

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA
FILHO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

PROTOCOLOS DE UTILIZAÇÃO DE TOLTRAZURIL PARA O
CONTROLE DA COCCIDIOSE EM LEITÕES NATURALMENTE
INFECTADOS

GIOVANI MARCO STINGELIN

Botucatu – SP
Abril de 2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

PROTOCOLOS DE UTILIZAÇÃO DE TOLTRAZURIL PARA O
CONTROLE DA COCCIDIOSE EM LEITÕES NATURALMENTE
INFECTADOS

GIOVANI MARCO STINGELIN

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia, *campus* de
Botucatu, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre no Programa
de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Orientadora: Profa. Ass. Dra. Elizabeth
Moreira dos Santos Schmidt

Co-orientador: Prof. Dr. João Carlos Pinheiro
Ferreira

Botucatu – SP
Abril de 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Stingelin, Giovani Marco.

Protocolos de utilização de Toltrazuril para o controle da coccidiose em leitões naturalmente infectados / Giovani Marco Stingelin. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt

Coorientador: João Carlos Pinheiro

Capes: 50502042

1. Coccidiose. 2. Leitão (Suíno) - Doenças. 3. Diarreia em animais - Prevenção. 4. Oocistos. 5. Preparações farmacêuticas. 6. Protocolos médicos.

Palavras-chave: Cystoisospora suis; Diarreia; Ganho de peso diário; Oocistos; Profilaxia.

AUTOR: Giovani Marco Stingelin

DATA: 09/03/2017.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt

Prof. Dr. Luís Guilherme de Oliveira

Prof. Dr. Dirlei Antônio Berto

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha amada esposa Daiana, companheira e incentivadora do meu trabalho e dessa pesquisa. Dedico também a minha filha Ana Carolina que está a caminho e será amada tão quão à mãe.

Ao felino da família Trigo Eduardo, pela companhia durante os estudos, deitado na cadeira ao meu lado.

Aos animais que participaram da pesquisa em razão da ciência, que certamente produziram informações de grande valia para o bem estar e a prevenção de doenças de sua espécie.

AGRADECIMENTOS

A Deus por abençoar todos os passos dessa pesquisa, por colocar pessoas no meu caminho que contribuíram para a realização do estudo e por me proteger na estrada nos mais de 35.000 km rodados entre Jaguariúna –SP e a UNESP- *câmpus* de Botucatu nesses dois anos de mestrado e nos mais de 6.000Km rodados entre Jaguariúna-SP e Itirapina-SP, local da pesquisa.

A meu pai Nereu e mãe Berenice Ana por proporcionar minha formação em Medicina Veterinária e sempre me apoiar nos meus estudos e na minha vida.

A minha esposa Daiana pela paciência nos dias difíceis, por entender que mesmo eu ficando pouco tempo em casa, em razão das viagens de trabalho, ainda tive que dedicar muitas destas horas ao estudo e confecção desta pesquisa.

A minha orientadora professora Profa. Dra. Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt, por me proporcionar a oportunidade de realizar um sonho e por me orientar a sempre fazer o melhor.

A Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) e ao Programa de Pós-graduação, por me proporcionar a oportunidade de realizar este curso.

A meu amigo Vitor Franceschini por incentivar esse projeto desde o início e proporcionar que fosse realizado.

A Marcela C. de Cezaro, Raphaela M. Oliveira, Viviana H. V. Aristizabal e o Prof. Dr. Reinaldo F. Cooke pelo apoio na coleta dos materiais, no processamento das amostras e na análise dos dados.

A Alex Junior Vaivadas, Carlos Alberto Cunha, Carlos Alberto Ribeiro, João Pedro Leoncio, guerreiros da Suinocultura Santo Ignácio de Loyola em Itirapina-SP por disponibilizar o local, os animais para o experimento e principalmente pelo apoio no dia a dia da granja nos 132 dias do estudo.

A Farmabase Saúde Animal pelo apoio e incentivo a pesquisa.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formação dos grupos e protocolo de administração de toltrazuril em leitões nas diferentes idades.....	32
Tabela 2 - Resultados dos exames coproparasitológicos dos leitões nas diferentes idades de coleta.....	37
Tabela 3 - Peso médio ajustado dos leitões, de cada um dos tratamentos no 3º dia de vida (d3), no desmame (d21) e no momento da venda para abate (d132).....	41
Tabela 4 - Ganho de peso diário (Kg) dos leitões nos períodos de três a 21, 21 a 132 e dos três aos 132 dias de idade em função dos tratamentos.....	42
Tabela 5 - Percentual de mortalidade dos três aos 132 dias de idade dos animais.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida do <i>Cystoisospora suis</i>	7
Figura 2 - Leitão com diarreia característica de coccidiose em uma granja comercial localizada no município de Brotas, SP.....	8
Figura 3 - Fórmula química do toltrazuril (C ₁₈ H ₁₄ F ₃ N ₃ O ₄ S)	22
Figura 4 – Sala de maternidade da granja em 29/02/2016, Brotas, SP.....	28
Figura 5 - Administração de toltrazuril via oral nos leitões na granja, 01/03/2016, Brotas, SP.	31
Figura 6 - Coleta de fezes dos leitões diretamente da ampola retal, 23/03/2016, Brotas, SP.	34
Figura 7 - Oocisto de <i>C. suis</i> nas fezes de leitão do GC com 63 dias de idade	39
Figura 8 - Fragmento de jejuno de leitão do G3 aos 12 dias de vida, coloração por hematoxilina e eosina	39
Figura 9 - Fragmento de jejuno de leitão do GC aos 21 dias de vida, coloração por hematoxilina e eosina	40
Figura 10 - Imuno-histoquímica processada em parafina, corada com hematoxilina e purificada em xileno de leitão com 21 dias de idade, negativo para Rotavírus tipo A	42

LISTA DE ABREVIações

AEC - Etilcarbazole

App. - Espécies

CEDISA - Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal de Concórdia-SC

CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais

Cm - centímetro

FMVZ - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica

g - grama

GC - grupo controle

G2 - grupo 2

G3 - grupo 3

G4 - grupo 4

GPD - Ganho de peso diário

H₂O₂ - Peróxido de Hidrogênio

ITS1 - Espaçador Transcritivo Interno 1

kg - Quilograma

m² - metro quadrado

mg - miligrama

mL - mililitro

n - número de animais

OPG - Oocisto por grama de fezes

PIC - Genética comercial das matrizes

pH - potencial hidrogênico

RNA - Ácido Ribonucléico

RNAr - Ácido Ribonucléico Ribossômico

SPF - Livre de patógenos específicos

W - Watts

% - percentagem

x - vezes

µm - micrômetro

°C - graus Celsius

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUÇÃO	3
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Etiologia	4
2.2 Ciclo de vida	6
2.2.1 Fase assexuada: Esquizogonia	6
2.2.2 Fase sexuada: Gametogonia	6
2.2.3 Esporogonia	7
2.3 Patogenia	8
2.4 Epidemiologia do <i>Cystoisospora suis</i> em suínos no mundo	14
2.4.1 Epidemiologia do <i>Cystoisospora suis</i> na Europa	14
2.4.2 Epidemiologia do <i>Cystoisospora suis</i> na Oceania	15
2.4.3 Epidemiologia do <i>Cystoisospora suis</i> na América do Norte	15
2.4.4 Epidemiologia do <i>Cystoisospora suis</i> na Ásia	16
2.4.5 Epidemiologia do <i>Cystoisospora suis</i> na África	17
2.5 Epidemiologia do <i>Cystoisospora suis</i> no Brasil	17
2.5.1 Minas Gerais	17
2.5.2 São Paulo	18
2.5.3 Rio de Janeiro	18
2.5.4 Rio Grande do Sul	19
2.5.5 Santa Catarina	19
2.6 Imunidade contra <i>C. suis</i>	20
2.7 Uso de toltrazuril no controle da coccidiose	21
3 Objetivos	26
3.1 Objetivos gerais	26
3.2 Objetivos específicos	26
3.3 Hipótese	26
4 Material e métodos	27
4.1 Local do experimento	27
4.2 Período pré-experimental	29

4.3 Período experimental	30
4.3.1 Formação dos grupos de leitões	30
4.3.2 Protocolo de administração de toltrazuril e pesagens	31
4.3.3 Amostra de fezes e análises laboratoriais	32
4.3.4 Exames clínicos e exames histopatológicos.....	34
4.3.5 Análise Estatística	35
5 Resultados	37
5.1 Exames Coproparasitológicos	37
5.2 Necropsia e exames histopatológicos.....	38
5.3 Desempenho zootécnico	41
5.4 Avaliações dos protocolos em relação à mortalidade	43
6 Discussão.....	44
7 Conclusão	50
8 Perspectivas.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
ANEXO	60

RESUMO – [Protocolos de utilização de Toltrazuril para Controle da Coccidiose em Leitões Naturalmente Infectados].

A coccidiose é uma das doenças mais importantes que acometem leitões lactentes no Brasil. A administração de toltrazuril é usada no mundo todo para a prevenção de coccidiose em leitões, entretanto, não foram encontradas pesquisas sobre a correta profilaxia da doença no Brasil. Sendo assim, este estudo tem como objetivo investigar diferentes protocolos de administração de toltrazuril (FARMACOX® 5%, suspensão oral, Farmabase Saúde Animal, SP, Brasil) sob as condições de campo no estado de São Paulo. Para isso, 495 leitões foram aleatoriamente divididos em quatro diferentes grupos: 125 leitões (grupo controle) que não receberam toltrazuril; 127 leitões que receberam toltrazuril no terceiro dia de vida (grupo dois); 116 leitões que receberam toltrazuril no quinto dia de vida (grupo três), e 127 leitões que receberam duas doses de toltrazuril, uma com três e outra com sete dias de idade (grupo quatro). A excreção de oocistos foi avaliada por análises coproparasitológicas quando os animais tinham cinco, sete, 12, 21 e 63 dias de idade e as pesagens individuais foram realizadas aos três, 21 e 132 dias de idade. Os dados foram analisados usando o peso ao terceiro dia como uma covariável independente. Os resultados foram separados por médias e ajustados por Tukey ($p \leq 0,05$). Os animais dos grupos dois e quatro não excretaram *Cystoisospora suis*, mas um animal do grupo controle e um do grupo três (aos 63 dias de idade) excretaram oocistos de *C. suis*. Os leitões do grupo controle apresentaram menor peso ao desmame quando comparado com os do grupo quatro. Quando os leitões do grupo controle tinham 132 dias de idade, o peso corporal foi significativamente menor quando comparado com os grupos dois e quatro. Os animais do grupo controle tiveram menor ganho de peso diário (GPD) que os do grupo quatro no período de três a 21 dias e menor GPD dos três aos 132 dias de idade que os animais dos grupos dois e quatro. Estes resultados sugeriram que a administração de toltrazuril ao terceiro dia de vida é o protocolo recomendado para controle da coccidiose e para melhoria do peso e GPD dos leitões.

Palavras chave: profilaxia, *Cystoisospora suis*, oocistos, diarreia, ganho de peso diário.

ABSTRACT – Toltrazuril Protocols for Controlling Coccidiosis in Naturally

Infected Piglets. Coccidiosis is one of the most important diseases affecting suckling piglets. It causes diarrhea, dehydration, weight loss, low performance and significant economic losses. Toltrazuril administration is used worldwide for coccidiosis prevention in piglets, however, no research was found on the correct prophylaxis of the disease in field conditions in Brazil. Thus, this study is aimed at evaluating different protocols of toltrazuril administration (FARMACOX® 5%, oral suspension, Farmabase Animal Health, SP, Brazil). These protocols were used for specific conditions of production in the state of São Paulo for controlling coccidiosis under field conditions. For that, 495 piglets were randomly allocated. The animals were divided into four different groups: 125 piglets (control group) which did not receive toltrazuril; 127 piglets that received toltrazuril on the third day of life (group two); 116 piglets which received toltrazuril on the fifth day (group three), and 127 piglets that received two dosages of toltrazuril when the animals were 3 and 7 days-old (group four). Excretion of oocysts was evaluated by coproparasitological analysis when the animals were 5, 7, 12, 21 and 63 days-old. They were individually weighed at 3, 21 and 132 days-old to evaluate the growth performance between treatments. Data was analyzed using the MIXED procedure of SAS, using the third day weight as an independent covariate. Results were separated with PDIFF adjusted by Tukey ($P \leq 0.05$). Groups 2 and 4 did not excrete *C. suis*. One animal from the control group and group three (63 days-old) excreted *C. suis* oocysts. The control group demonstrated lower weight at weaning when compared to group 4. When the piglets from the control group were 132 days-old the body weight was significant lower when compared to groups 2 and 4. The control group also demonstrated significant lower average daily weight gain (ADG) then group 4 at weaning and lower significant ADG at 132 days-old then groups 2 and 4. These results suggested that the administration of toltrazuril by the third day of life is the recommended protocol to control coccidiosis and to improve the weight and ADG of piglets.

Key words: prophylaxis, *Cystoisospora suis*, oocysts, diarrhea, daily weight gain.

1 INTRODUÇÃO

A coccidiose ou isosporose suína é uma das principais doenças que acometem leitões na maternidade e é endêmica em todo o mundo, com alta prevalência na suinocultura brasileira. A enfermidade caracteriza-se por diarreia pastosa a aquosa, amarelada e fétida que acomete os leitões principalmente na segunda e terceira semanas de vida. Os índices de mortalidade são baixos, porém a morbidade é alta e a coccidiose causa redução acentuada no ganho de peso diário dos leitões, interferindo negativamente no desempenho dos animais ao longo de todo ciclo produtivo, ocasionando perdas econômicas relevantes na suinocultura.

O agente causador da coccidiose é o *Cystoisospora suis*, um protozoário que taxonomicamente pertencia à família *Eimeriidae*, porém, recentemente houve redescritção morfológica e filogenética, sugerindo que seja classificado junto com os demais coccídios formadores de cisto da família *Sarcocystidae*. Embora tenham sido descritas oito espécies de *Eimeria* em suínos (*E. deblickei*, *E. polita*, *E. scabra*, *E. spinosa*, *E. porci*, *E. neodeblickei*, *E. perminuta* e *E. suis*), sua importância não está clara, e aparentemente, o *C. suis* é o único envolvido nos casos de diarreia em leitões.

A utilização de um fármaco coccidicida em leitões na primeira semana de vida, de forma profilática, é rotina na maioria das granjas de suínos. Atualmente, de acordo com pesquisas internacionais, a aplicação de toltrazuril nos leitões para profilaxia da coccidiose deve ser feita no terceiro dia de vida, na dose de 20 miligramas (mg) por quilograma (kg) de peso. No entanto, no Brasil, esse manejo não é corretamente seguido, pois as granjas brasileiras realizam diferentes protocolos de profilaxia que muitas vezes não seguem a recomendação da aplicação do fármaco no terceiro dia de vida dos animais.

