,81	39,77	39,68	45,76	45,67	49,66	49,56
Oleo Soja	5,77	5,81	5,80	5,83	5,49	5,53	6,25	6,28
Fosfato Bicálcico	2,85	2,85	2,59	2,59	2,17	2,18	1,63	1,64
Calcário	1,37	1,36	1,28	1,28	1,33	1,34	1,27	1,27
L-Lisina 98%	1,28	1,28	1,28	1,28	1,27	1,28	1,02	1,02
Bicarbonato de Sódio	0,60	0,60	0,56	0,56	0,53	0,54	0,50	0,50
Metionina	0,39	0,39	0,35	0,35	0,35	0,35	0,33	0,33
Adsorvente	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Suplemento Mineral <sup>1</sup>	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Treonina	0,13	0,13	0,11	0,11	0,11	0,11	0,06	0,06
Suplemento Vitamínico <sup>2</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,08	0,08	0,08	0,08
Anticoccidiano <sup>3</sup>	-	0,05	-	0,05	-	0,05	-	0,05
<b>Total</b>	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>Níveis Nutricionais Calculados</b>								
		<b>Ração Inicial</b>	<b>Ração Transição</b>	<b>Ração Engorda</b>	<b>Ração Final</b>			
Energia Metabolizável (kcal/kg)		3,000	3,050	3,100	3,200			
Proteína Bruta (%)		28,00	26,00	24,00	21,00			
Cálcio (%)		1,40	1,30	1,20	1,05			
Fósforo Disponível (%)		0,75	0,70	0,60	0,50			
Lisina (%)		1,82	1,70	1,50	1,30			
Metionina Total (%)		0,73	0,68	0,63	0,57			
Metionina + Cistina Total (%)		1,18	1,11	0,96	0,91			
Arginina Total (%)		1,95	1,82	1,65	1,43			
Treonina Total (%)		1,16	1,09	0,96	0,85			

I-Enriquecimento mineral por kg de ração: Cu: 15 mg; Fe:65 mg; Mn: 110 mg; Zn:100 mg; I: 1,5 mg; Se: 0,3 mg. 2-Enriquecimento vitamínico por kg de ração: Vit. D3: 4000 UI; Vit. E: 50 UI; Vit. K3: 4,5 mg, Biotina: 0,25mg, Tiamina B1: 4,5mg, Riboflavina B2: 8mg; Piridoxina: 7mg, Vit. B12: 0,020 mg; Niacina: 75 mg; Ácido Pantotênico: 23 mg; Ácido Fólico: 2 mg, Antioxidante: 15 mg, 3- Maduramicina 1% 5ppm.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Experimento I

A condição ideal para execução de testes envolvendo desafio experimental de coccidiose está ligada a utilização de amostras puras de *Eimerias* no desafio, porém, durante o desenvolvimento deste estudo foram encontradas inúmeras dificuldades para obtenção de amostras puras de *Eimerias* de perus, dentre estas, a escassez e o custo.

As tentativas de identificação e isolamento de espécies de *Eimerias* de campo também foram dificultadas devido ao fato de que métodos, comumente, utilizados para identificação de *Eimerias* de outras espécies, como sítios de lesões, período pré-patente, forma e tamanho dos oocistos não devem ser aplicados para *Eimerias* de perus, devido à grande semelhança entre elas (Reid, 1972). Testes de imunidade cruzada e PCR (*Polimerase Chain Reaction*) são considerados confiáveis para identificação *Eimerias* de aves, porém o desenvolvimento de métodos, como a PCR é tolhido pela dificuldade de obtenção de amostras contendo espécies puras de *Eimerias* ou pela falta de descrição detalhada de cada espécie (Chapman, 2008). Portanto, para viabilizar a execução deste trabalho, foi necessário produzir um inóculo contendo oocistos viáveis para ser utilizado como desafio da doença para as aves experimentais, bem como a determinação da dose desafiante para o Experimento II. Na Tabela 2 podem ser observadas as médias de ganho de peso diário (GPD) das aves experimentais desafiadas com diferentes concentrações de oocistos de campo.

Tabela 2. Médias de GPD das aves experimentais de 21 a 35 dias de vida.

<b>Tratamentos</b>	<b>GPD (g)</b>
Controle	84,4 <sup>a</sup>
2x10 <sup>4</sup> oocistos	70,7b
3x10 <sup>4</sup> oocistos	65,3b
4x10 <sup>4</sup> oocistos	56,5c
5x10 <sup>4</sup> oocistos	52,7c
6x10 <sup>4</sup> oocistos	44,2d

a-b-c Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de “t” (P≤0,05).

Através da análise dos resultados verifica-se que as aves submetidas à inoculação de oocistos tiveram redução no GPD, quando comparadas às aves pertencentes ao tratamento controle, sem inoculação. Observa-se que o GPD foi inversamente proporcional ao número de oocistos administrados, o que pode ser considerado um indicativo de que o inóculo possuía pelo menos uma espécie de *Eimeria* de alta patogenicidade. Através da análise da mucosa intestinal, no momento da necropsia, observou-se que todas as aves que receberam oocistos apresentaram lesões, sendo que a intensidade destas variou de acordo com o número de oocistos administrados. As aves que receberam  $2 \times 10^4$  oocistos apresentaram lesões leves na mucosa intestinal, porém o GPD foi reduzido em 16,3%, quando comparado ao resultado apresentado pelas aves do tratamento controle. Já as aves que receberam uma dosagem superior,  $6 \times 10^4$  oocistos, apresentaram a mucosa intestinal intensamente agredida, o que repercutiu negativamente sobre o ganho de peso destas, como pode ser observado na Tabela 2. Segundo Chapman (2008), a apresentação da doença, na qual os sinais clínicos e achados de necropsia não são tão evidentes é, comumente, chamada de coccidiose subclínica e, acredita-se que essa seja a forma mais encontrada nas criações comerciais. Portanto, os efeitos produzidos pela aplicação de  $2 \times 10^4$  oocistos por ave são (teoricamente), dentre os demais tratamentos, os que mais se assemelham as condições encontradas no campo, onde a doença não é diagnosticada devido à ausência de sinais clínicos evidentes.

## CONCLUSÃO

O inóculo composto por oocistos de *Eimerias* de campo foi efetivo como desafio experimental de coccidiose para perus de corte, sendo que a dosagem de  $2 \times 10^4$  foi considerada ideal para ser utilizada no Experimento II.

## Experimento II

A criação de perus é dividida em duas fases, sendo a inicial compreendida do alojamento até o 28º dia de vida, momento em que as aves são transferidas para outra instalação, dando início a fase final, a qual está compreendida entre o 29º dia até a idade de abate. Por isso, a avaliação dos dados foi realizada separadamente, avaliando-se, dessa forma, cada fase da criação.

### Fase Inicial – Alojamento ao 28º dia

Os dados referentes ao peso médio semanal podem ser visualizados na Tabela 3. Os dados referentes ao ganho de peso semanal, conversão alimentar, consumo médio de ração semanal e viabilidade, podem ser visualizados na Tabela 4.

Tabela 3. Peso médio semanal (g) das aves experimentais na fase inicial.

Tratamento	Peso médio semanal (g)				
	0	1	2	3	4
Controle	59ns	147ns	321ns	616ns	843b
Ionóforo	60	151	317	617	1021a
Vacina Comercial	59	149	323	607	984 <sup>a</sup>
Cepas de campo	59	149	325	639	1041a

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste “t” (5%).

ns: Não significativo (P>0,05).

Tabela 4. Ganho de peso semanal, conversão alimentar, consumo médio de ração e viabilidade das aves experimentais na fase inicial.

<b>Ganho de peso semanal (g)</b>				
<b>Tratamento</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
Controle	87,71ns	173,92ns	295,21ab	226,80b
Ionóforo	91,25	166,19	300,00ab	404,28 <sup>a</sup>
Vacina Comercial	88,72	171,15	284,04b	377,42 <sup>a</sup>
Cepas de campo	89,88	177,91	309,23a	392,45 <sup>a</sup>
<b>Conversão alimentar</b>				
Controle	2,13a	1,20b	1,38b	2,52 <sup>a</sup>
Ionóforo	1,66b	1,44a	1,38b	1,73b
Vacina Comercial	1,97a	1,33ab	1,62a	1,52b
Cepas de campo	1,96a	1,33ab	1,37b	1,73b
<b>Consumo médio de ração semanal (g)</b>				
Controle	186,44ns	210,24ns	407,42b	559,37b
Ionóforo	151,51	238,64	414,39ab	698,15 <sup>a</sup>
Vacina Comercial	173,99	227,52	459,08a	577,15b
Cepas de campo	175,33	236,47	423,02ab	681,37 <sup>a</sup>
<b>Viabilidade (%)</b>				
Controle	99,05ns	99,05ns	99,05ns	99,05ns
Ionóforo	100,00	100,00	100,00	100,00
Vacina Comercial	98,10	97,20	97,20	97,20
Cepas de campo	100,00	99,05	99,05	99,05

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste "t" (5%).

ns: Não significativo ( $P > 0,05$ ).

De acordo com as Tabelas 3 e 4, os tratamentos influenciaram todas as características de desempenho avaliadas ( $P \leq 0,05$ ) na fase inicial, exceto a viabilidade semanal. O ganho de peso semanal e o consumo médio semanal foram afetados pelos tratamentos a partir da terceira semana. Uma hipótese que deve ser levada em consideração é o fato de que a utilização de vacinas vivas sempre foi marcada pela “reação vacinal”, a qual é traduzida pela presença de lesões intestinais, conseqüentes da invasão e multiplicação dos parasitas e, com posterior decréscimo no ganho de peso (Newman, 1999). Dessa forma, a utilização de vacinas vivas não seria vantajosa, porém, segundo Mathis & Lang (2001), aves vacinadas apresentam ganho de peso compensatório no período seguinte a vacinação, chegando a idade de abate com peso superior ou igual ao das aves submetidas às drogas anticoccidianas.

No presente experimento, não foram observados sinais clínicos que caracterizassem “reação vacinal”. O peso das aves não foi afetado até a terceira semana de vida, porém, nesse período o ganho de peso semanal das aves vacinadas foi inferior ao das aves imunizadas com *Eimerias* de campo e, numericamente menor que os das aves dos demais tratamentos. O consumo médio de ração, das aves destes dois tratamentos, foi superior ao das aves do tratamento controle, em consequência, a conversão alimentar foi mais alta, quando comparada as demais. Esses resultados podem ser um indicativo de que a re-infecção sofrida pelas aves, originada da exposição não controlada aos oocistos da cama do aviário, tenha sido forte suficiente para causar alterações no desempenho. Segundo Chapman *et al.* (2005), devido ao fato das vacinas vivas serem administradas somente uma vez, a re-infecção, conseqüente da ingestão de oocistos vacinais das fezes ou, até mesmo de oocistos não vacinais presentes na cama do aviário é importante para a formação de imunidade sólida na ave. Pois, esta não se constrói somente com a aplicação primária da vacina, e sim, com a ingestão de pequenas doses de oocistos.

Testes envolvendo a mesma vacina utilizada no presente trabalho foram conduzidos, anteriormente, em criações comerciais de perus de corte. Nenhum autor (Linckersdorff-Sietz *et al.*, 2004, Lee & White, 2001, Lee *et al.*, 2006) relatou sinais clínicos típicos de “reação vacinal”, tão pouca redução no desempenho das aves, a qual pudesse ser em decorrência da aplicação da vacina.

Ao analisar a Tabela 3, observa-se que os tratamentos influenciaram o peso das aves ( $P < 0,05$ ) na fase inicial. O efeito dos tratamentos pôde ser visualizado a partir da quarta semana, posteriormente a aplicação do desafio de coccidiose. Apenas as aves pertencentes ao tratamento controle apresentaram sinais clínicos da doença, tais como fezes diarréicas e prostração. As aves que foram imunizadas por *Eimerias* de campo apresentaram peso médio 19% acima do peso apresentado pelas aves pertencentes ao tratamento controle, seguidas pelas que receberam droga anticoccidiana com 17% e das aves imunizadas por cepas vacinais com 14,3%. Sabe-se que o ciclo de vida das *Eimerias* ocorre em diferentes regiões do intestino, resultando em danos às células intestinais. Em perus, na maioria das vezes, não são observadas lesões macroscópicas na mucosa intestinal, tão pouco sinais clínicos, ao contrário de frangos, nos quais as lesões são bem definidas e freqüentes. Embora não existam lesões aparentes na mucosa, a capacidade absorptiva desta pode estar gravemente comprometida, o que resulta em menor ganho de peso e maior conversão alimentar (Ruff *et al.*, 1981).

Segundo Ruff *et al.* (1981), infecções por *Eimerias* resultam em má absorção de vários nutrientes. Os autores comprovaram este fato realizando testes de absorção com glucose e metionina, em infecções envolvendo *E. meleagridis* ( $4 \times 10^5$  oocistos/ave), *E. adenoides* ( $1 \times 10^5$  oocistos/ave) e *E. dispersa* ( $4 \times 10^5$  oocistos/ave). A absorção dessas substâncias foi significativamente menor no jejuno e íleo das aves infectadas, quando comparados ao tratamento controle, sem infecção. Em infecções com *E. adenoides*, a qual sabidamente parasita as células do íleo, ceco e intestino grosso, foi observada redução na absorção de metionina no jejuno, mesmo com a total ausência de parasitas neste segmento, conseqüentemente, houve redução no ganho de peso das aves infectadas. Isto significa que a má absorção não se limita somente às áreas parasitadas, mas também a áreas adjacentes, contribuindo, ainda mais, para redução do ganho de peso das aves.

Na quarta semana, as aves imunizadas, vacinadas ou que receberam droga anticoccidiana apresentaram ganho de peso semelhante, diferindo apenas das aves do tratamento controle, as quais apresentaram resultado inferior às demais. No caso das aves imunizadas por *Eimerias* de campo, estas apresentaram ganho de peso 73% acima do tratamento controle e, as aves vacinadas 66,4% acima. Isto demonstra que as aves estavam aptas imunologicamente para responder ao desafio da doença, já que, o ganho

de peso após o desafio de coccidiose é uma das principais ferramentas de avaliação da eficiência do processo de vacinação, bem como do produto utilizado (Chapman *et al.*, 2005).

Ainda na quarta semana, as aves que receberam droga anticoccidiana apresentaram ganho de peso 78,2% superior às aves do tratamento controle, sendo que o consumo de ração não foi influenciado negativamente pelo desafio de coccidiose, tão pouco a conversão alimentar. Vários estudos têm demonstrado a eficácia dos antibióticos ionóforos contra *Eimerias* de perus (Anderson *et al.*, 1976, Chapman *et al.*, 1998, Chapman & Saleh, 1999, Jeffers & Bentley, 1980), porém poucos deles (Mathis & Castiglia, 1997, McDougald *et al.*, 1990) relataram o uso da maduramicina para esta espécie, embora essa seja amplamente utilizada nas criações comerciais. Dentre poucos, está o estudo realizado por McDougald *et al.* (1990), os quais encontraram resultados semelhantes ao do presente artigo, com perus alimentados com 5ppm de maduramicina (1%) e desafiados com inóculo contendo oocistos de *E. adenoides*, *E. dispersa*, *E. meleagrimitis* e *E. gallopavonis* ( $3 \times 10^5$  oocistos/ave totais). Embora o número de oocistos utilizados tenha sido muito superior ao do presente experimento e, de espécies comprovadamente patogênicas, as aves que receberam ração com a droga anticoccidiana apresentaram apenas 8% a mais de ganho de peso na quarta semana, uma semana após o desafio de coccidiose, quando comparado ao tratamento controle, não medicado. É importante ressaltar que a linhagem utilizada neste experimento foi a Nicholas e, para galinhas, a patogenicidade das diferentes espécies de *Eimeria* é significativamente influenciada pelos fatores genéticos do hospedeiro (Pinard-Van Der Laan *et al.*, 1998). Porém, para perus não existem relatos sobre a influência genética na resposta às infecções por *Eimerias*. Outro fator relevante é que as espécies de *Eimerias* utilizadas para o desafio experimental foram isoladas de criações comerciais. Para identificação das espécies, os autores utilizaram técnicas como tamanho e forma de oocistos, sítio de lesão e período pré-patente. Estas técnicas, como discutido no início deste artigo, podem induzir a erros na identificação das espécies, conduzindo a interpretações equivocadas dos resultados.

Drogas anticoccidianas são sabidamente eficientes no controle da coccidiose. Princípios ativos como a maduramicina, além de apresentarem poder coccidiostático ainda possuem ação bactericida, o que colabora para o bom desempenho das aves.

A viabilidade das aves não foi afetada pelos tratamentos ( $P>0,05$ ), em nenhuma semana da fase inicial. A mortalidade ocorrida no período foi resultante de aves refugos. Mortalidade gerada por coccidiose é relatada somente em fortes infecções causadas por espécies patogênicas (Chapman, 2008).

A fase inicial da criação é de fundamental importância, pois visa preparar a ave para que essa possa expor todo o seu potencial de desempenho na fase final. Ao avaliar o desempenho das aves nesta fase, observa-se que o desafio de coccidiose produziu efeitos deletérios, principalmente, sobre o desempenho das aves que não foram submetidas a nenhum método de prevenção ou controle da doença. Já, as demais apresentaram bons resultados quando comparados aos objetivos de desempenho preconizados pelo Manual da Linhagem B.U.T. 9, obtendo, dessa forma, melhores condições para enfrentar a transição entre a fase inicial e final. Esse procedimento de manejo gera grande estresse para as aves, devido ao transporte e a adaptação às novas instalações, o que as torna mais sensíveis a agentes patogênicos. Portanto, é fundamental que a saúde da ave esteja em perfeito equilíbrio, principalmente o trato intestinal, o qual é responsável pela absorção dos nutrientes.

#### **Fase Final - 29º dia até a idade de abate (70 dias)**

Na Tabela 5 podem ser visualizados os resultados do peso médio semanal das aves e na Tabela 6 o ganho de peso semanal, conversão alimentar, consumo médio de ração semanal e a viabilidade das aves, correspondente ao período final da criação.

Tabela 5. Peso médio semanal (g) das aves experimentais na fase final de criação.

<b>Tratamento</b>	<b>Peso médio semanal (g)</b>					
	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
Controle	1390c	2009b	2784c	3773c	4862c	5821c
Ionóforo	1432bc	2033ab	2831bc	3843bc	4916bc	5882bc
Vacinação	1534a	2133a	2938a	3965a	5024a	5985a
Cepas de campo	1477ab	2068ab	2874ab	3889ab	4976ab	5959ab

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste “t” (5%).

Tabela 6. Ganho de peso semanal, conversão alimentar, consumo médio de ração e viabilidade das aves experimentais na fase final da criação.

<b>Ganho de peso semanal (g)</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
Controle	547,28a	619,12a	774,85ns	989,21 ns	1088,90ns	958,97ns
Ionóforo	414,76b	590,36ab	797,50	1011,76	1073,45	965,45
Vacinação	549,85a	598,82ab	804,73	1027,27	1059,07	960,55
Cepas de campo	445,29b	576,31b	806,57	1014,47	1087,16	982,83
<b>Conversão alimentar</b>						
Controle	1,58bc	1,68ns	1,69ns	1,77ns	2,00 ns	2,54ns
Ionóforo	1,87a	1,77	1,68	1,78	1,98	2,55
Vacinação	1,51c	1,84	1,70	1,72	2,03	2,59
Cepas de campo	1,76ab	1,85	1,75	1,79	2,00	2,56
<b>Consumo médio de ração semanal (g)</b>						
Controle	868,4ns	1040,58ns	1310,38ns	1753,16ns	2181,57ns	2442,42ns
Ionóforo	774,68	1049,25	1343,85	1797,45	2132,71	2460,59
Vacinação	833,40	1103,17	1365,81	1823,89	2146,21	2490,26
Cepas de campo	779,77	1063,67	1410,76	1826,93	2180,28	2525,62
<b>Viabilidade (%)</b>						
Controle	99,05ns	99,05ns	99,05ns	99,05ns	99,05ns	99,05ns
Ionóforo	100,00	100,00	100,00	100,00	99,05	99,05
Vacinação	97,20	97,20	97,20	97,20	97,20	97,20
Cepas de campo	99,05	99,05	99,05	99,05	99,05	99,05

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste “t” (5%).

ns: Não significativo (P>0,05).

Ao analisar a Tabela 5 verifica-se que os tratamentos influenciaram o peso das aves até o final da criação ( $P \leq 0,05$ ). Já, na Tabela 6, nota-se que o ganho de peso foi influenciado pelos tratamentos ( $P \leq 0,05$ ) somente até a sexta semana e, a conversão alimentar até a quinta semana. Os demais parâmetros não foram influenciados ( $P > 0,05$ ) pelos tratamentos em nenhum período da fase final.

As aves do tratamento controle apresentaram boa recuperação no ganho de peso e conversão alimentar, porém, obtiveram peso médio final inferior as aves imunizadas por *Eimerias* e imunizadas pela vacina. Esse resultado comprova os efeitos deletérios da coccidiose sobre o desempenho das aves, tornando-se um indicativo claro de que existem espécies patogênicas de *Eimerias*, pelo menos em parte das criações de perus brasileiras.

As aves submetidas à vacinação apresentaram peso final superior, quando comparado aos resultados do tratamento controle e com droga anticoccidiana. Este é um bom indicativo de que a imunidade gerada pelas cepas vacinais foi suficiente para proteger as aves contra o desafio de coccidiose. Também é possível inferir que as aves foram expostas de forma adequada aos oocistos vacinais e, que as re-infecções posteriores, necessárias a formação da imunidade e sujeitas aos procedimentos de manejo, também sucederam de forma satisfatória, resultando em excelente desempenho final.

Embora, para frangos de corte a realidade da aplicação de vacinas vivas seja diferente, isto é, o desempenho das aves é prejudicado pela administração destas, ou ainda, não se iguala ao de aves submetidas à coccidiostáticos (Danforth & Ruff, 1999), em perus, resultados obtidos em testes de campo com vacina viva, embora restritos, são mais encorajadores. Segundo Linckersdorff-Sietz *et al.* (2004), testes com vacina em criações comerciais na Alemanha, as quais frequentemente desenvolviam coccidiose clínica, apresentaram resultados de desempenho satisfatórios, após a vacinação de dois lotes consecutivos. Sendo, a abolição de surtos de coccidiose e conseqüente redução nos gastos com tratamento da doença, o principal benefício obtido com a vacinação.

As aves submetidas à droga anticoccidiana apresentaram peso final inferior ao das aves imunizadas através da vacinação e, este não diferiu estatisticamente do peso das aves do tratamento controle, tão pouco das aves imunizadas por *Eimerias* de campo. Através da análise dos dados, pode-se observar que as aves apresentaram queda no

desempenho na quinta semana de vida, a qual impactou negativamente no peso final destas. Esses resultados contrariam alguns relatos da literatura, os quais demonstram que não há diferença no desempenho de aves vacinadas e submetidas a drogas anticoccidíacas, principalmente do grupo dos ionóforos (Radu, 2003). O nível de droga na ração foi aferido laboratorialmente após a produção da mesma, sendo que este se encontrava dentro de limites toleráveis. Por isso, deve-se levar em consideração o fato de que o inóculo utilizado como desafio foi isolado, recentemente, de criações comerciais, nas quais a maduramicina fazia parte do programa de controle da doença. Sendo que este consistia, basicamente, na rotação de drogas anticoccidíacas do tipo ionóforo, as quais possuem modo de ação semelhante. Portanto, pode haver certo grau de resistência das *Eimerias* a esta droga. Embora exista rotação entre drogas anticoccidíacas, sabe-se que pode haver resistência cruzada entre as drogas, isto é, as *Eimerias* podem demonstrar resistência a várias drogas com similar modo de ação (McDougald *et al.*, 1987). Alto grau de resistência cruzada tem sido reportado entre maduramicina, monensina e lasalocida (Raether & Paeffgan, 1989), porém, McDougald *et al.* (1987) e Bedrnik *et al.* (1989) comprovaram a eficácia da maduramicina em isolados de espécies de *Eimeria* de galinha, sabidamente resistentes a outros ionóforos. A questão da resistência das *Eimerias* às drogas anticoccidíacas, principalmente a transferência de resistência entre as *Eimerias*, já foi relatado a mais de 20 anos, porém, ainda são necessários muitos estudos neste campo, pois, até os dias atuais, os genes relacionados com a resistência ainda não foram identificados.

### **Contagem de oocistos**

Na Tabela 7 podem ser observados os dados resultantes da contagem semanal de oocistos da fase inicial e final da criação.

Tabela 7. Resultados da contagem semanal de oocistos - fase inicial e fase final da criação.

<b>Contagem de oocistos (OPG) – Fase Inicial</b>					
<b>Tratamento</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	
Controle	0ns	0b	220b	169.520 <sup>a</sup>	
Ionóforo	0	0b	140b	149.360 <sup>a</sup>	
Vacinação	0	457.560a	27.700a	83.160 <sup>a</sup>	
Cepas de campo	0	133.760a	138.280a	2.220b	

<b>Contagem de oocistos(OPG) – Fase Final</b>						
	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
Controle	16.120a	3.720a	660ab	60	200a	200ab
Ionóforo	17.420a	160b	200b	80	0b	40c
Vacinação	16.240a	1.480a	440ab	120	120a	80bc
Cepas de campo	2.620b	1.980a	4.460a	340	160a	700a

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste “t” (5%).  
ns: não significativo

Tabela 8. Análise de correlação entre dados de desempenho e contagem de oocistos.

	<b>PES</b>	<b>GPS</b>	<b>CMS</b>	<b>CA</b>	<b>VIA</b>	<b>CO</b>
<b>PES</b>	-	40,2*	22,7ns	-8,2ns	8,9ns	-10,9ns
<b>GPS</b>	-	-	23,49	-34,86*	7,3ns	-4,6ns
<b>CMS</b>	-	-	-	58,3*	7,8ns	7,3ns
<b>CA</b>	-	-	-	-	1,5ns	10,9ns
<b>VIA</b>	-	-	-	-	-	9,8ns

PES: peso semanal, GPS: ganho de peso semanal, CMS: consumo médio de ração semanal, CA: conversão alimentar, VIA: viabilidade, CO: contagem de oocistos.

\*- significativo a 0,05%, ns: não significativo a 0,05%

A eliminação de oocistos nas fezes foi influenciada pelos tratamentos ( $P \leq 0,05$ ), sendo que, as aves do tratamento controle e, as submetidas à droga anticoccidiana apresentaram oocistos nas fezes na terceira semana de vida, antes da administração do desafio de coccidiose. A manutenção de aves em total abstinência de *Eimerias* é uma tarefa difícil, pois os oocistos, devido ao seu pequeno tamanho, são facilmente

conduzidos de um local para outro, podendo, dessa forma, ser ingeridos pelas aves (Chapman, 1999).

Na quarta semana, as aves imunizadas por *Eimerias* de campo apresentaram menor eliminação de oocistos após a administração do desafio, provavelmente, devido ao desenvolvimento de imunidade, pois, tratavam-se das mesmas espécies administradas para a imunização destas aves, aos sete dias. Já os demais tratamentos, apresentaram resultados semelhantes, com grande número de oocistos eliminados.

O número de oocistos nas fezes apresenta redução gradativa, porém, segue alto até a sexta semana, quando as aves submetidas à maduramicina apresentam quantidades inferiores aos demais tratamentos. Em condições normais são observados picos de produção de oocistos entre a quarta e a sexta semana de vida das aves, sendo que após esse período há o decréscimo gradual na eliminação destes. Novos picos de eliminação podem ocorrer após a retirada da droga anticoccidiana da ração, ou em contaminações com a espécie *E. adenoides*, a qual, geralmente, apresenta um segundo pico de produção a partir da décima semana (Clark & Augustine, 2003).

Na décima semana, observa-se que as aves apresentam número reduzido de oocistos nas fezes, sendo que as aves do tratamento dois apresentam número significativamente menor, quando comparado aos demais tratamentos. Ao comparar esses resultados ao peso das aves na idade de abate, observa-se que o tratamento dois, o qual apresentou menor excreção de oocistos durante a maior parte da vida das aves, não possui, necessariamente, o melhor resultado de desempenho. Essa constatação reforça a afirmação de Clark & Augustine (2003), os quais afirmaram que nem sempre existe correlação entre excreção de oocistos e os resultados de desempenho, principalmente por que este pode ser influenciado por uma série de outros fatores. Dentre eles, as espécies presentes no hospedeiro, uma vez que, o potencial de reprodução varia de acordo com a espécie envolvida. Em adição, os autores comprovaram esta afirmação através de monitoria frequente de diversos lotes comerciais por meio da contagem de oocistos nas fezes e posterior correlação com os resultados de desempenho. Através da análise dos resultados apresentados na Tabela 8, pode-se observar que no presente estudo também não houve correlação entre o número de oocistos eliminados nas e fezes e os parâmetros de desempenho avaliados, concordando, dessa forma, com a afirmação de Clark & Augustine (2003).