O presente trabalho tem como objetivo verificar se o 3º dia de vida dos leitões é o momento correto para a prevenção da coccidiose, conforme previamente descrito em pesquisas internacionais e investigar um protocolo de administração de toltrazuril a 5%, via oral, adaptado às condições brasileiras de produção, que possa apresentar melhor eficiência no controle da coccidiose nos leitões em condições de produção industrial.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Etiologia

Cystoisospora suis é um dos mais prevalentes parasitas encontrados na suinocultura industrial ao redor do mundo. Pode causar significantes perdas econômicas por causar diarreias transitórias, desidratação em leitões lactantes seguidas de perda de peso e queda no desempenho (SKAMPARDONIS et al., 2010).

O gênero *Isospora* foi descrito por Schneider em 1881 e esta taxonomia é controversa desde então. Historicamente, todos os coccídios com dois esporocistos e quatro esporozoítos eram classificados no gênero *Isospora* e na família *Eimeriidae* sob o fundamento de um ciclo de vida homoxeno.

Entretanto, o gênero *Cystoisospora* foi proposto por Frenkel J. K., (1977), devido à descoberta de cistos de *Cystoisospora* de gatos (*C. felis* e *C. rivolta*) e de cães (*C. ohioensis*, *C. canis*) em tecidos linfóides de uma variedade de roedores que funcionavam como hospedeiros intermediários (LINDSAY et al., 1997; FRENKEL et al., 2003).

Com a descoberta do ciclo heteroxeno facultativo, o gênero *Cystoisospora* foi criado por Frenkel, J. K., (1977). Sendo assim, o coccídio formador de cisto apresenta um ciclo de vida em dois hospedeiros. O hospedeiro definitivo excreta oocistos nas fezes que formam cistos quando ingeridos pelo hospedeiro intermediário terrestre. Assim, o gênero *Cystoisospora* foi separado para indicar sua importância epidemiológica (FRENKEL e SMITH, 2003).

Em 1998, Carreno e colaboradores realizaram um estudo usando análises filogenéticas do gene RNAr 18S e demonstraram que o *Cystoisospora* era geneticamente mais próximo ao *Toxoplasma*, *Neospora* e *Sarcocystis* spp. do que a *Eimeria* spp., indicando que o *Cystoisospora* pertence a família *Sarcocystidae*.

Dados moleculares e morfológicos permitiram realizar uma subdivisão racional do grupo parafilético *Isospora* em dois grupos monofiléticos de parasitas, o *Isospora* e o *Cystoisospora*. Os protozoários com oocistos que contém quatro esporozoítos, dois esporocistos com corpos Stieda em seus

esporocistos pertencem ao gênero *Isospora* (*Eimeriidae*) e têm sido descrito principalmente em fezes de aves. Por outro lado, os protozoários com oocistos que contém quatro esporozoítos e dois esporocistos sem corpos Stieda em seus esporocistos, pertencem ao gênero *Cystoisospora* (*Sarcocystidae*) (BARTA et al., 2005).

Ademais, análises filogenéticas do espaçador transcrito interno 1 (ITS1) do RNAr, usando distância, evolução mínima e métodos de parcimônia produziram árvores com topologias idênticas e conferiram bom suporte para o relacionamento mais próximo do *Cystoisospora* spp. com *T. gondii*, *N. caninum* e espécies de *Sarcocystis* do que com espécies de *Eimeria*. Esses resultados foram reportados pelo percentual de similaridade entre as diferentes espécies de *Cystoisospora* variando de 74,7% a 90,9%. A similaridade entre *C. belli* e *T. gondii* e *N. caninum* foi de 76,7% e 75,5%, respectivamente. A similaridade entre *C. belli* e espécies de *Sarcocystis* foi de 69,4 – 71,1%, enquanto que a similaridade entre *C. belli* e espécies de *Eimeria* foi de 61,8 – 64%. Estes resultados confirmam estudos prévios que sugeriram que o gênero *Cystoisospora* não pertence para a família *Eimeriidae*, mas deveria ser classificado junto com os coccídios formadores de cisto na família *Sarcocystidae* (SAMARASINGHE et al., 2007).

Os oocistos do *C. suis* são esféricos a subesféricos, medem 17-25 x 16-22 µm (média de 20,6 x 18,1µm) e a membrana celular é incolor e fina. Não possuem micrópilo ou resíduo e, quando esporulados, contém dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos. Os dois esporocistos são elipsoides e medem 13-14 x 8-11 µm sem corpúsculo Stieda, mas com esporocisto residual. Os quatro esporozoítos em cada esporocisto têm formato alongado, cilíndrico com uma extremidade pontiaguda (TAYLOR et al., 2010).

Na revisão de literatura a seguir, optou-se por manter a nomenclatura (taxonomia) original de cada trabalho citado. Desta forma, não foi padronizada a taxonomia como *Cystoisospora suis* de acordo com os artigos mais recentes publicados.

2.2 Ciclo de vida

O *Cystoisospora suis* é um parasita intracelular obrigatório e o ciclo de vida pode ser dividido em duas fases: assexuada e sexuada (figura 1).

2.2.1 Fase assexuada: Esquizogonia

O suíno ingere um oocisto esporulado infectante presente no ambiente. Dentro do hospedeiro ocorre a excitação onde a parede do oocisto é digerida, liberando os esporozoítos no lúmen intestinal (SOBESTIANSKY et al., 2012).

Esses esporozoítos emergem, penetram nas células epiteliais ou lâmina própria da mucosa, arredondando-se sob a forma de trofozoítos, aumentando de tamanho e formando a primeira geração de esquizontes. Os esquizontes produzem uma primeira geração de merozoítos, que emergem da célula original e invadem células sadias para originar a segunda geração de esquizontes. A merogonia continua por uma a três gerações (BOWMAN D., 2010).

2.2.2 Fase sexuada: Gametogonia

Um merozoíto produzido no final da esquizogonia (telomerozoíto) penetra em uma célula sadia e se desenvolve em uma forma masculina e feminina (micro e macrogametócito, respectivamente). O gametócito feminino armazena nutrientes, aumenta de tamanho e induz a hipertrofia citoplasmática e nuclear da célula hospedeira. Quando maduro, é denominado macrogameta ou célula reprodutora feminina. O gametócito masculino apresenta inúmeras divisões nucleares e torna-se multinuclear. Finalmente, cada núcleo é incorporado a um microgameta biflagelado ou célula reprodutora masculina.

Apenas uma pequena parte dos microgametas formados pelos microgametócitos conseguirá encontrar e fertilizar os macrogametas para formar os zigotos. Ao redor do zigoto, pela coalescência de grânulos hialinos

em sua periferia, forma-se uma parede protetora chamada oocisto (BOWMAN D., 2010).

2.2.3 Esporogonia

O oocisto é liberado na luz intestinal pela ruptura da célula hospedeira, chegando ao ambiente através das fezes. A passagem da forma não esporulada para esporulada torna o oocisto infectante. A esporulação no ambiente pode ocorrer em 48 horas, com temperatura entre 24 a 27°C e umidade de 80-85% (SOBESTIANSKY et al., 2012).

Segundo Taylor et al. (2010), merontes de primeira geração estão presentes dois a três dias após infecção. Merontes de segunda geração estão presentes quatro dias após a infecção e gamontes maduros ocorrem cinco dias após a infecção. O período pré-patente é de quatro a seis dias e o de patência é de três a 13 dias.

Todo o ciclo de vida intra-intestinal acontece entre cinco a oito dias e ocorre, principalmente, no jejuno e íleo e, ocasionalmente, pode ocorrer também no ceco e cólon (SOBESTIANSKY et al., 2012).

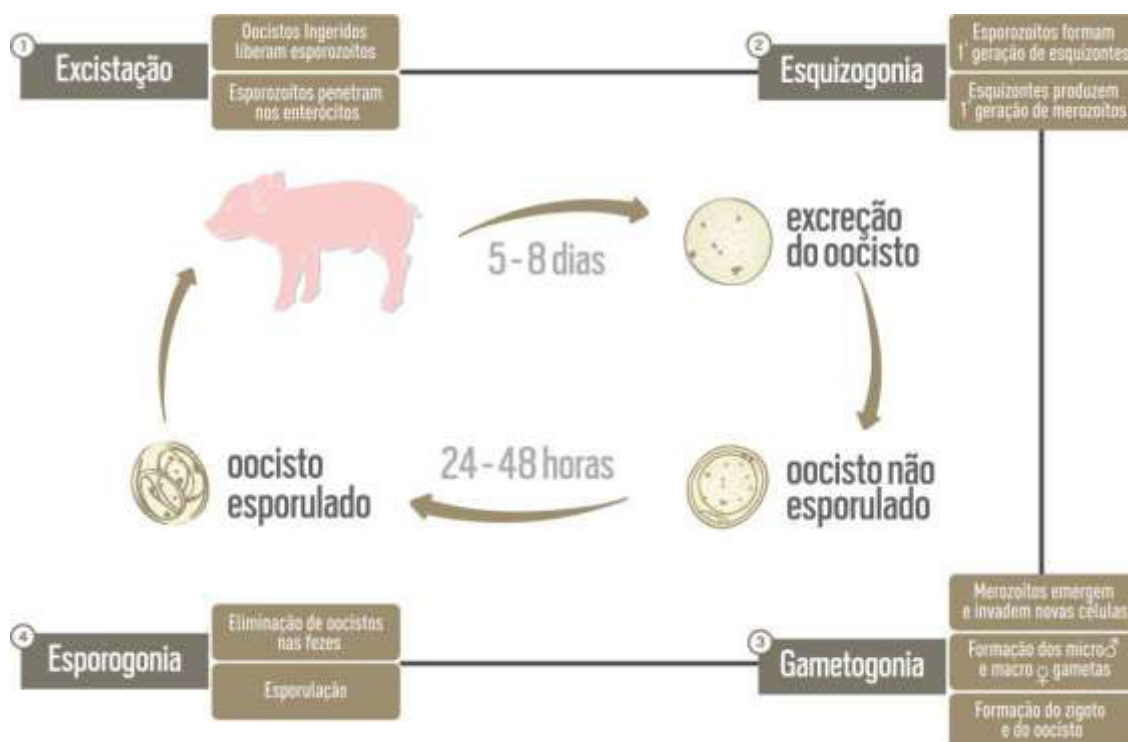


Figura 1 - Ciclo de vida do *Cystoisospora suis*. Fonte: o autor.

2.3 Patogenia

A enfermidade é frequentemente observada em leitões de cinco a 15 dias de idade, tanto em leitegadas de primíparas (porcas de primeiro parto) como em leitegadas de múltiparas. A gravidade dos sinais clínicos depende da idade em que o leitão foi contaminado, de modo que leitões que se contaminam no primeiro dia de vida, apresentam sinais clínicos mais graves do que leitões infectados com a mesma quantidade de oocistos no quarto dia de vida (SOTIRAKI et al., 2008).

Os leitões com coccidiose apresentam diarreia fétida, amarelada a acinzentada, cremosa a pastosa (Figura 2) e raramente líquida (MEYER et al., 1999). A diarreia persiste por 10 a 15 dias e não responde a antibioticoterapia convencional. A região do períneo fica frequentemente impregnada de fezes, os pelos arrepiados e os leitões tornam-se deprimidos e menos ativos, mas continuam a se alimentar. A queda no ganho de peso é a principal manifestação da doença, porém, em casos graves pode vir acompanhada de mortalidades de até 20% (TAYLOR, 2013).



Figura 2 - Leitão com diarreia característica de coccidiose em uma granja comercial localizada no município de Brotas, SP. Fonte: o autor.

Após a ingestão de oocistos esporulados oriundos do ambiente, a infecção se desenvolve por cinco a sete dias e resulta em lesões no epitélio das vilosidades intestinais como necrose, fusão de vilosidades, atrofia de vilosidades, hiperplasia das criptas e enterite necrótica. O dano mais grave está associado com a fase assexuada do protozoário o que significa que a diarreia pode aparecer um ou dois dias antes do aparecimento de oocistos nas fezes. A idade de infecção e o nível de infecção tem um importante papel no curso da doença. Os leitões que se contaminam mais jovens tendem a ser mais sensíveis e demonstrar quadro clínico mais grave. Em granjas com altos níveis de contaminação de oocistos, ocorrem infecções mais graves nos animais (MUNDT et al., 2003).

Segundo Worliczek et al. (2009), os sinais clínicos são mais graves entre o sétimo e o 14º dia de vida do que na terceira ou quarta semana de vida, isso porque os leitões desenvolvem resistência a infecção com a idade. Devido à natureza mais suave da doença em leitões mais velhos, o estudo do impacto da doença nesses animais geralmente é ignorado (LEYTON et al., 2011). De acordo com estes mesmos autores, o pico de excreção de oocistos ocorre entre os 15 e 24 dias de vida dos leitões e 65% das amostras de fezes positivas para *C. suis* foram detectadas antes dos 24 dias de idade, porém, não foram encontrados leitões excretando oocistos a partir dos 40 dias de vida. O pico de excreção ocorreu entre o 17º até o 20º dia, sugerindo que o maior impacto da coccidiose pode ocorrer logo após o desmame.

SOTIRAKI e colaboradores (2008) sugeriram que em condições naturais de granja, a contaminação dos leitões pode ocorrer em qualquer momento na fase de maternidade, podendo ocorrer precocemente logo após o parto, ou próximo ao desmame. Existe um aparente padrão cíclico de excreção dos oocistos, com dois picos de excreção, o primeiro aos 12 e o segundo 20 dias após o nascimento. Isto demonstra que nem todos os leitões da leitegada se contaminam simultaneamente, de modo que os oocistos liberados no primeiro pico aumentam a pressão de infecção na maternidade, infectando os leitões que ainda não estavam contaminados.

JOACHIM e colaboradores. (2014), provocaram a infecção experimental em leitões com diferentes doses de oocistos esporulados no primeiro e quarto

dia de vida e avaliaram parâmetros clínicos. Em média os leitões demoraram seis dias para começar excretar oocistos nas fezes e excretaram por aproximadamente três dias. O menor ganho de peso foi observado em leitões infectados no primeiro dia de vida e todos os grupos mostraram redução no ganho de peso na fase aguda da infecção (cinco a 10 dias pós infecção). A excreção de oocistos aumentou do quinto até o oitavo dia pós infecção e então começou a diminuir. Do 12º até o 16º dia pós infecção um segundo pico de excreção ocorreu.