Segundo Long & Millard (1977), a eficácia de drogas anticoccidianas pode ser avaliada através da contagem de oocistos nas fezes, bem como os níveis de infecção por coccidiose, isto é, quanto menor o número de oocistos, maior a eficácia da droga e menores os níveis de infecção.

A quantificação de oocistos nas fezes após um desafio de coccidiose, não é uma ferramenta comumente utilizada para avaliação da eficácia de uma vacina ou o processo de vacinação. Nesse caso, características de desempenho, principalmente o ganho de peso, fornecem informações mais seguras (Chapman *et al.*, 2005).

Em resumo, pode se observar que no presente trabalho não houve correlação entre os resultados das contagens de oocistos e o desempenho das aves nos diferentes tratamentos (Tabela 8). Porém, informações importantes como as espécies de *Eimerias* envolvidas e seu respectivo potencial reprodutivo, seriam de grande valia para maiores inferências sobre esta questão.

## CONCLUSÕES

A maduramicina apresenta boa capacidade de controle e prevenção da coccidiose, o que pôde ser evidenciado através dos resultados obtidos neste estudo.

A vacinação demonstrou boa capacidade de estimular o sistema imunológico conferindo proteção às aves mediante o desafio de coccidiose administrado, sendo possível inferir que a vacinação é uma excelente opção ao uso das drogas anticoccidianas.

A imunização das aves através de cepas de *Eimeria* de campo deve ser utilizada somente em caráter experimental.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson WI, Reid WM, McDougald LR. Efficacy of monensin against turkey coccidiosis in laboratory and floor-pen experiments. *Avian Diseases* 1976; 20; 387–394.
- Bedrník, P, Jurković P, Kucera J, Firmanová A. Cross resistance to the ionophorous polyether anticoccidial drugs in *Eimeria tenella* isolates from Czechoslovakia. *Poultry Science* 1989; 68(1):89-93.
- Chapman HD, Clark SR, Marien M. Importance and best control practices. *World Poultry* 2008; 24, 36-38.
- Chapman HD. Coccidiosis in the turkey. *Avian Pathology* 2008; 37(3):205-223.
- Chapman HD, Roberts B, Shirley MW. Guidelines for evaluating the efficacy and safety of live anticoccidial vaccines, and obtaining approval for their use in chickens and turkeys. *Avian Pathology* 2005; 34(1):279-290.
- Chapman HD, Matsler PL, Chapman ME. Control of coccidiosis in turkeys with diclazuril and monensin: effects upon performance and development of immunity to *Eimeria* species. *Avian Diseases* 2004; 48(1):631-634.
- Chapman HD. Strategic use of coccidiostats and live vaccines in coccidiosis control. *Cocciforum – New Strategies for Coccidiosis Management* 2000; 14(1):11-14.
- Chapman HD, Saleh E. Effects of different concentrations of monensin and monensin withdrawal upon the control of coccidiosis in the turkey. *Poultry Science* 1999; 78(1):50–56.
- Chapman HD. Anticoccidial drugs and their effects upon the development of immunity to *Eimeria* infections in poultry. *Avian Pathology* 1999.28(1):521-535.

Chapman HD, Sandstrom J, Breeding SW. Effect of the anticoccidial agents halofuginone and monensin when given with growth promoting antibiotics upon the control of coccidiosis in the turkey. *Avian Pathology* 1998; 27(1):498–504.

Clark RS, Augustine P. Coccidiosis in turkeys: disease. *World Poultry – Turkey Special* 2003; p. 14-17.

Danforth HD, Ruff MD. Mecanismo de indução de resistência às drogas anti-coccidianas. In: 2º Simpósio Internacional de Coccidiose; 1999; Foz do Iguaçu; Paraná. Brasil. p. 45-51.

Gordon HMcl, Whitlock AV. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. *Journal Council Scientific Industry Research Australia* 1939. 12(1):50-52.

Jeffers TK, Bentley EJ. Monensin sensitivity of recent field isolates of turkey coccidia. *Poultry Science* 1980; 59(1):1722–1730.

Lee EH, Cosstick T, Sajnovic S. Drug-free turkey production. *Canadian Poultry* 2006; p. 2-3.

Lee EH, White M. Vaccination to control coccidiosis in turkeys. *Internacional Poultry Production* 2001; 9(5):35.

Linckersdorff-Sietz B, Gansinger D, Guillot I, Salisch H, Schwarzer C. First practical experiences with Coccivac®-T in Germany. In: 5<sup>th</sup> International Symposium on Turkey Diseases; 2004; Berlin. Germany. p. 279-296.

Long PL, Millard BJ. Coccidiosis in turkeys: evaluation of infection by the examination of turkeys broiler house litter for oocysts. *Avian Pathology* 1977; 6(1):227-233.

Manual da Linhagem B.U.T. Aviagen, disponível em: <http://www.aviagen.com/output.aspx?sec=3767&con=3791&siteId=3759> Acesso em 05-1-2008.

Mathis GF, Castiglia A. A comparison of the turkey anticoccidials: lasalocid, monensin, maduramicin and halofuginone, using the parameters of efficacy and development of acquired coccidial immunity. *Poultry Science* 1997; 76(1):112.

Mathis GF, Lang M. The influence of the coccidiosis vaccine, Coccivac-B, on compensatory weight gain of broiler chickens in comparison with the anticoccidial, salinomycin. In: VIIth International Coccidiosis Conference; 2001; Palm Cove, Sydney, Australia. p. 113.

McDougald LR. Enteric disorders in turkeys: The importance of parasitic diseases and interactions. In: 5<sup>th</sup> International Symposium on Turkey Diseases; 2004; Berlin, Germany. p. 245-249.

McDougald LR. Coccidiosis. In: Saif YM, Barnes HJ, Glission JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE. (Eds.). *Diseases of Poultry* 11<sup>th</sup>, 2003. p. 974-991.

McDougald LR, Fuller AL, Mathis GF, Wang GT. Efficacy of maduramicin ammonium against coccidiosis in turkeys under laboratory and floor-pen conditions. *Avian Diseases* 1990; 34; 634-638.

McDougald LR, Lamas Da Silva JM, Solis J, Braga M. A survey of sensitivity to anticoccidial drugs in 60 isolates of coccidia from broiler chickens in Brazil and Argentina. *Avian Diseases* 1987; 31(1):287-292.

Newman LJ. Coccidiosis control with vaccine: been there, done that. Or have we? In: *Arkansas Poultry Symposium*; 1999; Springdale, Arkansas. p. 52-55.

Pinard-Van Der Laan MH, Monvoisin JL, Pery P, Hamet N, Thomas M. Comparison of outbred lines of chickens for resistance to experimental infection with coccidiosis (*Eimeria tenella*). *Poultry Science* 1998; 77:185-191.

Radu JI. Talking turkeys. *Cocciforum – New Strategies for Coccidiosis Management*, 2003; 6(1):19-23.

Radu JI. Coccivac®-T, long-term anticoccidial strategy turkeys. In: 5<sup>th</sup> International Symposium on Turkey Diseases; 2004; Berlin, Germany. p. 276-278.

Raether W, Paeffgen D. Drug sensitivity of coccidia recently selected from broiler farms in Europe. In: 5<sup>th</sup> International Coccidiosis Conference; 1989; Tours, France. p. 23-25.

Reid WM. Turkey. In: Hofstad MS, Calnek BW, Helmboldt CF, Reid WM, Yoder HW. (Eds.) *Diseases of Poultry*. 6<sup>th</sup>, Ames, Iowa State Press, 1972, p. 977-986.

Ruff MD, Augustine PC, Madden PA. *Eimeria meleagridis*, *E. adenoides*, and *E. dispersa*: Severity of infection and changes in the intestinal mucosa of the turkey. *Experimental Parasitology* 1981; 51; 87-94.

Sakomura NK, Rostagno HS. Planejamento de experimentos com monogástricos. In: Sakomura NK, Rostagno HS. (editores). *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos*. Jaboticabal: Funep-Unesp; 2007. p. 3-40.

SAS Institute. SAS® (Statistical Analysis System). User's Guide: Statistics. Cary, NC: SAS Institute, 1996.

Shirley MW. Biotechnology – Guidelines on techniques in coccidiosis research. In: Shirley MW, editor; 1995 p. 1-12.

### **CAPÍTULO 3**

**AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO E MORFOMETRIA  
INTESTINAL DE PERUS DE CORTE SUBMETIDOS A  
DIFERENTES MÉTODOS DE PREVENÇÃO DA  
COCCIDIOSE.**

## RESUMO

Com o objetivo de avaliar a eficiência dos diferentes métodos preventivos de coccidiose para perus de corte sobre a morfometria intestinal foram utilizados 120 perus de corte, fêmeas da linhagem BUT 9 distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado dividido em quatro tratamentos: **T1**- dieta controle, **T2**- dieta acrescida de droga anticoccidiana do 1º até os 60º dia (maduramicina 1%, 5ppm), **T3**- vacinação contra coccidiose (vacina comercial), **T4**- imunização com cepas de campo. A administração da vacina e do *pool* de oocistos foi realizada via ração, no sétimo dia de vida das aves. No 21º dia, as aves foram submetidas ao desafio de coccidiose, representado por um *pool* de oocistos, na dosagem de  $2 \times 10^4$  oocistos por ave, administrado individualmente. As aves foram pesadas semanalmente para determinação do peso semanal e ganho de peso semanal. Aos 27, 49 e 70 dias de criação foram retiradas, ao acaso, cinco aves por tratamento para a avaliação da morfometria intestinal. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo programa estatístico SAS, as médias comparadas pelo Teste “t” (0,05%). Na fase inicial, os tratamentos influenciaram ( $P < 0,05$ ) as variáveis de desempenho e de morfometria intestinal, sendo que as aves do tratamento controle apresentaram desempenho inferior. Na fase final, a avaliação do 49º dia de vida, revelou que as variáveis de desempenho e morfometria foram influenciadas pelos tratamentos, sendo que as aves do tratamento controle apresentaram resultado inferior às demais. No 70º dia de vida, os tratamentos influenciaram somente o tamanho dos vilos do duodeno e íleo ( $P < 0,05$ ). Todos os métodos de prevenção e controle da coccidiose aplicados demonstraram eficiência, pois não produziram efeitos adversos sobre os parâmetros avaliados e protegeram as aves contra o desafio de coccidiose.

**PALAVRAS CHAVE:** coccidiose, desempenho, droga anticoccidiana, perus, vacinação

### ABSTRACT

To evaluate the intestinal morphology and performance of broiler turkeys to different preventive coccidiosis methods, there were used 120 commercial turkeys, female, BUT 9 strain, distributed in a completely randomized into four treatments: T1-control diet, T2 - diet plus anticoccidial drug from 1<sup>st</sup> up to 60<sup>th</sup> days (maduramicin 1%, 5 ppm), T3 - vaccination against coccidiosis (commercial vaccine), T4-immunization with field strains. The vaccine administration and pool of oocysts were performed in-feed, at seventh day of life of birds. At 21 days of age, birds were submitted to coccidiosis challenge, represented by a pool of oocysts at dose of  $2 \times 10^4$  oocysts per bird, administered individually. The birds were weighed weekly to determine weekly weight and weekly weight gain. At 27, 49 and 70 days of age were taken at random, five birds per treatment to evaluate the intestinal morphology. The results were submitted to variance analysis (ANOVA) using SAS statistical program, the means were compared by t test (0.05%). In initial phase, the treatments influenced ( $P < 0.05$ ) performance and intestinal morphology, and the control treatment birds showed lower performance. In final phase, 49<sup>th</sup> day of life evaluation revealed that the performance and morphology were affected by treatments, and the control treatment birds showed lower results than others. At 70<sup>th</sup> day of life, the treatments affected only duodenum and ileum villi size ( $P < 0.05$ ). All prevention methods and coccidiosis control applied were efficient because they did not produce adverse effects on evaluated parameters and still were able to protect birds against coccidiosis challenge.

**Keywords:** anticoccidial drug, coccidiosis, performance, turkeys, vaccine

## INTRODUÇÃO

A eficiência produtiva das aves é altamente dependente de fatores extrínsecos e intrínsecos. Dentre os fatores intrínsecos encontram-se a genética e a homeostase dos sistemas orgânicos, principalmente da integridade dos mecanismos fisiológicos de digestão e absorção, na mucosa intestinal. Sabe-se que o epitélio intestinal age como uma barreira natural contra agentes patogênicos e que, principalmente, é o responsável pela absorção dos nutrientes da dieta, a qual representa cerca de 70% dos custos de produção (Macari & Maiorka, 2000). Portanto, distúrbios na flora intestinal ou nas células epiteliais intestinais, causados por algum tipo de estresse, desequilíbrio nutricional ou agentes patogênicos, como as *Eimerias*, podem causar a quebra da homeostase deste sistema, diminuindo, drasticamente, os índices de eficiência produtiva.

A coccidiose aviária, doença causada por protozoários do gênero *Eimeria*, possui importância mundial na produção de aves, devido ao seu impacto econômico. Perus podem ser parasitados por sete espécies de *Eimerias*, dentre elas as espécies *Eimeria meleagrimitis*, *E. adenoides*, *E. gallopavonis* e *E. dispersa*, as quais são consideradas altamente patogênicas. As demais espécies, *E. innocua*, *E. meleagridis* e *E. subrotunda* não causam grandes perdas econômicas, devido a sua baixa patogenicidade (McDougald, 2003). Estes protozoários se multiplicam no trato intestinal das aves causando dano tecidual, o qual pode resultar em sinais clínicos como redução da ingestão de alimento, má absorção de nutrientes, desidratação e aumento da susceptibilidade a outros agentes infecciosos (Clark & Augustine, 2003). O surgimento dos sinais clínicos se deve, principalmente, ao fato de que parte do ciclo de vida das diferentes espécies de *Eimeria* ocorre dentro das células intestinais, levando a modificações nas estruturas da mucosa, principalmente nos vilos.

Segundo Gussem *et al.*(2009), devido a coccidiose ser uma infecção de natureza complexa e que, muitas vezes, está associada a outros agentes infecciosos, esta pode conduzir a alterações na morfologia de todo o trato intestinal.

Estudos da mucosa intestinal utilizando microscopia óptica e eletrônica demonstraram que o parasitismo das células intestinais por espécies como *E. meleagrimitis* pode resultar na redução da altura das vilosidades devido ao dano celular (Madden & Ruff, 1979). A principal consequência de interferências na estrutura dos

vilos é a redução da absorção de nutrientes como, por exemplo, glucose e a metionina, afetando, negativamente, o desempenho das aves e elevando os custos de produção (Ruff *et al.*, 1981).

Embora a coccidiose venha sendo estudada a mais de 100 anos, ainda continua sendo alvo de muitas pesquisas, principalmente devido às mudanças ocorridas no perfil do mercado consumidor, o qual vem exigindo maior segurança com relação aos produtos fornecidos pela indústria, principalmente com relação aos compostos químicos utilizados na alimentação de animais destinados ao consumo humano. Essas mudanças já resultaram em ações reais, recentemente, a União Européia proibiu o uso de antibióticos como promotores de crescimento e, o futuro das drogas anticoccidianas ainda permanece incerto.

Sabe-se que os altos índices de produtividade alcançados pela avicultura se devem, em parte, ao sucesso das drogas anticoccidianas no controle da coccidiose aviária. Porém, os 70 anos de história do uso das drogas anticoccidianas na avicultura trouxeram consigo o conceito da resistência das *Eimerias* a esses compostos, tornando cada vez menor o número de drogas realmente eficazes no controle da doença (Chapman & Rathinam, 2007).

O controle da coccidiose através da imunização por cepas vacinais é uma prática muito comum em galinhas, porém, para perus, existe restrita literatura a respeito do uso de vacinas (Chapman *et al.*, 2005). As únicas vacinas disponíveis para a espécie são do tipo viva e virulenta (Chapman, 2008), o que causa certa resistência ao seu uso, por parte do corpo técnico das empresas, uma vez que, para este tipo de vacina ser eficaz, os oocistos vacinais necessitam replicar nas células intestinais, o que poderá resultar em dano tecidual e redução do desempenho.

Portanto, frente à conjuntura dos fatos expostos é necessário elucidar detalhes referentes às alternativas de prevenção da coccidiose. Por isso, o presente trabalho objetivou avaliar o desempenho e morfologia intestinal de perus de corte submetidos a diferentes métodos preventivos de coccidiose.

## MATERIAL E MÉTODOS

### **Experimento I**

Um experimento com duração de 35 dias foi realizado na UNESP, Campus de Botucatu, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), com o objetivo de avaliar a eficiência de um inóculo contendo um *pool* de oocistos de *Eimerias* de campo como desafio de coccidiose para perus de corte. Para tal, foram alojados, em gaiolas de arame galvanizado medindo 0,69 metros de altura, 0,99 metros de largura e 0,96 metros de comprimento, 42 perus de corte machos, de um dia de idade da linhagem B.U.T. 9. As aves foram distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo seis tratamentos com sete repetições cada (uma ave equivaleu a uma unidade experimental), sendo eles:

Tratamento 1: controle negativo

Tratamento 2:  $2 \times 10^4$  oocistos por ave

Tratamento 3:  $3 \times 10^4$  oocistos por ave

Tratamento 4:  $4 \times 10^4$  oocistos por ave

Tratamento 5:  $5 \times 10^4$  oocistos por ave

Tratamento 6:  $6 \times 10^4$  oocistos por ave

O fornecimento de água e ração foi à vontade, sendo que as dietas foram isonutritivas. Semanalmente, foi realizada a pesagem individual das aves.

Como desafio, foi utilizado um *pool* de oocistos de *Eimeria*, o qual foi confeccionado a partir de amostras de fezes coletadas em diferentes aviários de criações comerciais de perus de corte da cidade de Castro, no estado do Paraná. Para recuperação dos oocistos das fezes foi utilizada a técnica preconizada por Shirley (1995). Antes da administração do inóculo, este passou por um processo de limpeza, o qual consistiu na remoção do dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) da solução, através de múltiplas centrifugações com água destilada. A solução foi ressuspensa com água destilada e, posteriormente, quantificada com auxílio de câmara de Neubauer e microscópio óptico, sendo que a concentração encontrada foi de 111.000 oocistos esporulados por mililitro (mL) de solução. A partir dessa informação foram determinadas as quantidades de solução para que as aves fossem desafiadas de acordo com o tratamento do qual faziam parte.

Aos 21 dias de idade, devido à administração do desafio, as aves do tratamento controle foram isoladas das demais, porém foram mantidas sob as mesmas condições de

manejo e ambiência do restante das aves. A pessoa responsável pelo manejo destas aves não manteve contato com as demais.

A inoculação do desafio foi realizada individualmente, sendo que a solução de oocistos foi administrada diretamente no esôfago das aves com auxílio de uma pipeta semi-automática.

Devido ao fato de não se ter conhecimento das espécies presentes no inóculo e, tão pouco, suas características, como sítios de lesão, após o desafio, as aves foram divididas da seguinte forma:

- Três aves foram destinadas a pesagem diária até o 14º dia após a inoculação, objetivando verificar a influência da dose desafiante sobre o ganho de peso diário (GPD) das aves.

- Quatro aves foram destinadas a necropsia no quinto dia após a inoculação do desafio.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com auxílio do programa estatístico SAS (1996) e as médias comparadas pelo Teste de “t” (0,05%).

## **Experimento II**

Um experimento, com duração de 70 dias, foi conduzido na UNESP, Campus de Botucatu, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ). Foram alojados, em boxes, 120 perus de corte fêmeas da linhagem B.U.T. 9, de um dia de idade. Antes do alojamento, as aves foram pesadas e anilhadas, e, posteriormente, distribuídas de acordo com o peso, em um delineamento experimental inteiramente casualizado dividido em quatro tratamentos com 30 repetições cada (a ave foi considerada a unidade experimental).

Tratamento 1 (Controle): dieta controle sem vacinação contra coccidiose e drogas anticoccidianas;

Tratamento 2 (Maduramicina): dieta acrescida de droga anticoccidiana (maduramicina amônio 1%, 5ppm) do 1º até os 60 dias de vida das aves,

Tratamento 3 (Vacina comercial): imunização com vacina contra coccidiose (vacina comercial),

Tratamento 4 (Cepas de campo): imunização com cepas de *Eimeria* de campo.

As aves foram alojadas com densidade populacional de 21 aves/m<sup>2</sup> até o 7º dia, entre o oitavo dia e a sexta semana, a densidade populacional foi de 9,8 aves/m<sup>2</sup>, a partir da sétima semana, a densidade populacional passou a ser de 4,2 aves/m<sup>2</sup>, sendo que a densidade foi adequada de acordo com a retirada de aves para as avaliações de morfometria intestinal. Foi utilizada maravalha como cama.

Para imunização das aves do tratamento três foi utilizada uma vacina comercial, do tipo viva e virulenta, contendo quatro espécies de *Eimerias*: *E. adenoides*, *E. dispersa*, *E. meleagrimitis* e *E. gallopavonis*. As aves do tratamento quatro foram imunizadas com um *pool* de oocistos contendo espécies de *Eimeria* de campo (sem a identificação das espécies presentes). Para produção do *pool* foi utilizada a técnica de recuperação de oocistos das fezes, adaptada de Shirley (1995). O tempo de vida do inóculo utilizado para imunização das aves foi de 32 dias, a partir da esporulação dos oocistos.

A vacina (seguindo orientações do fabricante do produto) e o *pool* de oocistos foram administrados, via ração, no sétimo dia de vida das aves, após um período de jejum alimentar de seis horas. Após a administração dos imunógenos, os boxes contendo aves de diferentes tratamentos foram isolados por meio de lonas plásticas. Equipamentos de proteção individual como luvas descartáveis e botas plásticas também foram adotados, a fim de evitar a contaminação dos tratamentos não vacinados e impedir a disseminação das diferentes espécies de *Eimeria* entre os tratamentos.

O manejo das aves dos diferentes tratamentos foi semelhante, diferindo apenas pela viragem da cama, que nos tratamentos imunizados foi realizada somente no 15º dia após a administração dos imunógenos, enquanto nos demais tratamentos este manejo foi semanal. Esse procedimento foi adotado a fim de proporcionar correta exposição das aves aos oocistos vacinais oriundos das fezes visando, apenas, a indução de resposta imunológica, sem a ocorrência de doença.

O fornecimento de água e ração foi à vontade. As dietas foram isonutritivas, sendo o programa alimentar dividido em quatro fases: inicial (1 a 21 dias), transição (22 a 35 dias), engorda (36 a 53 dias) e final (54 a 70 dias). As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas à base de milho e farelo de soja, os níveis nutricionais seguiram os recomendados pelo Manual da Linhagem B.U.T. 9.

Aos 21 dias de idade, todas as aves foram desafiadas com  $2 \times 10^4$  oocistos por ave. O inóculo contendo os oocistos infectantes foi administrado diretamente no esôfago das aves, com o auxílio de uma pipeta semi-automática, previamente aferida.

Não foi realizada a troca de aviário e da cama ao final da fase inicial (28 dias), porém, as aves foram transportadas durante uma hora, em caixas adequadas, a fim de simular o procedimento de transferência de instalações (fase inicial para fase final) realizado comercialmente.

Os parâmetros avaliados foram: morfometria intestinal e desempenho.

Morfometria intestinal: Para avaliação dos parâmetros de morfometria intestinal foram realizadas três amostragens durante o período de criação. Aos 27, 49 e 70 dias de vida foram retiradas, aleatoriamente, cinco aves por tratamento, as quais foram submetidas a seis horas de jejum de ração e, posteriormente, eutanasiadas por deslocamento cervical. A fim de evitar possíveis alterações na histologia da mucosa intestinal causadas pela autólise dos tecidos, imediatamente após a eutanásia foi realizada a retirada das vísceras, as quais foram processadas de acordo com as análises realizadas.

Para a determinação dos dados da morfometria intestinal os segmentos foram divididos segundo Dyce *et al.* (1996), em: duodeno: do piloro até a porção distal da alça duodenal; jejuno: a partir da porção distal da alça duodenal até o divertículo vitelino; íleo: a partir do divertículo vitelino até a inserção dos cecos; cecos: da inserção até suas extremidades; reto: a partir da inserção dos cecos até o início da cloaca.

Peso do trato intestinal: para a determinação do peso absoluto, os diferentes segmentos foram abertos para a retirada do conteúdo intestinal, o qual poderia interferir no peso real do órgão, em seguida, foram pesados em balança de precisão de um grama. Para a avaliação dos resultados de peso do trato intestinal e dos diferentes segmentos foi utilizado o peso relativo, isto é, o peso percentual em relação ao peso total da ave.

Altura dos vilos: Para a avaliação morfométrica dos vilos foram retirados fragmentos de aproximadamente dois centímetros da porção média de todos os segmentos do trato intestinal. Os fragmentos foram fixados em placas rígidas, lavados com água destilada e imersos em solução de formalina 10% (formol 37%/água destilada, 1:9), onde permaneceram por 24 horas. Após esse período, os fragmentos foram colocados em embalagens plásticas (*cassetes*), as quais foram imersas em água,

permanecendo por 72 horas para a retirada do fixador (formalina 10%). Em seqüência, foi realizada a “redução” dos fragmentos, isto é, a retirada das bordas dilaceradas, restando apenas a porção totalmente íntegra do fragmento.

Após esses procedimentos, foi realizada a desidratação dos tecidos através da passagem em diferentes concentrações de etanol (70, 80, 90, 95 e 100%) durante um período de uma hora e vinte minutos para cada concentração. Em seguida, foi realizada a diafanização com duas passagens por xilol com duração de uma hora por passagem, embebição em parafina plástica durante uma hora e trinta minutos. Em seqüência foi realizada a inclusão dos fragmentos em *cassetes* plásticos com parafina, resultando nos blocos histológicos.

A microtomia foi realizada com auxílio de micrótomo automático (Leica, RM-2145) equipado com navalhas descartáveis, obtendo-se cortes de 4 $\mu$ m em seqüência semi-seriada de um corte de 30 $\mu$ m de descarte. Os cortes foram colocados em álcool 30%, em seguida imersos em água destilada a 58°C e, posteriormente, distendidos sobre lâminas histológicas e levados para estufa, onde permaneceram por 25 minutos a uma temperatura de 80°C. Após esses procedimentos os cortes sofreram a desparafinização, para, posteriormente, serem submetidos ao processo de coloração.

As secções histológicas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (HE), de acordo com a metodologia preconizada por Behmer *et al.* (1976).

As medidas de altura dos vilos foram obtidas através das análises das imagens dos cortes histológicos realizadas com auxílio de um sistema computadorizado de captura de imagem (Leica Qwin Lite 3.0). Foi realizada a medida de altura de 10 vilos de cada segmento do intestino.

Os parâmetros de desempenho avaliados foram: peso médio semanal e ganho de peso médio semanal.

Para obtenção do peso médio semanal, as aves foram pesadas individualmente, seguindo-se o número da anilha.

O ganho de peso semanal foi obtido pela diferença entre as pesagens que foram efetuadas no 1º, 7º, 14º, 21º, 28º, 35º, 42º, 49º, 56º, 63º e 70º dias de vida das aves, de acordo com a idade em que estas foram abatidas. Os parâmetros de desempenho avaliados são referentes somente as aves necropsiadas no período, para que dessa forma,

fossem geradas informações mais precisas a respeito da relação entre o desempenho e a morfometria intestinal.

Os resultados referentes à morfometria intestinal e aos parâmetros de desempenho foram submetidos à análise de variância (ANOVA), as médias foram comparadas pelo Teste “t” (5%), com auxílio do programa estatístico SAS (1996).

O modelo estatístico utilizado para análise de variância foi:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + B(A)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad i = 1, \dots, a; \quad j = 1, \dots, b; \quad k = 1, \dots, n$$

onde:

$y_{ijk}$  = observações  $k$  no nível  $i$  do fator  $A$  e nível  $j$  do fator  $B$

$\mu$  = media geral

$A_i$  = o efeito do nível  $i$  sobre o fator  $A$

$B(A)_{ij}$  = o efeito do nível  $j$  sobre o fator  $B$  dentro do nível  $i$  do fator  $A$

$\varepsilon_{ijk}$  = erro ao acaso com média 0 e variância  $\sigma^2$

$a$  = número de níveis de  $A$ ;  $b$  = número de níveis de  $B$ ;  $n$  = número de observações por nível  $B$ .

Tabela 1. Composição percentual e estimada das dietas experimentais.