No passado, acreditava-se que as porcas eram a fonte de infecção para os leitões, mas, atualmente, sabe-se que as porcas raramente excretam oocisto de *I. suis* (LINHARES et al., 2012). Os leitões se contaminam ingerindo os oocistos presentes no piso das gaiolas de maternidade que podem ser remanescentes das leitegadas anteriores ou serem carregados das outras salas de maternidade, por meio de insetos, roedores ou pelos funcionários.

Esta contaminação é facilitada pela grande excreção de oocistos (um mil a 40 mil oocistos/grama de fezes) pelos animais portadores (SOTIRAKI et al., 2008).

Segundo MUNDT et al., (2006), enquanto baixas doses infectantes (100 a 1.500 oocistos) causam um pico de diarreia ao redor dos três a quatro dias depois do pico de excreção de oocistos, o aumento da dose para 5.000 oocistos/leitão induz a diarreia simultaneamente a excreção. Estes pesquisadores perceberam um pico de excreção no quinto dia pós infecção e a média mais alta de excreção um dia depois, ou seja, ao sexto dia. Isso poderia indicar que a infecção com altas doses poderia induzir diarreia mais rapidamente devido a lesão intestinal mais intensa.

Os oocistos são resistentes no ambiente, podendo sobreviver no solo por 15 meses em temperatura de 40 a 45°C. Este fato justificaria a dificuldade de controle e da erradicação da coccidose nas granjas, mesmo com todas as melhorias realizadas com relação à limpeza e desinfecção na suinocultura atual (LINHARES et al., 2012).

Entretanto, segundo Langkjaer e Roepstorff (2008), a resistência do oocisto no ambiente não é tão grande como esperado. Esses pesquisadores analisaram a viabilidade de oocistos de *I. suis* em condições laboratoriais

controladas e observaram que em condições de baixa umidade relativa do ar (53 e 62%), combinada com alta temperatura (25 e 30°C), os oocistos perderam viabilidade em 24 horas. Mesmo com umidade alta (75%) os oocistos morreram em um prazo de 24 a 60 horas, em temperaturas de 30 e 20°C, respectivamente. Em condições de 100% de umidade e 25°C, a viabilidade caiu de 100% para 17% em 96 horas.

O tipo de piso da granja pode afetar a incidência da coccidiose clínica. Os pisos sólidos de madeira ou concreto predispõem à coccidiose, devido à dificuldade de mantê-los limpos. Da mesma forma, as maternidades com má higiene e com sistema de produção contínuo, favorecem a ocorrência da doença (SOBESTIANSKY et al., 2012).

O uso de detergente no processo de limpeza reduziu a probabilidade de uma granja ser positiva para *I. suis* (LEYTON et al., 2011).

O emprego de procedimentos de limpeza e desinfecção dentro da sala de maternidade, depois que todas as leitegadas foram desmamadas comparado com salas onde o desmame é parcial e somente as gaiolas onde os leitões foram desmamados são limpas, diminui em três vezes a probabilidade das leitegadas serem positivas para *I. suis*. Em leitegadas onde houve transferência de leitões no primeiro dia após o parto, a probabilidade de positividade para *I. suis* foi 4,2 vezes maior comparado às leitegadas onde não houve transferência de animais nas 24 primeiras horas após o parto.

Leitegadas alojadas em gaiolas de maternidade com piso de metal vazado demonstraram 2,81 vezes maior probabilidade de serem positivas comparado às leitegadas mantidas em gaiolas com piso de plástico vazado.

Rebanhos com mais de um zelador trabalhando na sala de maternidade demonstraram 2,7 vezes menos chances de serem considerados como positivos.

Finalmente, rebanhos que tenham funcionários que entrem nas gaiolas das porcas para realizar algum manejo com os leitões demonstraram 8,84 vezes maior média de OPG de *C. suis* comparados com rebanhos onde os funcionários evitavam entrar nas baias (SKAMPARDONIS et al., 2012).

Diversos aspectos da epidemiologia do *I. suis* não estão completamente elucidados. Compreender a epidemiologia da coccidiose é um pré-requisito

para o controle da infecção através de intervenções nas práticas de manejo da granja (SOTIRAKI et al., 2008).

Poucos estudos reportaram os efeitos das práticas de manejo, das medidas de higiene, vazão sanitário das gaiolas de maternidade, a manipulação de leitões e a estrutura das instalações da granja no risco de ocorrência e transmissão da doença (NIESTRATH et al., 2002; MUNDT et al., 2005; SOTIRAKI et al., 2008).

No que diz respeito à prevenção da coccidiose, a remoção de toda matéria orgânica das instalações onde os animais são alojados é mais importante do que a própria desinfecção, uma vez que os oocistos do *I. suis* são resistentes a maioria dos desinfetantes (MUNDT et al., 2005).

Fatores como a idade inicial de infecção, dose infectante, duração da exposição e resistência à reinfecção podem afetar a relação entre a excreção de oocistos e a coccidiose clínica (STUART et al., 1982; MUNDT et al., 2006; SOTIRAKI et al., 2008).

Mesmo sob idênticas condições de alojamento em instalações e procedimentos de infecção experimental, houve variação na excreção de oocistos e na ocorrência de diarreia dentro das leitegadas e entre elas (MUNDT et al., 2006).

Alguns estudos mostraram que o *Cystoisospora suis* pode reduzir o ganho de peso de leitões infectados. De acordo com Maes e colaboradores (2007), leitões positivos para *C. suis* tratados com toltrazuril para profilaxia da coccidiose, pesaram 450 gramas a mais no desmame quando comparados com os leitões positivos e que não receberam o tratamento. O mesmo estudo relatou que houve benefícios econômicos mensuráveis e significativos nos rebanhos onde se realizou a profilaxia com o anticoccidiano. O ganho estimado por animal foi de 0,2 Euros, já descontando o custo do tratamento e a mão de obra de aplicação. Rypula e colaboradores (2012) reportaram que os animais contaminados com o protozoário, porém, medicados preventivamente, com toltrazuril, apresentaram ganho de peso diário de 221 gramas dos quatro dias aos 25 dias de vida, enquanto que os animais infectados e não medicados preventivamente, tiveram ganho de peso diário de 204 gramas no mesmo

período, portanto, 357 gramas mais leves comparados aos tratados no momento do desmame.

Leyton e colaboradores (2011), observaram que a taxa de crescimento dos leitões foi alterada se eles pertenciam a um grupo positivo para *I. suis* ou pertenciam a um grupo negativo. Neste estudo, os leitões positivos pesaram 1,4 kg a menos quando comparados aos leitões pertencentes as leitegadas negativas na oitava semana de vida.

De acordo com Sobestiansky e colaboradores (2012), embora a coccidiose seja tipicamente uma doença de leitões na fase de maternidade, nos últimos anos, devido ao desmame realizado antes dos 28 dias de idade dos leitões em algumas granjas, a enfermidade tem sido observada também no início da fase de creche.

Em um estudo realizado por Leyton e colaboradores (2011), oocistos de *I. suis* foram encontrados em leitões de 40 dias de vida com o pico de excreção ocorrendo aproximadamente aos 17 e 20 dias de idade. Este pico de excreção ocorreu no momento do desmame, sugerindo que naquele rebanho, o grande impacto da coccidiose ocorreu na fase de pós-desmame. Com o desmame dos leitões o intestino sofre mudanças perdendo a proteção passiva do leite e passando pela alteração de flora, devido a troca de dieta, do leite para a ração.

Em relação a fase do pós desmame até a idade de abate, poucos estudos foram realizados sobre o impacto da coccidiose no desempenho dos animais (KREINER et al., 2011; LEYTON et al., 2011; RYPULA et al., 2012).

Além do seu papel como patógeno primário, o *I. suis* é agente de diarreias multifatoriais e pode ser relacionado com enterites necróticas induzidas por infecções secundárias por *Clostridium* sp. (MENGEL et al., 2012).

O *C. perfringens* tipo A é parte da microbiota normal do intestino grosso de suínos, porém, sob certas circunstâncias, ele pode causar enfermidade grave. Krüger e colaboradores (2010) citaram que a infecção por *I. suis* em leitões recém-nascidos, em conjunto com a exposição ao *C. perfringens* tipo A, poderia levar a uma grave enterite, porém, dependeria da presença dos dois patógenos. Por outro lado, Mengel e colaboradores (2012) observaram que a contagem elevada de *C. perfringens* tipo A em leitões não contaminados por *I. suis* não necessariamente desenvolveram enterite necrótica. Os leitões

apresentaram um título alto de anticorpos contra *C. perfringens*, mas sem a doença clínica.

Collier e colaboradores (2008) sugeriram que o *I. suis* poderia contribuir para o desenvolvimento do *C. perfringens* pela indução da produção intestinal massiva de muco que serviria como um substrato para o crescimento do *Clostridium* sp.

A ruptura das células das vilosidades da mucosa do intestino causa enterite fibrinosa e lesões ao intestino que tornam os leitões mais susceptíveis a outras infecções como colibacilose e clostridiose (CHAE et al., 1998). A maturidade da mucosa intestinal no desmame tem importância especial no desempenho e conversão alimentar dos leitões ao longo da vida (MCORIST et al., 2010).

As lesões no intestino podem ter um impacto significativo no crescimento e no bem-estar dos suínos ao longo da vida, causando queda no ganho de peso mesmo em leitões assintomáticos (MAES et al., 2007).

2.4 Epidemiologia do *Cystoisospora suis* em suínos no mundo

2.4.1 Epidemiologia do *Cystoisospora suis* na Europa

Em um estudo realizado na Alemanha que comparou a excreção dos oocistos do *C. suis* em 264 leitegadas, observou-se a maior excreção no verão, com 66,3% das leitegadas positivas, 61% de positividade das leitegadas no outono, 47,7% na primavera e 37,9% de leitegadas excretando o protozoário no inverno (MEYER et al. 1999).

Mundt et al. (2005) pesquisaram a ocorrência do *I. suis* na Alemanha, Áustria e Suíça, e em mais de 75% das fazendas testadas o protozoário foi encontrado e relacionado como a causa mais comum de diarreias graves em leitões entre cinco e 20 dias de idade.

Na Polônia, um estudo indicou que o *I. suis* foi encontrado em 90% das granjas testadas. Na Holanda, Grécia e Irlanda o protozoário foi encontrado em mais de 75% das fazendas (TORRES, 2004).

Na Europa, em um estudo realizado envolvendo 3.500 leitegadas, em mais de 400 granjas, em 12 países, mostrou que o *I. suis* é muito prevalente em todos eles. No geral, 69% das fazendas e 25% das leitegadas analisadas foram positivas (MUNDT et al., 2003).

De acordo com Taylor (2013), na Holanda, 68% das granjas e 53% das leitegadas testadas estavam contaminadas com o *C. suis* em 1989. Na Áustria e Suíça, em 2005, 76% das 324 granjas testadas estavam contaminadas.

2.4.2 Epidemiologia do *Cystoisospora suis* na Oceania

Na Austrália, *I. suis* estava presente em 53,8% das amostras de mais de 2.300 leitões e em mais de 70% de 151 granjas amostradas e foi o principal patógeno associado com diarreia em leitões de cinco a 30 dias de idade (MUNDT et al., 2005).

2.4.3 Epidemiologia do *Cystoisospora suis* na América do Norte

Lindsay et al. (1984), nos Estados Unidos da América, não encontraram *I. suis* em nenhuma das 77 amostras de fezes de porcas em granjas com histórico de coccidiose neonatal. Os oocistos de *I. suis* foram encontrados em uma das 172 amostras de fezes de granjas sem histórico de coccidiose neonatal. No entanto, os oocistos de *Eimeria* spp. foram encontrados em 81,8% das porcas de fazendas com histórico de coccidiose neonatal e em 94,8% das porcas de granjas sem histórico de coccidiose neonatal. Oocistos de *Isospora* spp. de aves foram encontrados como pseudoparasita em muitas amostras de fezes dessas mesmas granjas.

No Canadá, em um estudo conduzido em 50 fazendas no sudoeste de Ontário para determinar a prevalência do *C. suis* em leitões de sete a 21 dias de idade, os oocistos foram encontrados em 70% das fazendas e leitegadas contaminadas com o protozoário foram quatro vezes mais propensas a apresentar diarreia do que as leitegadas negativas (LEYTON et al., 2011).

Os mesmos autores realizaram um estudo em uma granja com histórico de coccidiose, 188 amostras de fezes foram coletadas de 29 leitegadas da primeira até a oitava semana de vida dos leitões. Entre as 188 amostras, 34 foram positivas para oocistos de *I. suis*. Dentre as amostras positivas, 65% foram encontradas entre 15 e 24 dias de vida dos animais. Nenhuma amostra foi positiva em leitões com menos de 15 dias de vida ou com mais de 40 dias de vida.

Os mesmos pesquisadores, em outras três granjas encontraram uma proporção de leitegadas infectadas com *I. suis* de quatro para 10 (40%), 18 para 30 (60%) e 27 para 32 (84,45%). De acordo com Taylor (2013), estudos nos Estados Unidos da América e no Canadá sugeriram que o *C. suis* causou doença em 30 a 60% dos leitões.

2.4.4 Epidemiologia do *Cystoisospora suis* na Ásia

Um estudo retrospectivo feito na Coreia do Sul com infecções naturais por *I. suis* em leitões lactentes, realizado entre abril de 1994 e maio de 1997, para determinar a prevalência da infecção, relatou que 105 (17,3%) dos 605 leitões analisados a partir de 304 granjas suínícolas foram diagnosticados positivos para a coccidiose. Os leitões se mostraram contaminados com *I. suis* dos sete aos 20 dias de idade. A coccidiose ocorreu em todos os anos pelos quais o estudo foi conduzido, mas a incidência atingiu o pico em julho (15 casos, 14,3%), setembro (15 casos, 14,3%), outubro (16 casos, 15,2%) e novembro (18 casos, 17,1%) (CHAE et al., 1998).

Zhang et al. (2012) pesquisaram a prevalência da infecção por coccídios em leitões lactentes na China em 779 amostras de fezes de leitões na fase de maternidade. Foram coletadas amostras em 80 diferentes granjas em 17 províncias, de setembro de 2009 a dezembro de 2010. A prevalência de positividade variou de zero a 32,5% entre as diferentes províncias e a média de positividade foi de 16,7% (130/779). A maior prevalência, de 19,9%, foi encontrada em leitões entre oito e 14 dias de vida. Sete espécies de coccídios foram encontradas incluindo o *I. suis* (63,9%), *E. deblickei* (46,9%), *E. scabra* (4,6%) e *E. yanglingensis* 1,5%).