Ingredientes	Tipo de Ração							
	Inicial	Inicial T2	Transição	Transição T2	Engorda	Engorda T2	Final	Final T2
Farelo de Soja	51,15	51,17	47,69	47,70	42,42	42,43	38,71	38,72
Milho	35,91	35,81	39,77	39,68	45,76	45,67	49,66	49,56
Oleo Soja	5,77	5,81	5,80	5,83	5,49	5,53	6,25	6,28
Fosfato Bicalcico	2,85	2,85	2,59	2,59	2,17	2,18	1,63	1,64
Calcário	1,37	1,36	1,28	1,28	1,33	1,34	1,27	1,27
L-Lisina 98%	1,28	1,28	1,28	1,28	1,27	1,28	1,02	1,02
Bicarbonato de Sódio	0,60	0,60	0,56	0,56	0,53	0,54	0,50	0,50
Metionina	0,39	0,39	0,35	0,35	0,35	0,35	0,33	0,33
Adsorvente	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Suplemento Mineral <sup>1</sup>	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Treonina	0,13	0,13	0,11	0,11	0,11	0,11	0,06	0,06
Suplemento Vitamínico <sup>2</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,08	0,08	0,08	0,08
Anticoccidiano <sup>3</sup>	-	0,05	-	0,05	-	0,05	-	0,05
<b>Total</b>	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>Níveis Nutricionais Calculados</b>								
	<b>Ração Inicial</b>	<b>Ração Transição</b>	<b>Ração Engorda</b>	<b>Ração Final</b>				
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3.000	3.050	3.100	3.200				
Proteína Bruta (%)	28,00	26,00	24,00	21,00				
Cálcio (%)	1,40	1,30	1,20	1,05				
Fósforo Disponível (%)	0,75	0,70	0,60	0,50				
Lisina (%)	1,82	1,70	1,50	1,30				
Metionina Total (%)	0,73	0,68	0,63	0,57				
Metionina + Cistina Total (%)	1,18	1,11	0,96	0,91				
Arginina Total (%)	1,95	1,82	1,65	1,43				
Treonina Total (%)	1,16	1,09	0,96	0,85				

<sup>1</sup>-Enriquecimento mineral por kg de ração: Cu: 15 mg; Fe:65 mg; Mn: 110 mg; Zn:100 mg; I: 1,5 mg; Se: 0,3 mg. <sup>2</sup>-Enriquecimento vitamínico por kg de ração: Vit. D3: 4000 UI; Vit. E: 50 UI; Vit. K3: 4,5 mg; Biotina: 0,25mg, Tiamina B1: 4,5mg, Riboflavina B2: 8mg; Piridoxina: 7mg, Vit. B12: 0,020 mg; Niacina: 75 mg; Ácido Pantotênico: 23 mg; Ácido Fólico: 2 mg, Antioxidante: 15 mg, 3- Maduramicina 1% 5ppm.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Experimento I

A condição ideal para execução de testes envolvendo desafio experimental de coccidiose está ligada a utilização de amostras puras de *Eimerias* no desafio, porém, durante o desenvolvimento deste estudo foram encontradas inúmeras dificuldades para obtenção de amostras puras de *Eimerias* de perus, dentre estas, a escassez e o custo.

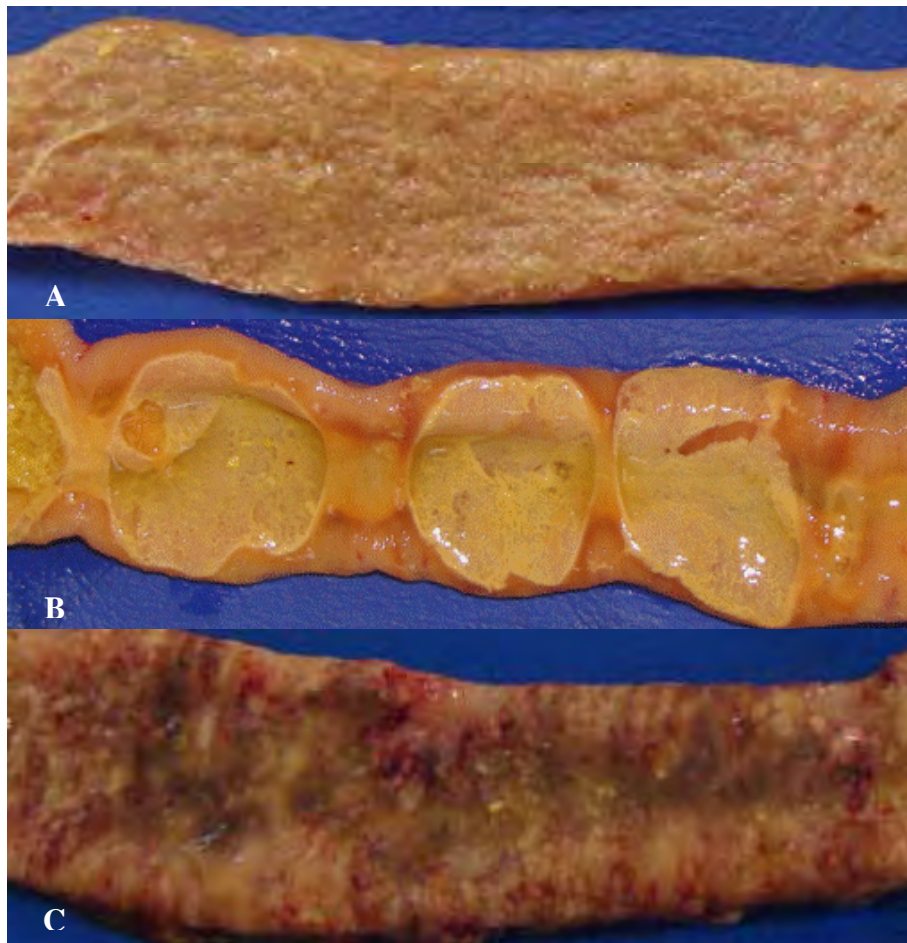
As tentativas de identificação e isolamento de espécies de *Eimerias* de campo também foram dificultadas devido ao fato de que métodos, comumente, utilizados para identificação de *Eimerias* de outras espécies, como sítios de lesões, período pré-patente, forma e tamanho dos oocistos não devem ser aplicados para *Eimerias* de perus, devido à grande semelhança entre elas (Reid, 1972). Testes de imunidade cruzada e PCR (*Polimerase Chain Reaction*) são considerados confiáveis para identificação *Eimerias* de aves, porém o desenvolvimento de métodos, como a PCR é tolhido pela dificuldade de obtenção de amostras contendo espécies puras de *Eimerias* ou pela falta de descrição detalhada de cada espécie (Chapman, 2008). Portanto, para viabilizar a execução deste trabalho, foi necessário produzir um inóculo contendo oocistos viáveis para ser utilizado como desafio da doença para as aves experimentais, bem como a determinação da dose desafiante para o Experimento II. Na Tabela 2 podem ser observadas as médias de ganho de peso diário (GPD) das aves experimentais desafiadas com diferentes concentrações de oocistos de campo.

Tabela 2. Médias de GPD das aves experimentais de 21 a 35 dias de vida.

<b>Tratamentos</b>	<b>GPD (g)</b>
Controle	84,4a
2x10 <sup>4</sup> oocistos	70,7b
3x10 <sup>4</sup> oocistos	65,3b
4x10 <sup>4</sup> oocistos	56,5c
5x10 <sup>4</sup> oocistos	52,7c
6x10 <sup>4</sup> oocistos	44,2d

a-b-c Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si pelo Teste de “t” (P≤0,05).

Através da análise dos resultados verifica-se que as aves submetidas à inoculação de oocistos tiveram redução no GPD, quando comparadas às aves pertencentes ao tratamento controle, sem inoculação. Observa-se que o GPD foi inversamente proporcional ao número de oocistos administrados, o que pode ser considerado um indicativo de que o inóculo possuía pelo menos uma espécie de *Eimeria* de alta patogenicidade. Através da análise da mucosa intestinal, no momento da necropsia, observou-se que todas as aves que receberam oocistos apresentaram lesões, sendo que a intensidade destas variou de acordo com o número de oocistos administrados (Figuras 1, 2, 3, 4 e 5). As aves que receberam  $2 \times 10^4$  oocistos apresentaram lesões leves na mucosa intestinal, porém o GPD foi reduzido em 16,3%, quando comparado ao resultado apresentado pelas aves do tratamento controle. Já as aves que receberam uma dosagem superior,  $6 \times 10^4$  oocistos, apresentaram a mucosa intestinal intensamente agredida, o que repercutiu negativamente sobre o ganho de peso destas, como pode ser observado na Tabela 2. Segundo Chapman (2008), a apresentação da doença, na qual os sinais clínicos e achados de necropsia não são tão evidentes é, comumente, chamada de coccidiose subclínica e, acredita-se que essa seja a forma mais encontrada nas criações comerciais. Portanto, os efeitos produzidos pela aplicação de  $2 \times 10^4$  oocistos por ave são (teoricamente), dentre os demais tratamentos, os que mais se assemelham as condições encontradas no campo, onde a doença não é diagnosticada devido à ausência de sinais clínicos evidentes.

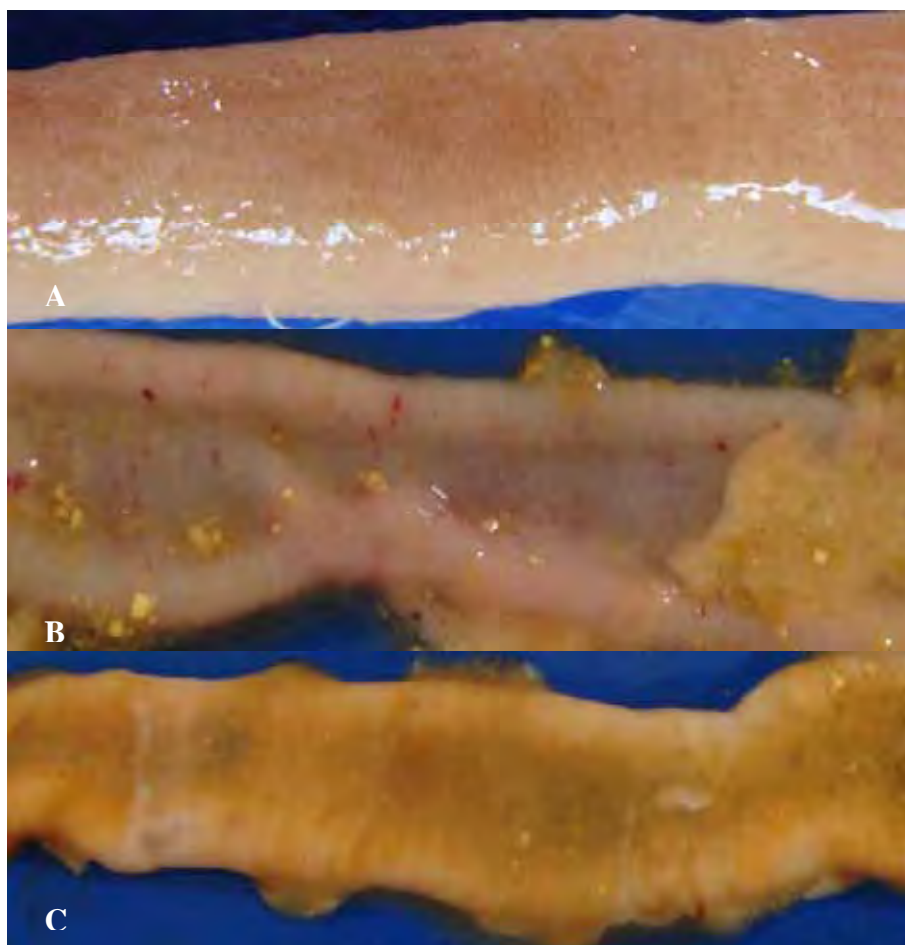


**Figura 1:** Porções de duodeno afetadas e não afetada por coccidiose.

**A:** Porção do duodeno de ave sem inoculação de oocistos.

**B:** Porção do duodeno de uma ave submetida à inoculação com  $2 \times 10^4$  oocistos/ave.

**C:** Porção do duodeno de uma ave submetida à inoculação com  $6 \times 10^4$  oocistos/ave.

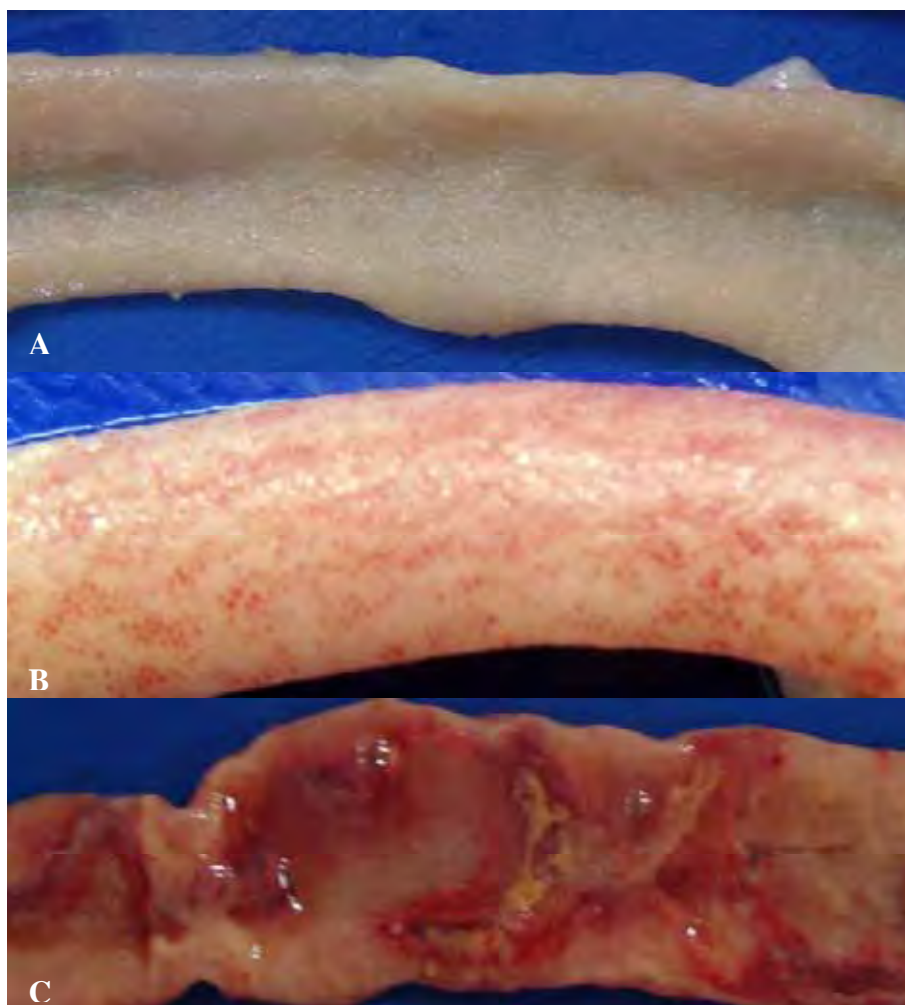


**Figura 2:** Porções de jejunum afetadas e não afetada por coccidiose.

**A:** Porção do jejunum de ave sem inoculação de oocistos.

**B:** Porção do jejunum de uma ave submetida à inoculação com  $2 \times 10^4$  oocistos/ave.

**C:** Porção do jejunum de uma ave submetida à inoculação com  $6 \times 10^4$  oocistos/ave.

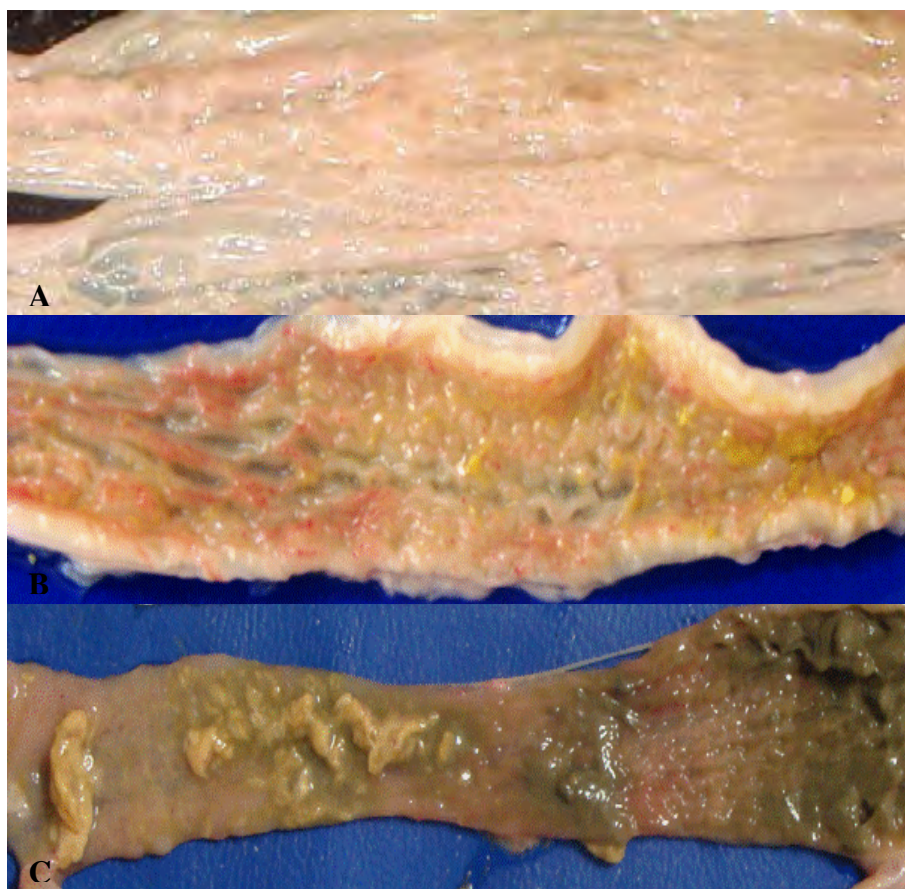


**Figura 3:** Porções de íleo afetadas e não afetada por coccidiose.

**A:** Porção do íleo de ave sem inoculação de oocistos.

**B:** Porção do íleo de uma ave submetida a inoculação com  $2 \times 10^4$  oocistos/ave.

**C:** Porção do íleo de uma ave submetida a inoculação com  $6 \times 10^4$  oocistos/ave.

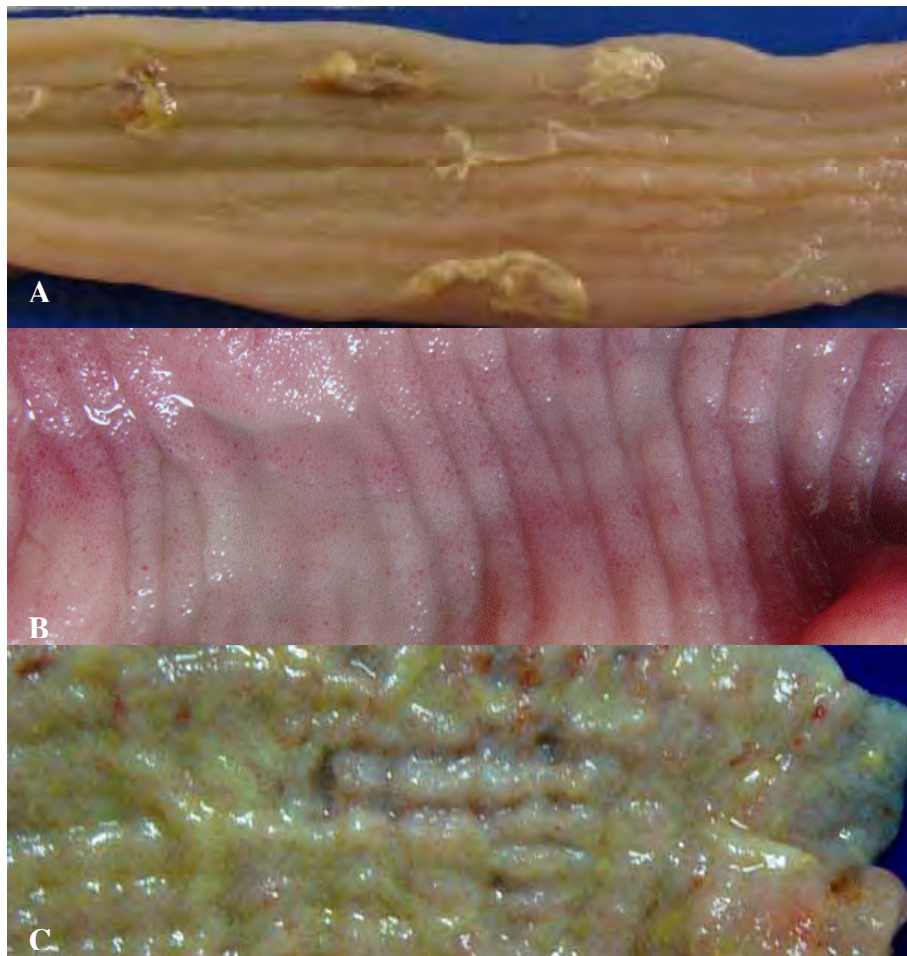


**Figura 4:** Porções de ceco afetadas e não afetada por coccidiose.

**A:** Porção do ceco de ave não submetida a inoculação de oocistos.

**B:** Porção do ceco de uma ave submetida a inoculação com  $2 \times 10^4$  oocistos/ave.

**C:** Porção do ceco de uma ave submetida a inoculação com  $6 \times 10^4$  oocistos/ave.



**Figura 5:** Porções de reto afetadas e não afetada por coccidiose.

**A:** Porção do reto de ave não submetida a inoculação de oocistos.

**B:** Porção do reto de uma ave submetida a inoculação com  $2 \times 10^4$  oocistos/ave.

**C:** Porção do reto de uma ave submetida a inoculação com  $6 \times 10^4$  oocistos/ave.

## CONCLUSÃO

O inóculo composto por oocistos de *Eimerias* de campo foi efetivo como desafio experimental de coccidiose para perus de corte, sendo que a dosagem de  $2 \times 10^4$  foi considerada ideal para ser utilizada no Experimento II.

## Experimento II

A criação de perus é dividida em duas fases, sendo a inicial compreendida entre o alojamento e o 28º dia de vida, momento em que as aves são transferidas para outra instalação, dando início a fase final, a qual está compreendida entre o 29º dia até a idade

de abate. Por isso, a avaliação dos dados foi realizada separadamente, avaliando-se, dessa forma, cada fase da criação.

### **Fase Inicial – Alojamento ao 28º dia de vida**

Avaliação do desempenho do 1º ao 28º dia e morfometria intestinal no 27º dia de vida das aves:

O efeito da infecção por *Eimerias* sobre as células da mucosa intestinal de galinhas e conseqüente efeito sobre a absorção dos nutrientes é amplamente estudado e documentado (Fernando & McCraw, 1973; Ruff, 1978 e Turk, 1978). Para perus a realidade não é a mesma, existem poucos estudos a respeito dos efeitos da coccidiose sobre a mucosa intestinal desta espécie.

Segundo Ruff *et al.* (1981), a reação da mucosa intestinal à infecção por *Eimerias*, em perus, é diferente do que geralmente é visto em galinhas.

No presente trabalho, foram realizadas avaliações de alguns parâmetros de desempenho (Tabela 3) aliados à morfometria intestinal, como pode ser visualizado na Tabela 4. De acordo com a Tabela 3 pode-se observar que o desafio de coccidiose influenciou as variáveis de desempenho no período avaliado ( $P \leq 0,05$ ) e que os tratamentos administrados às aves foram capazes de protegê-las da ação nociva das *Eimerias*.

Tabela 3. Peso médio e ganho de peso semanal das aves experimentais no período entre o 1º e o 28º dia de vida.

<b>Peso médio semanal (g)</b>					
<b>Tratamento</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>28</b>
Controle	57ns	152ns	323ns	630ns	767b
Maduramicina	58	144	307	598	1038a
Vacina Comercial	58	146	286	557	982 <sup>a</sup>
Cepas de campo	59	139	302	566	1048 <sup>a</sup>

<b>Ganho de peso semanal (g)</b>					
<b>Tratamento</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>28</b>	
Controle	81ns	163ns	264ns	200b	
Maduramicina	87	163	291	440 <sup>a</sup>	
Vacina Comercial	90	139	272	394 <sup>a</sup>	
Cepas de campo	96	171	307	417 <sup>a</sup>	

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste “t” (5%).

ns: não significativo (P>0,05).

Tabela 4. Peso relativo do trato intestinal e altura dos vilos dos diferentes segmentos intestinais das aves experimentais no 27º dia de vida.

<b>Peso relativo dos segmentos do trato intestinal (%)</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>Duodeno</b>	<b>Jejuno</b>	<b>Íleo</b>	<b>Ceco</b>	<b>Reto</b>	<b>Total</b>
Controle	1,6a	1,6b	1,2b	0,9ab	0,2b	5,1b
Maduramicina	1,3b	1,5b	1,3ab	0,7b	0,3ab	5,1b
Vacina Comercial	1,2b	1,7b	1,2b	1,0a	0,4a	5,8 <sup>a</sup>
Cepas de campo	1,2b	2,1a	1,4a	0,9ab	0,3ab	5,9 <sup>a</sup>

<b>Altura dos vilos (µm)**</b>					
<b>Tratamento</b>	<b>Duodeno</b>	<b>Jejuno</b>	<b>Íleo</b>	<b>Ceco</b>	<b>Reto</b>
Controle	2010,2b	1068,1c	801,3c	216,5c	585,9b
Maduramicina	2152,7ab	1275,6b	866,2b	218,7c	678,9ab
Vacina Comercial	2183,5a	1229,5b	888,1b	244,6b	702,6a
Cepas de campo	2219,6a	1474,9a	935,8a	260,4a	718,5a

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste “t” (5%).

\*\* : Mensuração de 10 vilos por segmento.

As aves do tratamento controle tiveram o desempenho afetado negativamente pelo desafio de coccidiose, uma vez que, estas apresentaram menor peso médio e ganho de peso aos 28 dias de vida, quando comparadas às aves que receberam os demais tratamentos. Segundo Colnago (1999), as espécies de *Eimerias* que parasitam o duodeno e o jejuno são as que causam maiores prejuízos ao processo de digestão e absorção, devido ao dano celular causado pelos parasitas.

Segundo Gussem *et al.* (2009), em qualquer infecção por espécies de *Eimerias*, sejam elas altamente patogênicas ou de baixa patogenicidade haverá invasão e destruição celular no trato intestinal do hospedeiro, a qual gera uma resposta inflamatória e conseqüente ativação do sistema imunológico. Quando o sistema imunológico é ativado, além da destruição celular do hospedeiro e perdas conseqüentes, ainda há um desvio de nutrientes para que este responda à infecção, diminuindo, ainda mais, a quantidade de nutrientes disponíveis para conversão em carne, objetivo principal da criação de perus de corte. Em adição, McBride & Kelly (1990) estimaram que a manutenção do epitélio intestinal pode gerar um custo de, aproximadamente, 20% da energia total consumida pelo animal. Portanto, é importante estar alerta para o fato de que parte da energia ingerida pelas aves fica destinada para a manutenção da mucosa intestinal, e quanto maior a necessidade de reparo da mesma, menor será a energia líquida para a produção de carne.

Na fase aguda da coccidiose, como é o caso do período em avaliação, pronunciadas alterações na morfologia intestinal são descritas, tais como, redução na altura dos vilos e na área de superfície destes. Portanto, à medida que é destruído um grande número de células nas vilosidades intestinais, ocorre a tentativa de reparo e reconstituição da mucosa através dos processos de proliferação e mitose, os quais se sucedem nas criptas (Macari, 1999).

Através da análise dos resultados de morfometria intestinal, observa-se que as aves pertencentes ao tratamento controle apresentaram peso relativo do trato intestinal inferior ( $P \leq 0,05$ ) às aves que sofreram imunização, tanto por cepas vacinais, quanto por cepas de *Eimerias* de campo. Já, quando comparadas às aves que receberam maduramicina, observa-se que os resultados não diferiram ( $P > 0,05$ ). Segundo Ruff *et al.* (1981), a redução no peso do trato intestinal de aves infectadas por *Eimerias* se deve, em grande parte, a redução na altura dos vilos. Nesta avaliação, observa-se que as aves

que apresentaram menor peso do trato intestinal (Controle e Maduramicina) também apresentaram menor comprimento dos vilos.