2.4.5 Epidemiologia do *Cystoisospora suis* na África

Em um estudo transversal realizado na região nordeste de Gana, para estimar a prevalência de parasitas em suínos criados em vilas, 259 amostras de fezes de leitões na fase de crescimento foram coletadas. Do total de amostras analisadas, 91% dos animais excretavam ovos de parasitas, sendo que, 27% excretavam oocistos de *I. suis* (PERMIN et al., 1999).

2.5 Epidemiologia do *Cystoisospora suis* no Brasil

Poucos estudos foram realizados para investigar a prevalência do parasita nos rebanhos suínos brasileiros e a importância da doença para a suinocultura industrial.

2.5.1 Minas Gerais

Em 1982, Martins e Lima, demonstraram a presença do *I. suis* em 24 das 29 (82,75%) criações de suínos da Zona da Mata no estado de Minas Gerais. Das 469 amostras de fezes analisadas, 17,91% foram positivas para *I. suis* em leitões com até oito semanas de vida.

Lima e colaboradores (1983) diagnosticaram coccidiose em leitões lactentes em dois rebanhos suínos também no estado de Minas Gerais, com uma taxa de morbidade de 60 a 80% e mortalidade em 20% e 6%, respectivamente.

Nishi e colaboradores (2000) avaliaram a presença de parasitas intestinais em rebanhos suínos criados confinados em cinco granjas por meio de exames coproparasitológicos. Os oocistos de *I. suis* foram identificados nas amostras de leitões jovens até a 12ª semana de vida em 22,8% das amostras. Nas 63 amostras de fezes coletadas de matrizes, 15,87% foram positivas para *I. suis*.

2.5.2 São Paulo

O primeiro relato de positividade do *I. suis* no estado de São Paulo, foi realizado por Rebouças e colaboradores (1992). Das 50 amostras de fezes examinadas, três (6,0%) estavam positivas e foram observadas em animais com 30 a 60 dias de vida, sem sinais clínicos evidentes de diarreia e nascidos e criados nos municípios de Embu, Rio Bonito e Campo Limpo Paulista.

Sayd e Urara (1996) pesquisaram a prevalência da isosporose neonatal suína em 33 granjas comerciais no sudeste do estado de São Paulo. As amostras de fezes foram coletadas de grupos de leitões lactentes a cada 10 dias e aos 20 a 29 dias de idade, além de leitões desmamados aos 30 a 50 dias de idade. As amostras foram coletadas ao longo de 11 meses, de janeiro a novembro. Neste estudo, observou-se uma alta prevalência do *I. suis*, com 27 granjas (82%) positivas para oocistos e também com a presença de 24% das amostras de fezes positivas. Nas 43 amostras de fezes com presença de oocisto de *I. suis*, 27 eram provenientes de granjas com histórico clínico de coccidiose e 16 amostras positivas eram provenientes de granjas sem histórico de coccidiose clínica.

Nishi e colaboradores (2000) avaliaram a presença de parasitas intestinais em rebanhos suínos criados confinados em nove granjas no estado de São Paulo por meio de exames coproparasitológicos. Os oocistos de *I. suis* foram identificados nas amostras de leitões jovens até a 12ª semana de vida em 13,7% das amostras.

2.5.3 Rio de Janeiro

Santos et al. (1988) relataram a prevalência de 5,38% de animais positivos em dois municípios do estado do Rio de Janeiro, ressaltando ter sido encontrado o *I. suis* em 11 leitões e em uma porca gestante.

2.5.4 Rio Grande do Sul

Em 1984, Barcellos e colaboradores relataram a ocorrência de um surto de coccidiose em uma granja de criação de suínos em ciclo completo no Rio Grande do Sul. A doença acometeu leitões entre cinco a 25 dias de idade, com morbidade inferior a 10%. Foram coletadas amostras de fezes para exame coproparasitológico. Além disso, cinco animais foram necropsiados e amostras de jejuno e íleo foram submetidas a exame histopatológico. Nos exames coproparasitológicos não foram observados oocistos. Os cortes histológicos do intestino delgado revelaram infiltração de células mononucleares na lâmina própria, fusão de vilosidades adjacentes e descamação do tecido epitelial das vilosidades com presença de células inflamatórias na luz do intestino. Foram também observadas formas assexuadas de coccídios merontes e merozoítos nas células epiteliais das vilosidades.

No mesmo estado, na região de Porto Alegre, examinando fezes coletadas mensalmente de suínos criados em uma pequena propriedade, Silva et al. (1993) identificaram oocistos não esporulados das seguintes espécies: *I. suis*, *E. perminuta*, *E. porci*, *E. polita* e *E. scabra*. Exceto para *E. polita* e *E. scabra*, os oocistos das demais espécies foram encontrados em todas as coletas mensais.

2.5.5 Santa Catarina

Sartor et al. (2007) coletaram 1150 amostras de fezes entre agosto de 2001 e julho de 2003 na região de Videira, SC, em granjas pertencentes a um sistema intensivo de criação. Do total de amostras, 290 eram de matrizes não gestantes, 300 amostras de matrizes gestantes e 260 amostras de leitões lactentes com idade entre sete a 20 dias. Os leitões recebiam medicação preventiva ao terceiro dia de vida com toltrazuril na dose de 20mg/kg de peso vivo. A maior prevalência de *I. suis* ocorreu nos leitões lactentes (5%) e somente uma fêmea em gestação apresentou excreção de oocistos de *I. suis*. Dos 691 oocistos identificados, 418 (60,49%) eram do gênero *Eimeria* e 273

(39,51%) de *Isospora*. As espécies *E. neodebliecki* e *I. suis* foram as que mais contribuíram, totalizando 39,36% e 39,51% dos oocistos, respectivamente.

2.6 Imunidade contra *C. suis*

De acordo com Sobestiansky et al. (2012), não existe até o momento, uma vacina contra a coccidiose suína. Além disso, parece não haver transferência de imunidade passiva da porca para o leitão por meio do colostro, mas os leitões portadores desenvolvem imunidade e resistem a reinfecções.

Diferentemente do que foi descrito por Sobestiansky et al. (2012), no estudo realizado por Schwarz e colaboradores (2013), anticorpos *C. suis* específicos foram produzidos por porcas após uma infecção natural e encontrados no colostro, leite e sangue dos leitões, demonstrando uma transferência desses anticorpos da porca para os leitões por meio do colostro.

O desenvolvimento endógeno do *C. suis* ocorre no epitélio intestinal e, consequentemente, os anticorpos só podem reconhecer o parasita durante a entrada ou saída da célula do hospedeiro. Após a ingestão do oocisto e liberação dos esporozoítos na luz intestinal e enquanto os merozoítos emergem de células infectadas e invadem as células adjacentes, é possível que o sistema imune reconheça o parasita (WORLICZEK et al., 2013).

Um relato de superinfecção experimental de porcas com oocistos de *C. suis* para induzir a resposta imune de leitões demonstrou que não houve alteração na consistência das fezes das porcas, ou seja, aparentemente, houve uma forte resistência idade-dependente das matrizes (SCHWARZ et al., 2014).

Neste mesmo estudo, 90/94 (95,7%) dos leitões infectados experimentalmente com 1.000 oocistos apresentaram excreção de oocistos nas fezes. Entretanto, nos leitões filhos das porcas superinfectadas, o curso da doença foi mais discreto, com maior presença de fezes sólidas, atraso no início da excreção de oocistos, com menor duração e menores quantidades de excreção de oocistos. Assim, sugeriu-se que a superinfecção oral com oocistos em matrizes, anteriormente ao parto, resultou na proteção parcial de leitões contra a coccidiose.

A reprodução do *C. suis* ocorre inicialmente nas células epiteliais do intestino delgado, assim, é possível assumir que interações de anticorpos com estágios invasivos do *C. suis* tornam-se importantes na luz intestinal. Os títulos de anticorpos encontrados no leite foram correlacionados com a proteção de leitões contra doenças, indicando que há uma ação local das imunoglobulinas na luz intestinal, portanto, a ingestão oral de anticorpos pode agir localmente no intestino e minimizar a invasão parasitária (CRABB, 1998).

2.7 Uso de toltrazuril no controle da coccidiose

O toltrazuril, a 1-metil-3-[-metil-4-[4-[(trifluorometil)tio]fenil-1,3,5-triazina-2,4,6(1H,3H,5H)-triona, é um fármaco triazinônico (Figura 3) que possui atividade anticoccidiana e antiprotozoária de amplo espectro de ação. Este medicamento pode ser utilizado para prevenção da coccidiose neonatal em suínos, mieloencefalite protozoária equina (*Sarcocystis neurona*, *Neospora caninum*, *Neospora hughesi*) e hepatozoonose canina (*Hepatozoon* spp.) (ADAMS, 2003). Este fármaco pode ser utilizado como metafilaxia para coccidiose das aves, a dose recomendada é de 7mg/kg de peso corporal ou ainda 25 ppm na água em dose única (SPINOSA et al., 2002).

A eficácia do toltrazuril na redução de sinais clínicos e na mortalidade associada ao *I. suis* foi demonstrada em leitões experimentalmente infectados com oocistos esporulados de *I. suis*. Mundt e Haberkorn (1990) sugeriram que 10 a 20 mg/kg de peso corporal de toltrazuril por dia foi efetivo em reduzir a excreção de oocistos de *I. suis* e o tratamento oral de dose única a 20 mg/kg foi efetivo na redução da doença clínica e da mortalidade. Koudela et al. (1992) demonstraram que leitões tratados com 20 mg/kg de toltrazuril nos dias seis, sete e oito de vida, não desenvolveram diarreia ou excreção de oocistos.

Madsen et al. (1992) administraram 1,0mL de toltrazuril por leitão aos quatro dias de vida e observaram redução na excreção de oocistos, duração e gravidade das diarreias em leitões.

Segundo Spinosa e colaboradores (2002), o toltrazuril atua nas diferentes formas evolutivas do parasita, mas principalmente nos esquizontes,

nos macro e microgametócitos, alterando a função da cadeia respiratória e as enzimas mitocondriais.

O toltrazuril é efetivo contra os estágios endógenos do protozoário, portanto, o desenvolvimento de resistência provavelmente seja mais demorado em comparação com outros anticoccidianos (HABERKORN e MUNDT, 1988).

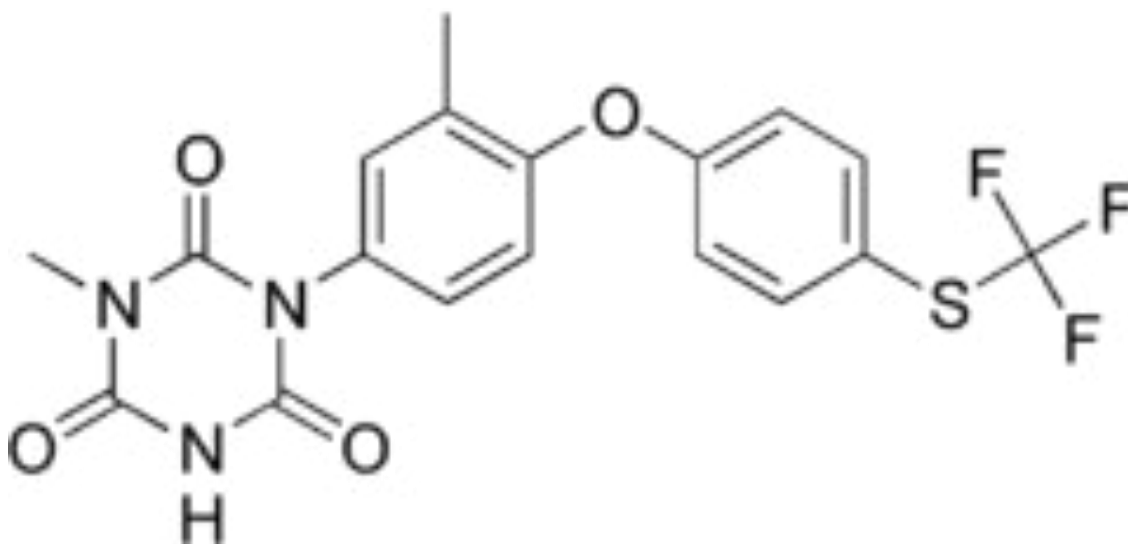


Figura 3 - Fórmula química do toltrazuril (C₁₈H₁₄F₃N₃O₄S). Fonte: Adams (2003).

Quando o tratamento é descontinuado em uma granja, a excreção de oocistos parece reaparecer rapidamente, provavelmente pela contaminação das gaiolas das porcas. Em granjas onde o tratamento foi interrompido, o retorno da excreção de oocistos nas fezes de leitões foi relatado no primeiro ciclo de leitões paridos, mesmo que em pequenas quantidades e nem sempre correlacionados com diarreia (DRIESEN et al., 1993; SKAMPARDONIS et al., 2010).

Driesen et al. (1995) relataram uma redução da prevalência de diarreia após o tratamento profilático com toltrazuril, o que refletiu em uma redução significativa da aplicação de antimicrobianos aos leitões. O *I. suis* foi prevalente em 6% das leitegadas tratadas com toltrazuril e 84% nas leitegadas não tratadas. O número de dias que os leitões excretavam oocistos também foi menor nos animais tratados. Esses autores sugeriram que a administração oral do toltrazuril para leitões entre três e seis dias de idade foi eficaz.

Maes et al. (2007) avaliaram os efeitos do toltrazuril no desempenho de leitões em rebanhos sem sinais clínicos de coccidiose. Os leitões foram tratados por via oral com 0,7mL de um produto a 5% de toltrazuril entre os três e cinco dias de vida. O peso das leitegadas foi obtido no dia do tratamento e no desmame. Amostras em *pool* de fezes foram coletadas por leitegada entre 10 e 18 dias de vida. Foram avaliados dez rebanhos, em quatro desses rebanhos foram diagnosticados *I. suis*.

No estudo acima referenciado, nos rebanhos positivos e sem sinais clínicos, a média de ganho de peso diário (GPD) foi de 260 gramas por dia nos leitões tratados e 235 gramas por dia nos leitões não tratados (grupo controle). O efeito no GPD foi significativo, o que era esperado, pois o tratamento precoce com toltrazuril restringiu o dano intestinal ao mínimo grau. Não houve diferença significativa da mortalidade nos rebanhos positivos, o que pode ser explicado pelo fato de não haver sinais clínicos da doença nesses rebanhos.

Em um estudo realizado por Mundt et al. (2005), nas regiões norte, central, oeste, leste e sul da Alemanha, além de Áustria e Suíça, em 146 rebanhos onde se tinha a informação prévia do uso de toltrazuril como metafilaxia, nos 13 rebanhos que relataram já ter usado toltrazuril previamente, 53,8% foram positivos para *I. suis*. Nos 133 rebanhos que nunca haviam sido tratados, 76,7% estavam infectados com *I. suis*.