As aves que receberam maduramicina apresentaram desempenho superior às pertencentes ao tratamento controle ( $P \leq 0,05$ ), não diferindo ( $P > 0,05$ ) das aves imunizadas com cepas vacinais e de campo. Porém, os resultados da morfometria intestinal demonstraram que estas aves apresentaram peso do trato intestinal inferior ( $P \leq 0,05$ ) ao das aves imunizadas. A altura dos vilos dos diferentes segmentos intestinais não diferiu ( $P > 0,05$ ) da altura encontrada nas aves imunizadas por cepas vacinais, mas, foram inferiores ( $P \leq 0,05$ ) as medidas apresentadas pelas aves imunizadas por cepas de campo. Portanto, neste caso, as diferenças no peso do trato intestinal não são inteiramente explicadas pela redução na altura dos vilos, como citado por Ruff *et al.* (1981). Mudanças na morfometria intestinal podem ser um indicativo de que houve invasão celular pelas *Eimerias*, mesmo com a utilização da droga anticoccidiana na dieta, mas que esta não causou danos à mucosa a ponto de impactar negativamente sobre o desempenho das aves. Segundo Chapman (2008), a maioria das drogas anticoccidianas não inibe totalmente a multiplicação dos parasitas, o que possibilita o desenvolvimento de imunidade pelo hospedeiro.

As aves imunizadas por cepas vacinais apresentaram desempenho superior ( $P \leq 0,05$ ) às aves pertencentes ao tratamento controle. Já, quando os resultados de desempenho são comparados aos resultados apresentados pelas aves dos demais tratamentos, observa-se que não houve diferença entre eles ( $P > 0,05$ ). Embora as vacinas vivas e virulentas carreguem atrelado a si, o conceito da “reação vacinal”, a qual é traduzida pela presença de lesões intestinais, conseqüentes da invasão e multiplicação das cepas vacinais e, posterior decréscimo no ganho de peso (Newman, 1999), no presente estudo, não foram observados sinais clínicos que caracterizassem “reação vacinal”, tão pouco, observou-se interferência negativa da imunização sobre os parâmetros de desempenho. Os resultados de morfometria intestinal das aves imunizadas por cepas vacinais também demonstraram que as aves apresentaram peso intestinal superior ( $P < 0,05$ ) ao das aves do tratamento controle e ao das aves que receberam droga anticoccidiana, não diferindo, apenas, das aves imunizadas com cepas de campo. A altura dos vilos dos diferentes segmentos intestinais destas aves foi inferior quando comparada a altura apresentada pelas às aves imunizadas com cepas de campo,

e, superior quando comparada às aves do tratamento controle, não diferindo, das aves que receberam droga anticoccidiana. Portanto, pode-se inferir que a vacina apresentou boa capacidade de proteção às aves frente ao desafio de coccidiose, o que é comprovado pelos resultados de desempenho.

Com relação ao desempenho das aves imunizadas com cepas de campo, verificou-se que este foi superior ao desempenho apresentado pelas aves do tratamento controle ( $P \leq 0,05$ ), não diferindo dos resultados apresentados pelas aves dos demais tratamentos ( $P > 0,05$ ). Os resultados da morfometria intestinal foram superiores ( $P \leq 0,05$ ) quando comparados aos resultados apresentados pelas aves do tratamento controle e com droga anticoccidiana. A altura dos vilos, nos diferentes segmentos intestinais, também foi superior a altura apresentada pelas aves dos demais tratamentos ( $P \leq 0,05$ ). A imunização com cepas de campo seguiu os conceitos atribuídos para vacina autógena, embora não possa ser considerada como tal, pelo fato de não se adequar a pré-requisitos básicos exigidos para uma vacina autógena (Chapman *et al.*, 2005). Dessa forma, esperava-se que as aves submetidas à imunização por cepas de campo apresentassem resultado satisfatório, uma vez que estas foram submetidas à imunização e ao desafio pelo mesmo inóculo, porém, em doses diferentes. Contudo, a eficácia de uma vacina viva de coccidiose não depende somente da aplicação primária. É imprescindível que as aves sofram controladas e consecutivas infecções, proporcionadas pela exposição aos oocistos vacinais das fezes ou, até mesmo, de oocistos não vacinais presentes na cama do aviário para que, dessa forma, se construa imunidade sólida (Chapman *et al.*, 2005). Por isso, pode-se inferir, que o surgimento ou não da “reação vacinal” está, fortemente, ligado as tarefas de manejo realizadas neste período, principalmente as que influenciam na qualidade da cama do aviário.

Através da análise dos resultados, verifica-se que o sistema imunológico das aves foi estimulado de forma adequada, o que lhes conferiu a capacidade de reagir de forma eficaz contra o desafio de coccidiose administrado. Segundo Jeurissen *et al.* (1996), o sistema imunológico das aves pode debelar o parasita em diferentes fases do seu desenvolvimento, sendo elas: durante o período em que o esporozoítio deixa o oocisto e penetra na célula do hospedeiro, dentro do epitélio do hospedeiro (permanecendo exposto aos linfócitos intra-epiteliais) e durante o transporte do

esporozoítos do enterócito de superfície, através da lâmina própria e até a cripta do epitélio.

Os resultados encontrados neste trabalho concordam com os achados de Ruff *et al.* (1981), os quais relatam diminuição do peso intestinal e no tamanho dos vilos em aves infectadas por *Eimeria adenoides*, *E. dispersa* e *E. meleagridis*.

A fase inicial da criação é de fundamental importância, pois visa preparar a ave para que essa possa expor todo o seu potencial de desempenho na fase final. Ao avaliar o desempenho das aves nesta fase, observa-se que o desafio de coccidiose produziu efeitos deletérios, principalmente, sobre as aves que não foram submetidas a nenhum método de prevenção ou controle da doença. Já, as demais apresentaram bons resultados quando comparados aos objetivos de desempenho preconizados pelo Manual da Linhagem B.U.T. 9, apresentando condições adequadas para enfrentar a transição entre a fase inicial e final. Esse procedimento de manejo gera grande estresse para as aves, devido ao transporte e a adaptação às novas instalações, o que as torna mais sensíveis a agentes patogênicos. Portanto, é fundamental que a saúde da ave esteja em perfeito equilíbrio, principalmente a integridade da mucosa intestinal, a qual é responsável pela absorção dos nutrientes da dieta.

### **Fase Final - 29º dia até a idade de abate (70 dias)**

Avaliação do desempenho do 1º ao 49º dia de vida das aves e morfometria intestinal no 49º dia:

Através da análise dos dados apresentados na Tabela 5, pode-se observar que o desafio de coccidiose influenciou o desempenho das aves e que os tratamentos administrados (maduramicina, imunização com cepas vacinais e de campo) foram eficientes na proteção destas. Observa-se também que as aves pertencentes ao grupo controle, embora tenham apresentado recuperação do ganho de peso semanal, não atingiram o peso apresentado pelas aves submetidas a alguma forma de prevenção ou controle da doença, como pode ser evidenciado na Tabela 5.

Tabela 5. Peso médio e ganho de peso semanal das aves experimentais até 49º dia de vida.

<b>Peso médio semanal (g)</b>								
<b>Tratamento</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>28</b>	<b>35</b>	<b>42</b>	<b>49</b>
Controle	58ns	140ns	310ns	585ns	842b	1349c	1974b	2844b
Maduramicina	60	147	310	619	1099a	1773a	2216a	3040a
Vacina Comercial	57	140	305	609	1070a	1641b	2289a	3130a
Cepas de campo	62	146	316	616	1062a	1528b	2159a	3029a

<b>Ganho de peso semanal (g)</b>							
<b>Tratamento</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>28</b>	<b>35</b>	<b>42</b>	<b>49</b>
Controle	82ns	170ns	274ns	256b	506b	625a	870ns
Maduramicina	87	179	331	514a	597a	443b	824
Vacina Comercial	83	165	290	460a	507b	648a	841
Cepas de campo	87	170	301	446a	466b	631a	870

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste "t" (5%).

ns: não significativo ( $P > 0,05$ ).

Com relação à morfometria intestinal, pode-se observar, através da análise dos resultados apresentados na Tabela 6, que as aves submetidas à imunização por cepas vacinais apresentaram peso do trato intestinal inferior ( $P < 0,05$ ), quando comparado ao peso intestinal das aves dos demais tratamentos, inclusive do tratamento controle. É importante ressaltar, que em todos os tratamentos foram observadas diferenças, apenas, no peso do jejuno e íleo e, que as aves pertencentes ao tratamento imunizado por cepas vacinais e controle apresentaram peso inferior nestes segmentos, quando comparado ao peso apresentado pelas aves nos demais tratamentos. Ao avaliar os resultados da altura dos vilos, observa-se que houve intensa variação entre segmentos e entre os tratamentos. Porém, as aves que apresentaram maior peso de duodeno e jejuno não foram necessariamente as que apresentaram maior altura dos vilos nestes segmentos.

As aves submetidas a imunização por cepas de campo apresentaram medidas de vilos superiores em todos os segmentos, podendo-se inferir, portanto, que o sistema imune das aves estava capacitado à responder ao desafio, impedindo a entrada dos parasitas nas células, o que lhes conferiu bom resultado de desempenho.

Tabela 6. Peso relativo do trato intestinal e altura dos vilos dos segmentos intestinais no 49º dia de vida das aves experimentais.

<b>Peso relativo dos segmentos do trato intestinal (%)</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>Duodeno</b>	<b>Jejuno</b>	<b>Íleo</b>	<b>Ceco</b>	<b>Reto</b>	<b>Total</b>
Controle	0,9 ns	1,4b	1,0b	0,8 ns	0,2 ns	4,3abc
Maduramicina	0,9	1,6a	1,3a	0,7	0,3	4,6ab
Vacina Comercial	0,8	1,2b	0,9b	0,7	0,2	3,8c
Cepas de campo	0,8	1,6a	1,4a	0,7	0,2	4,7a

<b>Altura das vilosidades (µm)**</b>					
<b>Tratamento</b>	<b>Duodeno</b>	<b>Jejuno</b>	<b>Íleo</b>	<b>Ceco</b>	<b>Reto</b>
Controle	2316,8b	2063,2b	1192,5ab	269,5a	615,1ns
Maduramicina	2556,4a	1974,3b	1110,1b	228,2c	699,1
Vacina Comercial	2489,5b	2144,1a	1166,5b	256,5a	667,0
Cepas de campo	2604,4a	2165,3a	1250,1a	251,0a	680,6

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste "t" (5%).

ns: não significativo ( $P>0,05$ ), \*\*: Mensuração de 10 vilos por segmento.

### **Avaliação do desempenho de toda a fase de criação e morfometria intestinal no 70º dia de vida das aves:**

Com base na análise dos resultados de desempenho apresentados na Tabela 7, observa-se que o peso médio semanal foi influenciado pelos tratamentos até a quinta semana de vida das aves, sendo que, as aves do tratamento controle apresentaram desempenho inferior às aves dos demais tratamentos até o período citado ( $P\leq 0,05$ ). Porém, observa-se que as aves do tratamento controle apresentaram recuperação do desempenho, a ponto deste não diferir dos demais tratamentos no final da criação ( $P>0,05$ ).

Estes resultados são semelhantes aos encontrados por McDougald (1976), o qual infectou perus de 21 dias de idade com inóculo contendo uma mistura de *E. adenoides*, *E. meleagritidis* e *E. gallopavonis* ( $1 \times 10^3$  oocistos de cada espécie por ave). O autor relatou severa redução no ganho de peso das aves infectadas no sétimo dia após a inoculação, quando comparado a aves que não receberam desafio de coccidiose. Porém, segundo o autor, as aves começaram a apresentar recuperação significativa no ganho de

peso a partir do 10º dia após a inoculação do desafio, sendo que no 14º dia o ganho de peso foi igual ao das aves do grupo não infectado.

Segundo Visek (1976), a mucosa do intestino delgado é, dentre os tecidos do organismo, o que possui maior rapidez de regeneração. Em adição, conforme Maiorka *et al.* (2002), o processo de reconstituição e reparação inicia-se 30 minutos após a lesão, em média, e depende da secreção de uma espessa camada de muco sobre a área injuriada. O muco é uma glicoproteína insolúvel em água, a qual tem função de proteção, basicamente, contra a ação mecânica. Devido a grande aderência à superfície, o muco não é totalmente removido, mesmo durante a ação de forças mecânicas vigorosas que ocorrem durante a digestão, protegendo o epitélio durante a passagem de alimento, e com ação lubrificante sobre alimentos sólidos.

Tabela 7. Peso médio e ganho de peso semanal das aves experimentais durante toda a fase de criação.

<b>Peso médio semanal (g)</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>28</b>	<b>35</b>
Controle	58ns	144ns	317ns	607ns	821b	1379b
Maduramicina	58	152	331	636	1103a	1522a
Vacina Comercial	56	142	292	575	999ab	1534a
Cepas de campo	60	154	334	664	1060a	1538a
<b>Peso médio semanal (g)</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>42</b>	<b>49</b>	<b>56</b>	<b>63</b>	<b>70</b>	
Controle	1957ns	2778ns	3807ns	4830ns	5730ns	
Maduramicina	2145	2905	3907	4902	5769	
Vacina Comercial	2144	2893	3909	4942	5870	
Cepas de campo	2158	2924	3939	4969	5890	
<b>Ganho de peso semanal (g)</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>28</b>	<b>35</b>	
Controle	85ns	173ns	289ns	214b	558a	
Maduramicina	93	179	305	467a	419b	
Vacina Comercial	86	149	284	424a	534a	
Cepas de campo	93	180	330	396a	478ab	
<b>Ganho de peso semanal (g)</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>42</b>	<b>49</b>	<b>56</b>	<b>63</b>	<b>70</b>	
Controle	578ns	821ns	1029ns	1023ns	899ab	
Maduramicina	623	760	1002	995	867ab	
Vacina Comercial	610	749	1016	1032	928b	
Cepas de campo	620	766	1015	1029	920a	

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste “t” (5%).

ns: Não significativo ( $P>0,05$ ).

O peso intestinal das aves também não foi afetado pelos tratamentos administrados, aos 70 dias de vida ( $P>0,05$ ), conforme pode ser visualizado na Tabela 8. Já, para altura dos vilos, houve diferença, apenas, para os segmentos duodeno e jejuno,

sendo que as aves dos tratamentos imunizados apresentaram resultados superiores quando comparadas às aves pertencentes ao grupo controle ( $P < 0,05$ ). As aves do tratamento submetido à maduramicina apresentaram altura dos vilos do duodeno inferior ( $P < 0,05$ ), quando comparado a altura dos vilos das aves dos tratamentos imunizados, e superior, quando comparado aos resultados apresentados pelas aves do tratamento controle.

Tabela 8. Peso relativo do trato intestinal e altura dos vilos de porções de segmentos intestinais das aves experimentais no 70º dia de vida.

<b>Peso relativo dos segmentos do trato intestinal (%)</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>Duodeno</b>	<b>Jejuno</b>	<b>Íleo</b>	<b>Ceco</b>	<b>Reto</b>	<b>Total</b>
Controle	0,5ns	0,8ns	0,6ns	0,4ns	0,1ns	2,5ns
Maduramicina	0,6	1,0	0,7	0,5	0,1	2,8
Vacina Comercial	0,5	0,8	0,6	0,5	0,1	2,6
Cepas de campo	0,5	1,0	0,7	0,5	0,1	2,8
<b>Altura das vilosidades (<math>\mu\text{m}</math>)**</b>						
<b>Tratamento</b>	<b>Duodeno</b>	<b>Jejuno</b>	<b>Íleo</b>	<b>Ceco</b>	<b>Reto</b>	
Controle	2767,2c	2070,1c	1277,0ns	277,6ns	811,5ns	
Maduramicina	2950,4b	2224,1a	1211,9	255,7	888,6	
Vacina Comercial	3083,1a	2351,1a	1240,1	281,7	853,7	
Cepas de campo	3131,7a	2293,7a	1283,1	264,2	825,1	

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem, significativamente, pelo Teste "t" (5%).

ns: Não significativo ( $P > 0,05$ ), \*\*: Mensuração de 10 vilos por segmento.

Os resultados do presente trabalho se assemelham aos resultados dos estudos realizados por Madden & Ruff (1979), nos quais os autores realizaram pesquisas com auxílio da microscopia eletrônica e óptica para a avaliação da mucosa intestinal de aves infectadas com *E. adenoides* ( $2,1 \times 10^3$  oocistos/ave) e *E. dispersa* ( $5 \times 10^4$  oocistos/ave) e *E. meleagrimitis* ( $2,5 \times 10^3$  oocistos/ave) demonstraram que as espécies *E. meleagrimitis* e *E. dispersa* causaram infecção no duodeno e jejuno, já a *E. adenoides* foi encontrada parasitando o ceco e o reto. Através da avaliação por microscopia eletrônica e óptica os autores evidenciaram que a *E. adenoides* e *E. dispersa* não causaram nenhum tipo de alteração nos vilos intestinais, mesmo com a presença de

grande número de parasitas nas células. Já, a *E. meleagriditis* causou lesões acentuadas na mucosa do duodeno e íleo, o que conduziu ao encurtamento dos vilos nestes segmentos. Porém, no caso deste estudo os autores relatam o uso de um inóculo com tempo de produção de nove meses, o que pode ter influenciado sobre a patogenicidade das *Eimerias*, bem como, a viabilidade do inóculo. Dois anos mais tarde, Ruff *et al.* (1981) realizaram um experimento muito semelhante, utilizando as mesmas espécies de *Eimerias*, porém com dose infectante superior a utilizada por Madden & Ruff (1979). Os pesquisadores demonstraram que além do efeito adverso sobre o desempenho, as *Eimerias* causaram redução na altura dos vilos do intestino delgado.

Realizando-se uma avaliação ampla de todos os resultados apresentados, pode-se observar que de um modo geral, as aves submetidas à imunização tanto por cepas de campo quanto por cepas vacinais apresentaram melhores resultados nos parâmetros morfométricos do intestino, os quais repercutiram nos resultados de desempenho.

A coccidiose em perus é um assunto que necessita ser explorado mais aprofundadamente. Segundo Madden & Ruff (1979), embora as respostas físicas e fisiológicas de galinhas e perus para coccidiose sejam igualmente severas, uma das maiores diferenças entre os dois hospedeiros é que perus não apresentam lesões evidentes da doença. Por exemplo, infecções causadas por *E. adenoides* podem ser acompanhadas de intensa perda de peso e, até mesmo, mortalidade, porém, não é comum a presença de sangue neste segmento, nem mesmo a necrose da mucosa e engrossamento da parede cecal, como visto em infecções causadas por *E. tenella* em galinhas, as quais possuem o mesmo sítio de replicação.

A coccidiose em perus difere, também, em outros aspectos, como por exemplo, a resistência das *Eimerias* às drogas anticoccidianas. Embora já tenha sido amplamente relatada (Chapman & Rathinam 2007 e Chapman, 2007), esta parece ser adquirida mais lentamente, quando comparada a resistência apresentada pelas *Eimerias* de galinhas. Este fato torna-se ainda mais intrigante quando se leva em consideração a forma de utilização das drogas anticoccidianas nesta espécie, a qual se dá de forma contínua, em sucessivos lotes.

Levando-se em consideração os excelentes resultados de desempenho e morfometria intestinal apresentados pelas aves submetidas à imunização, aliados a informação sobre a moderada resistência das *Eimerias* de perus às drogas

anticoccidianas, pode-se inferir que talvez exista algum detalhe relacionado ao sistema imunológico das aves que faça com que esta espécie reaja de forma tão particular a este parasita.

No passado, vários pesquisadores (Clarkson, 1958, 1959; Warren *et al.*(1963) e Joyner, 1978) fizeram afirmações à respeito da imunidade adquirida com a idade aos coccídios em perus. Porém, atualmente, pouco se sabe a respeito dos mecanismos envolvidos na resposta imune celular e humoral à infecção nesta espécie, assim como a forma de ação das *Eimerias* sobre a mucosa intestinal deste hospedeiro.

### CONCLUSÕES

A maduramicina é, comprovadamente, uma droga eficaz no controle da coccidiose, afirmação esta que foi reforçada pelos resultados obtidos neste estudo.

As aves imunizadas por cepas vacinais demonstraram excelente capacidade de resposta ao desafio de coccidiose administrado, podendo-se inferir que a vacinação é uma opção viável ao uso das drogas anticoccidianas.

A imunização das aves através de cepas de *Eimeria* de campo necessita ser melhor estudada. Frente aos resultados obtidos no presente trabalho, a possibilidade de produção de vacina autógena deve ser levada em consideração.

A coccidiose em perus ainda é um assunto que permanece obscuro, sendo necessária a realização de estudos relacionados à fisiopatologia do parasita a nível celular, bem como das respostas imunológicas envolvidas na infecção.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Behmer AO, Tolosa EMC, Freitas Neto AG. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: Eduspe, 1976, 239p.

Chapman HD. Coccidiosis in the turkey. *Avian Pathology* 2008. 37(3):205-223.

Chapman HD.; Rathinam T. Sensitivity of field isolates of *Eimeria* to monensin in the turkey. *Avian Diseases* 2007. 51(1):954-957.

Chapman HD. Future prospects for coccidiosis control in the turkey. In: Proceeding...First turkey science and production conference, Macclesfield, UK, 2007. p. 25-27.

Chapman HD, Roberts B, Shirley MW. Guidelines for evaluating the efficacy and safety of live anticoccidial vaccines, and obtaining approval for their use in chickens and turkeys. *Avian Pathology* 2005; 34(1):279-290.

Chapman HD, Matsler PL, Chapman ME. Control of coccidiosis in turkeys with diclazuril and monensin: effects upon performance and development of immunity to *Eimeria* species. *Avian Diseases* 2004; 48(1):631-634.

Clark RS, Augustine P. Coccidiosis in turkeys: disease. *World Poultry – Turkey Special* 2003; 14-17.

Clarkson M J. Life history and pathogenicity of *Eimeria adenoeides* Moore and Brown, 1951, in the turkey poult. *Parasitology* 1958. 48(1):70-88.

Clarkson MJ. The life history and pathogenicity of *Eimeria meleagriditis* Tyzzer 1929, in the turkey poult. *Parasitology* 1959. 49(1):70-82.

Colnago GL. A coccidiose como doença nutricional. In: Simpósio Internacional sobre coccidiose aviária; 1999; Foz do Iguaçu, Paraná. Brasil. p. 35-44.

Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Anatomia das aves. In: Tratado de anatomia veterinária. 2º edição. Editora Elsevier, 1997 Tratado de Anatomia Veterinária: Dyce KM, Wensing CJG, Sack WO. Editores. São Paulo. 1997.

Fernando MA, McCraw BM. Mucosal morphology cellular renewal in the intestine of chickens following a single infection of *Eimeria acervulina*. *Zietschrift fuer Parasitenkunde* 1973. 52(1):213-218.

Gussem M, Miller SH, Owen RL. La coccidiosis y su interacción com toda la salud intestinal. *Avicultura Profesional* 2009; 27(1):14-16.

Jeurissen SH, Janse EM, Vermeulen AN, Vervelde L. *Eimeria tenella* infections in chickens: aspects of host-parasite interaction. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1996. 54(1):231-238.

Joyner L P. The identification and diagnosis of avian coccidiosis. *British Poultry Science Limited* 1978. 1: 29-49.

Manual da Linhagem B.U.T. Aviagen, disponível em: <http://www.aviagen.com/output.aspx?sec=3767&con=3791&siteId=3759> Acesso em 05-1-2008.

Macari, M. A fisiologia do sistema digestivo das aves (I). *Aves e ovos*, São Paulo, v. 15, n. 8/9, p. 12-20, jun 1999.

Macari M, Maiorka A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas; 2000; Campinas; São Paulo; Brasil. p. 161-174.

Madden PA, Ruff MD. *Eimeria dispersa*, *E. adenoeides* and *E. meleagrimitis*: intestinal mucosa disruption in turkeys as seen with scanning electron microscopy. *Journal of Parasitology* 1979, 65(1):234-242.

Maiorka A, Boleli IC, Macari M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal : FUNEP /UNESP. 2002.

McBride BW, Kelly JM. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: a review. Journal of Animal Science 1990. 68(1):2997-3010.

McDougald LR. Coccidiosis. In: Saif YM, Barnes HJ, Glission JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE. (Eds.). Diseases of Poultry 11<sup>th</sup>, 2003. p. 974-991.

McDougald LR. Anticoccidial action of monensin in turkey poult. Poultry Science 1976. 55(1):2442-7.

Newman LJ. Coccidiosis control with vaccine: been there, done that. Or have we? In: Arkansas Poultry Symposium; 1999; Springdale, Arkansas. p. 52-55.

Reid WM. Turkey. In: Hofstad MS, Calnek BW, Helmboldt CF, Reid WM, Yoder HW. (Eds.) Diseases of Poultry. 6<sup>th</sup>, Ames, Iowa State Press, 1972, p. 977-986.

Ruff MD, Augustine PC, Madden PA. *Eimeria meleagrimitis*, *E. adenoides*, and *E. dispersa*: Severity of infection and changes in the intestinal mucosa of the turkey. Experimental Parasitology 1981. 51(1):87-94.

Ruff MD. Malabsorption from the intestine of birds with coccidiosis. British Poultry Science 1978. 1: 281-295.

SAS Institute. SAS® (Statistical Analysis System). User's Guide: Statistics. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1996.

Shirley MW. Biotechnology – Guidelines on techniques in coccidiosis research. In: Shirley MW, editor; 1995 p. 1-12.

Turk DE. The effects of coccidiosis on intestinal function and gut microflora. *British Poultry Science* 1978. 1: 227-267.

Visek WJ. The mode of growth promotion by antibiotics. *Journal of Animal Science* 1978. 46(1):1447-1469.

Warren EW, Ball SJ, Fagg JR. Age resistance by turkeys to *Eimeria meleagrimitis* Tyzzer, 1929. *Nature* 1963. 200(1):238-240.

## IMPLICAÇÕES

A coccidiose aviária é uma doença que causa grandes perdas na indústria avícola, porém em se tratando de perus, essas perdas parecem não ser tão claras, por isso, não são quantificadas. A espécie raramente apresenta sinais clínicos da doença e lesões macroscópicas conseqüentes, o que torna o diagnóstico complicado. Na realidade brasileira, a falta de diagnóstico é confundida com a ausência da doença, aumentando, assim, a falta de interesse e conhecimento do corpo técnico em relação ao assunto.

Embora a identificação das espécies não tenha sido realizada, pode-se verificar, através dos resultados, que existem espécies *Eimerias* com alto grau de patogenicidade nas criações comerciais brasileiras, pelo menos nas que deram origem ao inóculo usado como desafio no presente trabalho. A identificação das espécies não foi executada devido à falta de técnicas confiáveis para tal. Por isso, o desenvolvimento de métodos diagnóstico baseado em biologia molecular se faz urgente, pois, com o conhecimento das espécies será possível aperfeiçoar os métodos de controle e prevenção da doença e, principalmente, ter a real noção do problema.

O uso de drogas anticoccidianas tem sido um sucesso desde a década de 40 e, continua sendo até hoje, mesmo em face da resistência dos parasitas. Porém, nos últimos anos, o mercado consumidor vem tomando uma posição contrária ao uso de fármacos na alimentação animal. A União Européia já banuiu o uso de várias drogas anticoccidianas e provavelmente várias outras serão banidas, portanto, os países exportadores precisam se adaptar a essa realidade. Nesse contexto, as vacinas parecem ser uma opção viável ao uso das drogas anticoccidianas, embora atualmente existam apenas duas vacinas contra coccidiose de perus, ambas do tipo viva e virulenta.

Atualmente, o conceito de vacinação via ração está caindo em desuso e, sendo substituído pela vacinação *spray*, a qual é realizada no incubatório. Dessa forma, as aves são expostas aos oocistos vacinais de forma uniforme. Porém, o uso da vacina requer cuidados especiais com o manejo das aves, principalmente com relação à cama do aviário, através da qual as aves sofrerão exposições não controladas aos oocistos e, de fundamental importância à formação da imunidade. Por isso, são necessários testes em aviários comerciais, onde a pressão de infecção por microorganismo patogênicos é bem maior e o reaproveitamento da cama é uma realidade.

Nas condições em que o trabalho foi conduzido, perante o inóculo utilizado como desafio, tanto as drogas anticoccidianas, quanto a vacinação e a imunização das aves por *Eimerias* de campo demonstraram ser eficazes no controle da doença. Com base nesses resultados pode-se inferir que a vacina pode ser utilizada, pois esta não produziu efeitos negativos sobre o desempenho das aves e, ainda ofereceu proteção contra o desafio administrado.

Embora a imunização das aves através da administração de oocistos de campo tenha apresentado bons resultados, o empirismo desta técnica a condena a fins experimentais ou ao uso restrito, em condições especiais.

Os resultados encontrados no presente trabalho são de grande importância, tanto para a comunidade científica quanto para o setor avícola, no qual circula o “mito” de que a coccidiose não é um problema para perus. Estes resultados chamam a atenção para o perigo econômico que este patógeno pode vir a representar, caso não seja controlado de forma adequada, principalmente devido a sua característica insidiosa.