Sartor et al. (2007) coletaram 260 amostras de fezes de leitões lactentes com idade entre sete e 20 dias, em granjas pertencentes a um sistema de intensivo de criação. Os leitões recebiam medicação preventiva ao terceiro dia de vida com toltrazuril na dose de 20 mg/kg de peso vivo. As salas de maternidade eram mantidas vazias por sete a 10 dias, período da realização de lavagem, desinfecção e utilização de vassoura de fogo. Desta forma, provavelmente, pelas medidas de profilaxia à doença que eram empregadas, apenas 5% dos leitões apresentaram excreção de oocistos de *I. suis* nas fezes.

Skampardonis et al. (2010) estudaram o efeito do toltrazuril em 25 leitegadas, das quais, 13 leitegadas (128 leitões) foram tratadas com toltrazuril ao terceiro dia de vida na dose de 20 mg/kg de peso vivo e 12 leitegadas (118 leitões) não foram tratadas. As fezes foram coletadas de todos os leitões dos

seis dias de vida até o desmame. Ao menos um leitão de cada leitegada que não foi tratado com toltrazuril excretou oocistos. No geral, 65,6% dos leitões não tratados e 11% dos leitões tratados excretaram oocistos ao menos uma vez. Em 66,7% dos animais não tratados observaram diarreia em um momento, enquanto que nos animais tratados a ocorrência de diarreia foi de 50,4%. O tempo médio para o início da excreção de oocistos e da diarreia em leitões não tratados foi de 19 e 25 dias, respectivamente. Para os animais tratados, o período para início da excreção de oocistos e diarreia foi de 29 e 29 dias, respectivamente.

De acordo com Leyton et al. (2011), na maioria dos países, o único princípio ativo que está licenciado para prevenção da coccidiose em suínos é o toltrazuril. A administração de 20 mg de toltrazuril por kg de peso vivo em uma dose única na primeira semana de vida dos leitões promoveu significantes benefícios econômicos, mesmo que a coccidiose tenha sido subclínica.

Em 14 granjas comerciais, na Áustria, com média de 95 porcas alojadas por granja, foram avaliados os parâmetros clínicos e zootécnicos. Nas granjas onde o toltrazuril era utilizado como profilaxia da coccidiose, os leitões geralmente estiveram em melhores condições de saúde, apresentaram menos diarreia e a excreção de oocistos foi esporádica e sem relação com diarreia (KREINER et al., 2011).

Esses mesmos autores observaram que nos rebanhos tratados com toltrazuril, em média as porcas desmamavam aproximadamente 0,9 leitão a mais por ano ao se comparar aos rebanhos que não faziam o uso do anticoccidiano. Especulou-se que a profilaxia com toltrazuril melhorou a saúde intestinal dos animais e os protegeu de infecções secundárias bacterianas. Nas granjas tratadas, em média, 87,64 leitões de 25 kg eram vendidos a mais por ano do que em rebanhos não tratados.

De acordo com Skampardonis et al. (2012), leitegadas que receberam toltrazuril demonstraram 3,70 vezes menos probabilidade de excretar oocistos nas fezes do que em leitegadas de rebanhos não tratados. Nos rebanhos medicados, a contagem de oocistos por grama de fezes (OPG) foi 7,03 vezes menor quando comparado aos rebanhos não medicados.

Mengel et al. (2012) relataram que leitões experimentalmente infectados com 1.000 oocistos esporulados de *I. suis* no primeiro dia de vida e não tratados com toltrazuril, excretaram quantidades elevadas de *C. perfringens* nas fezes em comparação com animais infectados da mesma forma, porém, medicados com toltrazuril 12 horas após a infecção.

Rypula et al. (2012), realizaram um estudo medicando leitões com 0,4 mL/kg de toltrazuril 5% no quarto dia de vida e compararam o peso dos animais tratados com os animais do grupo controle ao longo da vida em duas avaliações diferentes. De acordo com esses autores, na primeira avaliação os animais tratados foram desmamados 1412 g mais pesados que os animais controle. Na segunda avaliação, os animais tratados foram desmamados 350 g mais pesados que os animais controle. No momento da venda dos suínos para abate, os animais tratados da primeira avaliação eram 5.400 g mais pesados.

Na segunda avaliação, os animais tratados eram 3.000 g mais pesados no momento da venda. Estes resultados sob condições de campo, sugeriram que o uso de uma única aplicação de toltrazuril é suficiente para produzir resultados similares àqueles em condições experimentais. Desta forma, a metafilaxia com toltrazuril foi extremamente eficiente no controle do impacto da coccidiose e levou os suínos ao peso de abate mais rápido.

De acordo com os resultados dos trabalhos revisados, é possível concluir que a administração de toltrazuril de forma profilática nos leitões, dos três aos cinco dias de vida, é eficiente no controle da coccidiose, na redução da excreção de oocistos de *C. suis* nas fezes, na redução de diarreia, e na melhoria do ganho de peso de leitões até o desmame e ao longo da vida dos suínos.

3 Objetivos

3.1 Objetivos gerais

O presente estudo teve por objetivo testar protocolos de aplicação do fármaco a base de toltrazuril a 5% e determinar o protocolo que demonstrasse melhor eficiência no controle da coccidiose em leitões, em condições de produção comercial.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar nos leitões submetidos aos diferentes protocolos de administração de toltrazuril, a excreção de oocistos do *C. suis*, o grau de lesão da parede intestinal, o ganho de peso diário nos períodos de três a 21, 21 a 132 e de três a 132 dias de vida, bem como a taxa de mortalidade.

3.3 Hipótese

De acordo com Taylor et al. (2010) merontes de segunda geração estão presentes quatro dias após a infecção dos leitões com o *Cystoisospora suis* e gamontes maduros ocorrem cinco dias após a infecção, portanto, se o leitão se infectar com o *C. suis* no primeiro dia de vida, terá lesão de enterócitos e início da perda da capacidade digestiva no quarto e quinto dia de vida. Segundo Spinosa e colaboradores (2002), o toltrazuril atua nas diferentes formas evolutivas do parasita, mas principalmente nos macro e microgametócitos (início da reprodução sexuada), dessa forma, é necessário administrar o toltrazuril antes do início dessa fase do ciclo, ou seja, hipoteticamente no terceiro dia de vida dos leitões.

4 Material e métodos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (protocolo 178/2015 – CEUA), da FMVZ, UNESP – *Campus* de Botucatu (Anexo).

4.1 Local do experimento

O experimento foi realizado em uma granja comercial no município de Brotas, estado de São Paulo, com histórico de diarreia em leitões lactentes e com baixo peso ao desmame.

A granja possuía aproximadamente 2.000 matrizes da genética PIC¹, com desmame semanal de leitões. Ocorriam em torno de 95 partos por semana, com alojamento de até 50 porcas por sala, em oito salas de maternidade.

Cada sala de maternidade possuía 50 unidades individuais de parição, composta pela gaiola da matriz e pelas áreas laterais dos leitões. O piso era de material plástico vazado nas laterais da gaiola, local onde os leitões se protegiam e se posicionavam para mamar. O piso sob a gaiola e na sua parte posterior era de ferro galvanizado vazado. As gaiolas eram suspensas do chão com vala para deposição e condução dos dejetos. Os escamoteadores (abrigo dos leitões) eram anexos à unidade de parição com paredes e pisos construídos em madeira e possuíam lâmpadas infravermelhas para aquecimento.

As salas de maternidade possuíam climatização do ambiente com o sistema “Ductofan” que corresponde a dutos de condução de ar refrigerado posicionados na direção da região cervical dorsal das porcas. O sistema era acionado quando a temperatura da sala ultrapassava os 28°C. O teto era forrado com lona plástica e as paredes laterais possuíam cortinas móveis que podiam ser abertas para ventilação natural quando a temperatura interna estava elevada (Figura 4).

¹ Genética comercial PIC: matrizes híbridas (50% Landrace e 50% Large White).



Figura 4 – Sala de maternidade da granja em 29/02/2016, Brotas, SP. Fonte: o autor.

O fornecimento de ração para as matrizes era automático e realizado duas vezes ao dia por meio de “drop” (sistema automatizado para fornecimento de ração com programação de quantidade e horário). Os leitões lactentes começavam a receber a primeira ração aos oito dias de vida em comedouros específicos. Esta ração atendia as exigências nutricionais para leitões de acordo com Rostagno et al. (2011).

Dentre os procedimentos e manejos realizados pela granja estava o acompanhamento do nascimento dos leitões e o toque vaginal nas matrizes para auxílio ao nascimento de leitões em partos distócicos. Realizava-se, logo após o nascimento, a amarração de umbigo com barbante embebido em iodo (IODIGEN[®], Sanphar Saúde Animal, Campinas - SP, Brasil), no 2º dia de vida a aplicação intramuscular de amoxicilina na dose de 50 mg/kg (VETRIMOXIN[®], Ceva Saúde Animal, Paulínia-SP, Brasil), desgaste de dentes, no 3º dia de vida, a aplicação de ferro dextrano intramuscular (GLEPTOFERRIL[®] 20%,

Eurofarma, São Paulo-SP, Brasil), na dose de 1 mL/leitão e no 7º dia de vida a castração cirúrgica dos leitões.

O período de lactação dos leitões era de 21 dias com a adoção do sistema de manejo “todos dentro-todos fora”, ou seja, após o desmame de todas as porcas alojadas na sala de maternidade, ocorria a higienização da sala com água e detergente e, posteriormente à secagem, realizava-se a desinfecção com desinfetante a base de glutaraldeído e amônia quaternária (FARMASEPT® PLUS, Farmabase Saúde Animal, Jaguariúna – SP, Brasil). A desinfecção era realizada pela pulverização da mistura de um mL do desinfetante para cada litro de água. Utilizava-se um litro da solução de desinfetante para cada m² de sala, atentando-se para umedecer todo o ambiente, incluindo equipamentos, escamoteadores, gaiolas parideiras e canaletas.

A granja era de ciclo completo e, após o desmame, os leitões eram transferidos para o setor de creche, onde eram alojados em baias de 25 animais, permanecendo até os 63 dias de vida ou em torno de 24 kg de peso vivo. Após o período de creche, havia nova transferência dos leitões para as instalações de recria e terminação, que alojavam 2.400 suínos, com 60 animais por baia. Na unidade de recria e terminação, os animais permaneciam por aproximadamente 80 dias, ou seja, até o abate com peso vivo aproximado de 100 kg.

A granja tinha excelente perfil sanitário e o rebanho era considerado livre de *Mycoplasma hyopneumoniae*.

4.2 Período pré-experimental

Para a determinação do melhor protocolo de controle da coccidiose e avaliação do desempenho dos leitões ao longo do período produtivo, foram utilizados quatro grupos de 10 matrizes em gestação da genética comercial PIC. Cada grupo de matrizes foi composto seguindo obrigatoriamente a ordem de três matrizes de 1º parto, três matrizes de 2º parto, duas matrizes de 3º parto e duas matrizes de 4º ou 5º parto, buscando-se evitar que algum dos

grupos fosse prejudicado pela maior presença de porcas de 1º parto ou beneficiado com a maior presença de porcas de 3º parto.

Todas as matrizes foram alojadas na mesma sala, sendo as porcas do mesmo grupo alojadas lado a lado em gaiolas vizinhas, separadas do grupo seguinte por uma gaiola vazia.

4.3 Período experimental

As matrizes foram alimentadas com ração Lactação que atendiam as exigências nutricionais para lactantes, de acordo com Rostagno et al. (2011). A quantidade de ração fornecida por fêmea foi de dois kg mais 500 gramas por leitão nascido, de modo que uma porca que pariu 12 leitões recebeu oito kg de ração por dia, divididos em dois fornecimentos, um no período da manhã e outro no período da tarde.

O acesso à água era livre às matrizes e era feito por meio de bebedouro chupeta posicionado na parte frontal da gaiola da fêmea.

Os leitões eram alimentados exclusivamente com leite materno e a água era fornecida em mini bebedouros chupeta, posicionados na baia, até os oito dias de vida. A partir do 8º dia, além do leite da porca, os leitões recebiam a primeira ração em comedouros específicos posicionados no piso da gaiola parideira.

4.3.1 Formação dos grupos de leitões

Os leitões foram separados em quatro grupos. Cada grupo foi composto por 10 leitegadas e cada leitegada alojada em uma gaiola parideira. Todos os leitões dos diferentes grupos foram identificados com brincos numerados. No grupo um ou grupo controle (GC) os leitões foram identificados com brincos de cor branca, no grupo dois (G2) os leitões receberam aplicação de brincos azuis, no grupo três (G3) os leitões foram identificados com brincos de cor laranja e no grupo quatro (G4) os leitões receberam brincos de cor vermelha.

4.3.2 Protocolo de administração de toltrazuril e pesagens

O GC composto por 125 leitões, não recebeu a administração do fármaco anticoccidiano toltrazuril. O G2, composto por 127 leitões, recebeu um mL de toltrazuril a 5% por via oral (FARMACOX[®], Farmabase Saúde Animal, Jaguariúna- SP, Brasil) no 3º dia de vida dos leitões, equivalente a 20 mg/kg de peso vivo da molécula para um animal de 2,5 kg. O G3, composto por 116 leitões, recebeu um mL de toltrazuril a 5% por via oral no 5º dia de vida. O G4, composto por 127 leitões, recebeu duas aplicações de um mL de toltrazuril a 5%, quando os animais tinham três e sete dias de idade (Tabela 1) (Figura 5).



Figura 5 - Administração de toltrazuril via oral nos leitões na granja, 01/03/2016, Brotas, SP. Fonte: o autor.

Tabela 1 - Formação dos grupos e protocolo de administração de toltrazuril em leitões nas diferentes idades.

Grupo	Número de leitões	Tratamento com toltrazuril 5%	Dose
Controle	125	-	-
2	127	3º dia de vida	1 mL/leitão
3	116	5º dia de vida	1 mL/leitão
4	127	3º e 7º dia de vida	1 mL/leitão

Todos os animais foram pesados individualmente no 3º dia de vida, utilizando Balança Digital Plástica Redonda (Kamer Indústrias de Balanças LTDA, São Paulo, SP). Nos 21º dia (data do desmame) e nos 132º dias de vida, uma nova pesagem individual foi realizada utilizando a Balança MGR-4000 Júnior (Toledo do Brasil, Indústrias de Balanças LTDA, São Bernardo do Campo, SP), para avaliação do ganho de peso de cada grupo nas fases de três a 21, 21 a 132 e de três a 132 dias de idade.

4.3.3 Amostra de fezes e análises laboratoriais

As análises coproparasitológicas foram realizadas no Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP-Botucatu-SP.

As amostras individuais de fezes de leitões foram coletadas nas idades de cinco, sete, 12, 21 e 63 dias diretamente da ampola retal (Figura 6) e analisadas pela técnica de centrífugo-flutuação de Faust e colaboradores modificada para pesquisa de oocistos de protozoários (FAUST et al., 1938). Essa técnica consiste em misturar com uma pazinha, dois gramas de fezes com uma solução de sulfato de zinco ($ZnSO_4$) em um tubo de centrífuga e depois coar.

Coloca-se novamente a mistura no tubo enchendo com $ZnSO_4$ até formar um menisco. Coloca-se uma lamínula sobre o tudo, centrifuga-se por 5

minutos a 1.500 rpm. Em seguida, retira-se a lamínula e a coloca sobre uma lâmina contendo uma gota de lugol. Examina-se no microscópio em aumento de 100 e 400x.

Nos leitões de cinco dias de idade, devido à dificuldade de se obter a quantidade de fezes adequada, foram coletados no mínimo dois gramas de fezes de dois animais de cada grupo, diretamente da ampola retal e um *pool* de fezes dos animais de cada tratamento para pesquisa de oocistos de *C. suis*.

No sétimo, 12º, 21º e 63º dia de idade, foram coletados no mínimo dois gramas de fezes, de cinco ou mais animais de cada grupo, diretamente da ampola retal, e dois *pools* de fezes de cada tratamento para pesquisa de oocistos de *C. suis* no sétimo, 12º e 21º dia de vida (tabela 2).

Os *pools* de amostras de fezes foram analisados através do método de Gordon e Whitlock modificada (GORDON et al., 1939) para a contagem de oocistos por grama de fezes (OPG). Essa técnica consiste em pesar dois gramas de fezes, colocar em um tamís e acrescentar 58mL de solução hipersaturada de NaCl ou açúcar, na sequência, as fezes foram trituradas com um bastão e homogeneizadas com uma pipeta. Uma pequena quantidade de amostra foi retirada e usada para preencher as duas áreas da câmara de McMaster. Para visualização microscópica usou-se ocular de 5x ou 8x e objetiva de 10x. A contagem dos ovos foi realizada um cm à direita e um cm à esquerda do centro da câmara.



Figura 6 - Coleta de fezes dos leitões diretamente da ampola retal, 23/03/2016, Brotas, SP. Fonte: o autor.

4.3.4 Exames clínicos e exames histopatológicos

Aos sete, 12, 21 e 63 dias de vida dos leitões, foram realizadas observações clínicas de cada grupo e indivíduo, além da avaliação da condição corporal.

Em cada um dos tratamentos que apresentou animais com quadro clínico diarreico sugestivo de coccidiose, realizou-se a eutanásia e, posteriormente, a necropsia. As eutanásias seguiram o método de insensibilização por eletronarcose e morte por sangria da artéria carótida (LUDTKE et al., 2010) e as necropsias foram feitas pela técnica adaptada para suínos (BARROS, 1988), com o objetivo de coletar porções do intestino delgado para realização de exames histopatológicos.

Foram realizadas 13 necropsias, sendo de um animal do G4 com sete dias de idade e de um animal de cada grupo aos 12, 21 e 63 dias de vida. Na necropsia foram coletados fragmentos de dois a três centímetros de duodeno e jejuno e acondicionados individualmente em frascos contendo formaldeído a 10%.

As análises histopatológicas foram realizadas no laboratório do Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal de Concórdia-SC (CEDISA), pela técnica de inclusão do tecido em parafina e coloração em hematoxilina e eosina. Para todas as amostras de duodeno e jejuno optou-se também por realizar imuno-histoquímica para pesquisa de Rotavírus tipo A, pela semelhança das lesões histopatológicas da rotavirose com a coccidiose. A técnica utilizada foi a imuno-histoquímica de Gelberg modificado (GELBERG et al., 1990) também realizada no laboratório CEDISA.

A técnica de imuno-histoquímica utilizada consiste em fixar fragmentos de tecidos com 3-5 µm de espessura, em lâminas tratadas com poli-L-lisina, desparafinados e submetidos aos seguintes passos: recuperação de antígeno por irradiação em microondas, por duas vezes de cinco minutos, a 700W; bloqueio da peroxidase endógena com H₂O₂ a 3,0%; incubação das seções a 37°C por duas horas com o anticorpo primário monoclonal anti-Rotavírus A (capsid 2B4 – Santa Cruz anticorpos[®]) na diluição de 1:100; incubação a 37°C por 30 minutos com o kit Polímero EnVision (Dako[®]); revelação da reação com 3-amino-9-etilcarbazole (AEC) a 37°C por cinco minutos e coloração de contraste com hematoxilina de Mayer por um minuto. Foi empregado o tampão PBS (pH 7,4) nas lavagens entre cada passo. Como controle positivo, foi utilizado fragmento de intestino comprovadamente positivo para Rotavírus A. Como controle negativo foi utilizado fragmento de intestino normal de suíno livre de patógenos específicos (SPF).

4.3.5 Análise Estatística

Os dados foram analisados com o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC, EUA). Cada animal foi considerado uma unidade experimental. O modelo fixo contém os efeitos de tratamento, além de peso

inicial como covariável independente. Os resultados estão apresentados como médias do quadrado mínimo e separados com PDIFF ajustado por Tukey. A significância foi determinada se $p \leq 0,05$ e tendências se $p > 0,05$ e $\leq 0,10$.

5 Resultados

5.1 Exames Coproparasitológicos

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados dos exames coproparasitológicos de acordo com a idade dos leitões. As amostras individuais e os *pools* de fezes analisadas nos leitões de cinco, sete, 12 e 21 dias de idade foram negativas para a presença de oocistos de *C. suis*. Os resultados coproparasitológicos dos animais com 63 dias de idade demonstraram que um animal do GC (1/7; 14,28%) e um animal do G3 (1/7; 14,28%) apresentaram oocistos de *C. suis* nas fezes (Figura 7).

Tabela 2 – Resultados dos exames coproparasitológicos dos leitões nas diferentes idades de coleta.

Idade (dias)	Número de animais e de <i>pools</i> por grupo	total	Amostras positivas	Amostras negativas
5	2	8	0	8
	1 <i>pool</i>	4	0	4
7	6	24	0	24
	2 <i>pool</i>	8	0	8
12	6	24	0	24
	2 <i>pool</i>	8	0	8
21	5	20	0	20
	2 <i>pool</i>	8	0	8
63	7	28	2	26

A prevalência de animais positivos nas 104 amostras coletadas individualmente nas diferentes idades (cinco, sete, 12, 21 e 63 dias) foi de 1,92% (2/104).

5.2 Necropsia e exames histopatológicos

Dos 13 animais necropsiados que apresentaram sinais clínicos e aspecto das fezes sugestivos de um quadro clínico de coccidiose, somente quatro tinham alterações significativas nos fragmentos de duodeno e jejuno analisados.

O animal do G4 necropsiado aos sete dias de idade apresentou leve congestão no jejuno e discreta infiltração celular, com predomínio de mononucleares na lâmina própria e dilatação dos vasos linfáticos na submucosa. Não havia evidências de lesões de coccidiose.

Um animal do G2, aos 12 dias de idade, apresentou discreta infiltração celular inflamatória mista na lâmina própria do jejuno. Em um dos fragmentos de jejuno havia grumos bacterianos aderidos ao epitélio e na luz. Havia também dilatação dos vasos linfáticos na submucosa. Os achados sugeriram enterite bacteriana por colibacilose. Não havia lesões sugestivas de coccidiose.

Um animal do G3, aos 12 dias de idade, apresentou congestão da mucosa do jejuno, leve infiltração celular mononuclear na lâmina própria com degeneração do epitélio no topo e laterais das vilosidades e discreta atrofia das vilosidades. As lesões eram compatíveis com coccidiose clínica, porém, formas endógenas do *C. suis* não foram encontradas no interior dos enterócitos e/ou na superfície da mucosa (Figura 8).

Um animal do GC, aos 21 dias de vida, apresentou moderada congestão no jejuno, discreta infiltração de linfócitos na lâmina própria, leve degeneração vacuolar epitelial no topo das vilosidades, camada submucosa com edema e dilatação de vasos linfáticos. As lesões eram compatíveis com coccidiose clínica, porém, formas endógenas do *C. suis* não foram encontradas no interior dos enterócitos e/ou na superfície da mucosa (Figura 9).

Nos animais de 63 dias de idade, não houve alterações nos fragmentos intestinais analisados.

O teste de imuno-histoquímica para a pesquisa de Rotavírus tipo A (GELBERG et al., 1990) foi realizado em todas as amostras de jejuno e duodeno, como ferramenta de diagnóstico diferencial. Todas as 13 amostras

avaliadas foram negativas para Rotavírus tipo A. Na Figura 10, uma das lâminas sem alterações, demonstrando a negatividade do resultado.



Figura 7 - Oocisto de *C. suis* nas fezes de leitão do GC com 63 dias de idade (Fonte: Raphaela Moreira de Oliveira – Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais – FMVZ, UNESP – *Campus* de Botucatu – SP).

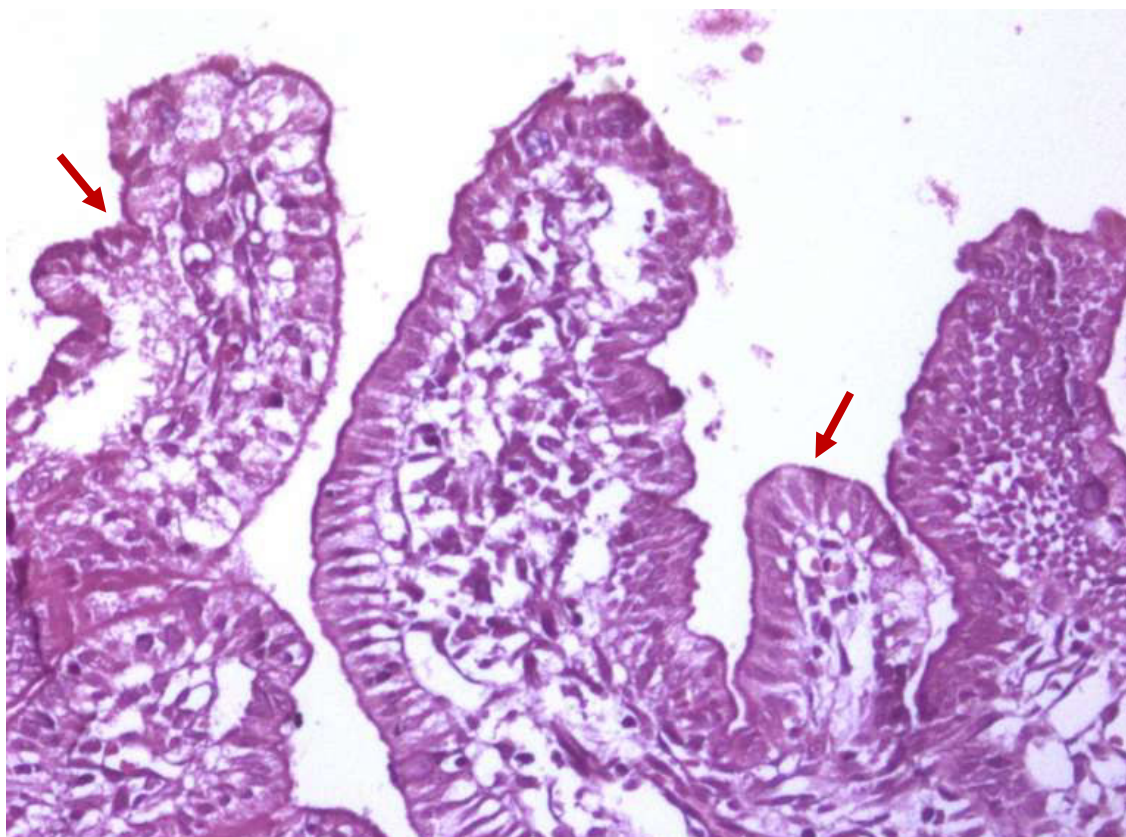


Figura 8 - Fragmento de jejuno de leitão do G3 aos 12 dias de vida, coloração por hematoxilina e eosina. Fonte: Marcos Antônio Zanella Mores – Laboratório Cedisa, Concórdia-SC. Setas indicam congestão da mucosa do jejuno, leve

infiltração celular mononuclear na lâmina própria com degeneração do epitélio no topo e laterais das vilosidades e discreta atrofia das vilosidades.



Figura 9 - Fragmento de jejuno de leitão do GC aos 21 dias de vida, coloração por hematoxilina e eosina. Fonte: Marcos Antônio Zanella Mores – Laboratório Cedisa, Concórdia-SC. As setas indicam moderada congestão no jejuno, discreta infiltração de linfócitos na lâmina própria, leve degeneração vacuolar epitelial no topo das vilosidades, camada submucosa com edema e dilatação de vasos linfáticos.

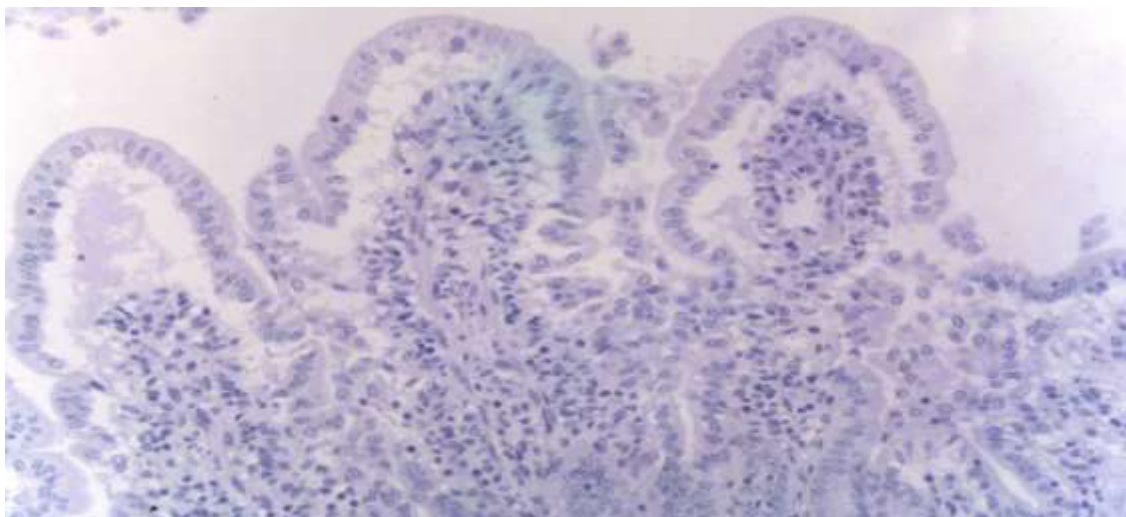


Figura 10 - Imuno-histoquímica processada em parafina, corada com hematoxilina e purificada em xileno de leitão com 21 dias de idade, negativo para Rotavírus tipo A. Fonte: Marcos Antônio Zanella Mores – Laboratório Cedisa, Concórdia-SC.

5.3 Desempenho zootécnico

Todos os leitões dos quatro grupos do experimento foram pesados individualmente ao 3º dia de vida. Os pesos médios de cada grupo estão apresentados na Tabela 3.

Apesar de, para formação dos grupos, ter sido respeitada a mesma distribuição das matrizes por ordem de parto, e, todas terem sido alojadas na mesma sala de parto e sob as mesmas condições ambientais de manejo, houve diferença significativa de peso dos leitões ao 3º dia do G2 em relação aos demais ($p < 0,01$). Para que isso não influenciasse a interpretação dos resultados, o peso ao terceiro dia (d3) foi considerado como covariável independente. Dessa forma, na Tabela 3, estão apresentados os pesos médios de cada grupo ajustados por covariável no desmame (d21) e aos 132 dias de vida (d132), momento em que os suínos foram levados para o abate.

Tabela 3 - Peso médio ajustado dos leitões, de cada um dos tratamentos no 3º dia de vida (d3), no desmame (d21) e no momento da venda para abate (d132).

	Tratamentos				Erro padrão da média	p
	Grupo Controle	G2	G3	G4		
Número de leitões	125	127	116	127	-	-
Peso médio ao 3º dia de idade	1,60 ^a	1,79 ^b	1,52 ^a	1,60 ^a	0,04	< 0,01
21 Dias de idade	5,12 ^a	5,29 ^{ab}	5,32 ^{ab}	5,55 ^b	0,09	< 0,01
132 dias de idade	90,78 ^a	98,05 ^b	94,37 ^{ab}	95,74 ^b	1,17	< 0,01

**Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$).*

Os animais que receberam duas doses de toltrazuril, aos três e sete dias de vida (FARMACOX[®], Farmabase Saúde animal, Jaguariúna-SP), apresentaram maior peso no desmame, quando comparados com os animais que não foram tratados ($p < 0,01$).

Aos 132 dias de idade, os animais que receberam uma dose de toltrazuril aos três dias de vida, e os animais que receberam duas doses, apresentaram peso corporal significativamente maior quando comparados com os animais que não foram tratados ($p < 0,01$).

Os valores de ganho de peso diário (GPD) dos três aos 21 dias de idade, dos 21 aos 132 dias de idade e dos três aos 132 dias de idade dos suínos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Ganho de peso diário (Kg) dos leitões nos períodos de três a 21, 21 a 132 e dos três aos 132 dias de idade em função dos tratamentos.

Tratamentos						
GPD (kg)	Grupo Controle	G2	G3	G4	Erro padrão da média	<i>p</i>
Dos 3 aos 21 dias de idade	0,193 ^a	0,203 ^{ab}	0,205 ^{ab}	0,218 ^b	0,005	< 0.01
Dos 21 aos 132 dias de idade	0,772 ^a	0,835 ^b	0,802 ^{ab}	0,811 ^b	0,011	< 0.01
Dos 3 aos 132 dias de idade	0,691 ^a	0,747 ^b	0,719 ^{ab}	0,729 ^b	0,010	< 0.01

**Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$).*

Os suínos do G4 apresentaram ganho de peso diário (GPD) de três a 21 dias de idade significativamente ($p < 0,01$) maior do que aqueles do GC. Os animais do G2 e G4 apresentaram GPD significativamente maior ($p < 0,01$) dos

três dias até os 132 dias de idade, e do desmame (d21) até os 132 dias de idade, quando comparados àqueles do GC ($p < 0,01$).

5.4 Avaliações dos protocolos em relação à mortalidade

A mortalidade foi avaliada ao longo de todo o experimento (três a 132 dias de idade) e os resultados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Percentual de mortalidade dos três aos 132 dias de idade dos animais.

Mortalidade (%)	Tratamentos				Erro padrão da média	p
	Controle	2	3	4		
Dos 3 aos 132 dias de idade	5,02	5,08	4,42	6,7	2,10	0,88

Não houve diferença significativa no percentual de mortalidade entre os grupos ao longo do período do estudo ($p = 0,88$).

6 Discussão

As amostras de fezes dos leitões de cinco a 21 dias de idade independentemente dos tratamentos foram negativas para presença de *C. suis*. De acordo com estudo realizado por Leyton e colaboradores (2011), nenhuma amostra foi positiva para *C. suis* em leitões com menos de 15 dias de vida. No entanto, Mundt e colaboradores (2003), identificaram 69% das fazendas e 25% dos leitões em lactação positivos para *C. suis*. Nos estados brasileiros de Minas Gerais e São Paulo, Nishi e colaboradores (2000), encontraram 20,65% dos leitões positivos até a terceira semana de vida. Em um estudo realizado por Sartor e colaboradores (2007) em Santa Catarina, os leitões recebiam medicação preventiva ao terceiro dia de vida com toltrazuril na dose de 20 mg/Kg de peso vivo e foram coletadas amostras de fezes de 260 leitões entre sete e 20 dias de idade, foi observado que 5% das amostras foram positivas para *I. suis*.

A ausência de *C. suis* nas amostras de fezes deste estudo, até o desmame, possivelmente está relacionada não só a medicação com toltrazuril, mas às medidas de biossegurança praticadas pela granja: manejos de limpeza e desinfecção bem realizados, vazio sanitário na sala de maternidade e piso plástico vazado nas gaiolas da sala de parto, pois o uso de detergente no processo de limpeza reduz a probabilidade de uma granja ser positiva para *I. suis* (LEYTON et al., 2011), enquanto a prática de limpeza e desinfecção na sala de maternidade seguida de vazio sanitário reduz em três vezes a probabilidade das leitegadas serem positivas, além disso, leitegadas alojadas em piso plástico vazado têm 2,81 vezes menos probabilidade de serem positivas quando comparado com o alojamento sobre piso de metal, e leitegadas criadas em salas limpas e com mais de um zelador tiveram 2,7 vezes menos chances de serem positivas (SKAMPARDONIS et al., 2012).

Sayd e colaboradores (1996), em estudo prévio realizado no estado de São Paulo, verificaram que 38% das amostras de fezes de leitões lactentes alojados em piso compacto sujo foram positivas para *I. suis*, 20% das amostras de fezes de leitões alojados em piso compacto limpo, foram positivas para *I. suis* e 11,7% das amostras de fezes de leitões alojados em piso vazado auto-

limpante foram positivas para oocistos deste protozoário, demonstrando que houve queda significativa na prevalência de oocistos em pisos vazados, sugerindo que a dificuldade de detecção de oocistos pelo método usual em amostras de fezes não diarreicas com um baixo número de oocistos pode explicar a baixa positividade.

As amostras de fezes dos leitões de 63 dias de idade do G2 e do G4 foram negativas para presença de *C. suis*, uma amostra de fezes do GC e do G3 foram positivas para o *C. suis*, representando 7,14% do total. Resultados similares a estes foram reportados em estudos prévios realizados nos estados de São Paulo e Minas Gerais, onde houve 11,11% de positividade em amostras de fezes de leitões entre 21 e 63 dias de idade (NISHI et al., 2000).

Esses números contrariam os resultados de Leyton e colaboradores (2011) que encontraram positividade para *I. suis* em animais até 40 dias de idade. Em nosso estudo, somente animais não tratados (GC) e tratados ao quinto dia de vida (G3) excretaram oocistos, o que pode sugerir que a medicação profilática com toltrazuril ao terceiro dia de vida dos leitões foi mais eficiente no controle da coccidiose, concordando com outros autores que relataram que 65,6% dos leitões não tratados e 11% dos leitões tratados com toltrazuril ao terceiro dia de vida, excretaram oocistos ao menos uma vez, e que leitegadas que receberam toltrazuril demonstraram 3,7 vezes menos probabilidade de excretar oocistos nas fezes do que leitegadas não tratadas (SKAMPARDONIS et al., 2012).

Outro fator importante para o aparecimento de oocistos nas fezes dos leitões aos 63 dias de idade é o fato de terem sido alojados em instalações de creche com piso compacto cimentado, com lâmina d'água, permitindo maior contaminação fecal e possibilidade de contaminação dos leitões pelo hábito de coprofagia. Segundo Nishi e colaboradores (2000), instalações contendo lâmina d'água são propícias à disseminação de agentes parasitários quando essas são inadequadamente utilizadas.

Para compreender a importância do protocolo correto de aplicação do toltrazuril, é necessário considerar o ciclo do protozoário: no final da esquizogonia, os esquizontes produzem uma primeira geração de merozoítos (telomerozoítos) que emergem das células originais e passam a invadir novas

células sadias para início da fase de reprodução sexuada (BOWMAN et al. 2010). Estes merontes de segunda geração estão presentes quatro dias após a infecção dos leitões e rompem células do ápice das vilosidades diminuindo a capacidade de absorção dos nutrientes e alterando a taxa de crescimento desses animais mesmo sem apresentar diarreia. Segundo Mundt e colaboradores (2006), leitões infectados com altas doses infectantes (5.000 oocistos) do *C. suis* no primeiro dia de vida começaram a excretar oocistos no quinto dia pós infecção e apresentaram diarreia no sexto dia pós infecção. Leitões infectados com baixas doses (100 a 1.500 oocistos) apresentaram diarreia três a quatro dias após o início da excreção de oocistos.

As lesões causadas ao intestino de leitões lactentes pelo *C. suis* incluem atrofia e fusão das vilosidades, hiperplasia das criptas, enterite necrótica com consequente diarreia por má absorção (TAYLOR et al., 2010) e são semelhantes as lesões causadas pelo Rotavírus grupo A, envolvendo atrofia e fusão de vilosidades, apoptose de enterócitos no topo e laterais das vilosidades (MCGAVIN e ZACHARY, 2010). Devido à semelhança das lesões, todos os animais necropsiados no estudo foram submetidos ao diagnóstico diferencial de Rotavirose, o que excluiu a possibilidade de infecção, pois as amostras foram negativas.

Em relação às análises histopatológicas para pesquisa de lesões sugestivas de coccidiose, um animal do G3, aos 12 dias de idade e um animal do GC aos 21 dias de idade apresentaram lesões leves e compatíveis com coccidiose, porém, como não foram encontrados *C. suis* no interior dos enterócitos e na superfície da mucosa, é possível relacionar as alterações nas análises histopatológicas dos animais do GC e G3 com a positividade de oocistos de *C. suis* nas fezes de um animal de cada um destes grupos aos 63 dias de vida e sugerir que pode ter ocorrido um quadro de coccidiose sub-clínica em alguns animais destes dois grupos.

O presente estudo foi conduzido em granja comercial que praticava a administração de amoxicilina intramuscular em 100% dos leitões no segundo dia de vida. Essa aplicação de antimicrobiano pode ter minimizado a exposição dos leitões com coccidiose, principalmente aqueles do GC à agentes secundários bacterianos.

Segundo Krüger e colaboradores (2010), o *C. perfringens* faz parte da microbiota normal do intestino de leitões, porém, a infecção por *I. suis* em leitões recém-nascidos, em conjunto com a exposição ao *C. perfringens* tipo A, poderia causar uma grave enterite. De acordo com Chae e colaboradores (1998), a ruptura das células das vilosidades da mucosa do intestino pelo *I. suis* causa enterite fibrinosa e lesões ao intestino que tornam os leitões mais susceptíveis a outras infecções, como colibacilose e clostridiose. O fato de todos os leitões terem sido medicados com antimicrobiano em dose alta pode ter diminuído o número de leitões com infecções secundárias ao *C. suis*, e isso consequentemente, pode ter ajudado na saúde intestinal, principalmente dos animais do GC e G3.

A pesagem dos animais no desmame permitiu concluir que aqueles do grupo G4 tiveram melhor desempenho até os 21 dias de idade, com diferença significativa no GPD (0,218Kg) e peso (5,55Kg) em relação ao GC (0,193Kg e 5,12Kg), respectivamente. Porém, o G4 não demonstrou diferença significativa em relação ao G2 e G3 no desmame. O peso e GPD maior em animais tratados no desmame era esperado e está de acordo com Maes e colaboradores (2007) que verificaram efeito significativo no GPD, sendo 0,260Kg nos animais tratados com toltrazuril e 0,235Kg nos animais controle. Rypula e colaboradores (2012), realizaram estudo comparando animais tratados com toltrazuril e não tratados em três fazendas, sendo que em duas delas os leitões foram desmamados com 1,412Kg e 0,350Kg mais pesados que os animais do grupo controle.

Apesar da diferença entre os tratamentos em relação ao desempenho zootécnico no desmame, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar o desempenho dos animais até a idade de abate, e não somente até o desmame, porque na suinocultura brasileira, tanto o produtor independente de ciclo completo, quanto as agroindústrias integradoras e cooperativas, estão interessados na melhoria de desempenho dos animais ao longo de todo o ciclo, sendo que qualquer enfermidade que possa reduzir o peso dos animais ao abate poderá causar prejuízo financeiro imediato.

Na pesagem aos 132 dias de vida, ou seja, no dia em que os animais foram levados para abate, o G2 e G4 demonstraram diferença significativa em

relação ao GC, mas não houve diferença significativa entre o G2 e o G4. Os animais do G2 e G4 apresentaram peso de 98,05Kg e 95,74Kg e GPD do 3° ao 132° dia de 0,747Kg e 0,729Kg, respectivamente. Os animais do GC apresentaram peso médio de 90,78Kg e GPD de 0,691 Kg. Estes números eram esperados e estão de acordo com Rypula e colaboradores (2012), que trataram leitões aos quatro dias de vida e acompanharam o desempenho dos animais em três fazendas até o abate. Em uma das granjas, no momento da venda dos animais para abate, os animais tratados eram 5,4 Kg mais pesados do que os animais controle. Na outra, os animais tratados eram 3,0Kg mais pesados no momento da venda. O trabalho supracitado foi conduzido na Polônia e os grupos controle e tratado não foram pesados nos mesmos dias, havendo diferença de idade entre os grupos. No Brasil, até o momento não foram encontradas investigações que avaliassem o desempenho dos animais até a idade de abate.

Os valores de peso e GPD dos animais do G2 e G4 aos 132 dias foram melhores em relação aos suínos do GC, possivelmente devido ao uso de toltrazuril ao terceiro dia de vida nos dois grupos. O G2 e G4 também foram melhores em peso e GPD em relação ao G3, porém, sem diferença significativa, possivelmente pelo fato da granja ter boas condições de higiene e não apresentar o quadro de coccidiose clínica no rebanho.

As alterações encontradas no exame histopatológico de leitões do GC e do G3 relacionadas com a presença de oocistos de *C. suis* nas fezes dos leitões aos 63 dias de vida, indicaram que houve um quadro de coccidiose subclínica que resultou na queda de desempenho (peso e GPD) dos animais do GC e G3 e que o tratamento preventivo com toltrazuril ao terceiro dia de vida foi mais efetivo no controle da doença clínica e subclínica.

A coccidiose é uma importante endoparasitose em leitões jovens que causa grandes perdas econômicas na produção de suínos, porém com baixa mortalidade (SAYD E URARA, 1996), sendo que a importância econômica da coccidiose se deve principalmente às consequências negativas sobre o desempenho zootécnico dos animais e o surgimento de refugos (SOBESTIANSKY et al., 2012). De qualquer forma, não houve mortalidade

significativa de leitões submetidos aos diferentes protocolos durante o período do estudo.

Atualmente, o valor investido para o tratamento de um leitão com 1mL de toltrazuril é de aproximadamente R\$0,40. O preço pago por Kg vivo do suíno para o abate no mês janeiro de 2017 no estado de São Paulo era de R\$4,21. Considerando que os animais do G2 pesaram 7,27Kg a mais do que os animais do GC aos 132 dias de idade, um animal do G2 pode ser vendido por R\$30,60 a mais do que um animal do GC que não recebeu medicação preventiva para coccidiose. Se descontarmos o valor de R\$0,40 por animal, referente ao custo da metafilaxia com toltrazuril, a diferença seria de R\$30,20 por animal abatido. No caso de um produtor com 1.000 matrizes em ciclo completo, que entregue 27 suínos por fêmea/ano para abate, o acréscimo de faturamento seria de R\$815.400,00 no ano.

Os suínos do G2 foram abatidos 3,68Kg mais pesados que os animais do G3. Utilizando o mesmo raciocínio do cálculo anterior, cada animal do G2 seria vendido por R\$15,49 a mais do que um animal do G3. Para o mesmo suinocultor que abate 27.000 animais/ano, o acréscimo de faturamento seria de R\$418.230,00.

7 Conclusão

A administração de 1mL de toltrazuril a 5% ao terceiro dia de vida dos leitões é o protocolo mais adequado para a prevenção da coccidiose em condições de campo.

A metafilaxia com toltrazuril é efetiva no controle do impacto da infecção por *C. suis*, aumentando o peso dos leitões no desmame e aos 132 dias de idade e melhorando os indicadores econômicos da granja.

8 Perspectivas

Devido ao grande impacto nos índices de desempenho zootécnicos encontrados no presente estudo, sugere-se que novas pesquisas sejam realizadas em granja com maior desafio para *C. suis*, considerando parâmetros como consumo de ração e conversão alimentar ao longo de todo o período, gastos com medicações e a posterior análise completa do impacto econômico dessa enfermidade na produção de suínos.

Outra possibilidade de estudar o impacto da coccidiose na resposta imune dos leitões, é comparar o perfil de proteínas da reação inflamatória encontradas em animais saudáveis, com aspecto de fezes normal, sem excreção de oocistos de *C. suis* e o perfil das mesmas proteínas em animais apresentando diarreia ou fezes amolecidas e excreção de oocistos do protozoário.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS²

ADAMS, H. R.; *Farmacologia e Terapêutica em Medicina Veterinária*. 8. Ed. Guanabara-Koogan, 2010. p. 840.

BARCELLOS, D. E.; RODRIGUES, N. C.; OLIVEIRA, S. J.; BOROWISKI, S. M. Ocorrência da coccidiose como causa da diarreia em leitões lactentes no Rio Grande do Sul. *Arquivo Veterinário da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul*. v. 12, p. 15-20, 1984.

BARROS, C. S. L.; *Guia da Técnica de Necropsia dos Mamíferos Domésticos*. Santa Maria - UFSM: s. n., 1988. 47p.

BARTA, J. R.; SCHRENZEL, M. D.; CARRENO, R.; RIDEOUT, B. A. The genus *Atoxoplasma* (Garnham 1950) as a junior objective synonym of the genus *Isospora* (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of *Cystoisospora* (Frenkel 1977) as the correct genus for *Isospora* species infecting mammals. *Journal of Parasitology*. v. 91, n. 3, p. 726-727, 2005.

BOWMAN, D. *Parasitologia Veterinária de Georgis*. Elsevier Brasil, 2010. p. 89-95.

CARRENO, R. A.; SCHNITZLER, B. E.; JEFFRIES, A. C.; TENTER, A. M.; JOHNSON, A. M.; BARTA, J. R. Phylogenetic analysis of coccidian based on 18S rDNA sequence comparison indicates that *Isospora* is most closely related to *Toxoplasma* and *Neospora*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. v. 45, p. 184-188, 1998.

CHAE, C.; KWON, D.; KIM, O. Diarrhoea in nursing piglets associated with coccidiosis: prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms. *Veterinary Record*. v. 143, n. 15, p. 417-420, 1998.

² Referências elaboradas de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT (2002).

COLLIER, C. T.; HOFACRE, C. L.; PAYNE, A. M.; ANDERSON, D. B.; KAISER, P.; MACKIE, R. I.; GASKINS, H. R. Coccidia-induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting *Clostridium perfringens* growth. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. v. 122, p. 104-115, 2008.

CRABB, J. H. Antibody-based immunotherapy of cryptosporidiosis. *Advances in Parasitology*. v. 40, p. 121-149, 1998.

DRIESEN, S. J.; CARLAND, P. G.; FAHY, V. A. Studies on pre-weaning piglet diarrhea. *Australian Veterinarian Journal*. v. 70, p. 259-263, 1993.

DRIESEN, S. J.; FAHY, V. A.; CARLAND, P. G. The use of toltrazuril for the prevention of coccidiosis in piglets before weaning. *Australian Veterinary Journal*. v. 72, n. 4, p. 139-141, 1995.

FRENKEL, J. K. *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidian. *Journal of Parasitology*. v. 63, p. 611-628, 1977.

FRENKEL, J. K.; SILVA, M. B. O.; SALDANHA, J. C.; SILVA-VERGARA, M. L.; CORREIA, D.; BARATA, C. H.; SILVA, E. L.; RAMIREZ, L. E.; PRATA, A. Presença extra-intestinal de cistos unizóicos de *Isospora belli* em paciente com SIDA. Relato de caso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 36, p. 409-412, 2003.

FRENKEL, J. K.; SMITH, D. D. Determination of the genera of cyst-forming coccidian. *Parasitology Research*. v. 91, p. 384-389, 2003.

GELBERG, H. B.; HALL, W. F.; WOODE, G. N.; BASGALL, E. J.; SCHERBA, G. Brief communications and case reports multinucleate enterocytes associate with experimental Group A Porcine Rotavirus infection. *Veterinary Pathology*. v. 27, p. 453-454, 1990.

HABERKORN, A.; MUNDT, H. C.; Untersuchungen an einem vielseitig einsetzbaren kokzidiosetherapeutikum. *Prakt Tierarzt*, v. 4, p. 46-51, 1988.

JOACHIM, A.; SCHWARZ, L.; HINNEY, B.; RUTTKOWSKI, B.; VOGL, C.; MUNDT, H. C. Which factors influence the outcome of experimental infection with *Cystoisospora suis*. *Parasitology Research*. v. 113, p. 1863-1873, 2014.

KOUDELA, B.; VODETRCILOVA, M.; KLIMES, B.; VLADIK, P.; VITOVEC, J. *Veterinarian Bull.* 1992, v. 62, 1231p.

KREINER, T.; WORLICZEK, H. L.; TCHY, A.; JOACHIM, A. Influence of toltrazuril treatment on parasitological parameters and health performance of piglets in the field – An Austrian experience. *Veterinary Parasitology*. v. 183, p. 14-20, 2011.

KRÜGER, M.; SCHROEDL, W.; KRÜGER, M.; SCHWARZ, S.; MENGEL, H.; DAUGSCHIES, A.; SWIDSINSKI, A.; MUNDT, H. C.; WESTPHAL, B. *Prakt Tierarzt*. v. 91, p. 774-784, 2010.

LANGKJAER, L.; ROEPSTORFF, A. Survival of *Isospora suis* oocysts under controlled environmental conditions. *Veterinary Parasitology*. v. 152, p. 186-193, 2008.

LEYTON, A. A.; FRIENDSHIP, R.; DEWEY, C. E.; TODD, C.; PEREGRINE, A. S. *Isospora suis* infection and its association with postweaning performance on three southwestern Ontario swine farms. *Journal of Swine Health and Production*. v. 19, n. 2, p. 94-99, 2011.

LEYTON, A.; WEBSTER, E.; FRIENDSHIP, R.; DEWEY, C.; VILAÇA, K.; PEREGRINE, A. An observational study on the prevalence and impact of *Isospora suis* in suckling piglets in southwestern Ontario, and risk factors for shedding oocysts. *Can Vet J*. v. 52, p. 184-188, 2011.

LIMA, J. D.; MARTINS, N. E.; OLIVEIRA, A. R. S.; BORETTI, L. P. Coccidiose em leitões lactentes de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 35, n. 1, p. 33-40, 1983.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; BLAGBURN, B. L.; Biology of *Isospora* spp form humans, nonhuman primates, and domestic animals. *Clinical Microbiology Reviews*. v. 10, p. 19-34, 1997.

LINDSAY, D. S.; ERNST, J.V.; CURRENT, W. L.; STUART, B. P.; STEWART, T. B. Prevalence of oocysts of *Isospora suis* and *Eimeria* spp. From sows on farms with and without a history of neonatal coccidiosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v. 185, n. 4, p. 419-421, 1984.

LINHARES, G. F. C.; SOBESTIANSKY, J.; LINHARES, D.; BARCELLOS, D.; MORENO, A. M.; MATOS, M. P. C. *Doenças dos Suínos*. 2 Ed. Cãnone Editorial, 2012. p. 435-466.

LUDTKE, C. B.; CIOCCA, J. R. P.; DANDIN, T.; BARBALHO, P. C.; VILELA, J. A.; DALLA COSTA, O. A. *Abate Humanitário de Suínos*. WSPA Brasil. 2010, 131p.

MAES, D.; VYT, P.; RABAES, P.; GEVAERT, D. Effects of toltrazuril on the growth of piglets in herds without clinical isosporosis. *The Veterinary Journal*. v. 173, p. 197-199, 2007.

MADSEN, P.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, K. *Proccedings of International Pig Veterinarians Society*. 1992, p. 366.

MARTINS, N. E.; LIMA, J. D. Prevalência de coccídios em leitões de Minas Gerais. *Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*. v. 18, p. 187, 1982.

MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5. Ed. Elsevier, 2011, 1249p.

MCORIST, A.; BLUNT, H. EL-SHEIKHA, A.; MORILLO-ALUJAS, M.; OCAK, and A. DENIZ. Evaluation of efficacy of oral toltrazuril for the improvement of post-weaning gut health in pigs. *The Pig Journal*. v. 63, p. 73-39, 2010.

MENGEL, H.; KRUGER, M.; KRUGER, M. U.; WESTPHAL, B.; SWIDSINSKI, A.; SCHWARZ, S. MUNDT, H. C.; DITTMAR, K. DAUGSCHIES, A. Necrotic enteritis due to simultaneous infection with *Isospora suis* and clostridia in newborn piglets and its prevention by early treatment with toltrazuril. *Parasitology Research*. v. 110, p. 1347-1355, 2012.

MEYER, C.; JOACHIM, A.; DAUGSCHIES, A. Occurrence of *Isospora suis* in larger piglet production units and on specialized piglet rearing farms. *Veterinary Parasitology*. v. 82, p. 277-284, 1999.

MUNDT, H. C.; COHNEN, A.; DAUGSCHIES, A.; JOACHIM, A.; PROSL, H.; SCHMÄSCHKE, R.; WESTPHAL, B. Occurrence of *Isospora suis* in Germany, Switzerland and Austria. *Journal of Veterinary Medicine*. v. 52, p. 93-97, 2005.

MUNDT, H. C.; JOACHIM, A.; BECKA, M.; DAUGSCHIES, A. *Isospora suis*: an experimental model for mammalian intestinal coccidiosis. *Parasitology Research*. v. 98, p. 167-175, 2006.

MUNDT, H. C.; JOACHIM, A.; DAUGSCHIES, A.; ZIMERMANN, M. Population biology studies on *Isospora suis* in piglets. *Parasitology Research*. v. 90, p. 158-159, 2003.

MUNDT, H.C.; HABERKORN, A. *The International Pig Veterinary Society*. 1990, 325p.

NIESTRATH, M.; TAKLA, M.; JOACHIM, A.; DAUSGSCHIES, A. The role of *Isospora suis* as a pathogen in conventional piglet production in Germany. *Journal of Veterinary Medicine*. v. 49, p. 176-180, 2002.

NISHI, S. M.; GENNARI, S. M.; LISBOA, M. N. T. S.; SILVESTRE, A.; CAPRONI, L. Jr.; HUMEHARA, O. Parasitas intestinais em suínos confinados nos estados de São Paulo e Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 67, n. 2, p. 199-203, 2000.

PERMIN, A.; YELIFARI, L.; STEENHARD, N.; HANSEN, N. P.; NANSSEN, P. Parasites in cross-bred pigs in the Upper East Region of Ghana. *Veterinary Parasitology*. v. 87, n. 1, p. 63-71, 1999.

REBOUÇAS, M. M.; OLIVEIRA, SUELI M.; FILHA, E. S.; SANTOS, S. M.; AMARAL, V. *Isospora suis* Biester, 1934 em suínos no estado de São Paulo – Brasil (Apicomplexa Eimeriidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 1, n. 2, p. 137 – 140, 1992.

ROSTAGNO, H. S.; *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 3 Ed. Editora UFV/DZO, 2011, 235p.

RYPULA, M.; POROWSKY, M.; KABA, J.; GORCZYKOWSKI, M.; DENIZ, A. Effect of Isosporiasis prevention with toltrazuril on long-term pig performance. *The Scientific World Journal*. v. 2012, 4p.

SAMARASINGHE, B.; JOHNSON, J.; RYAN, U. Phylogenetic analysis of *Cystoisospora* species at the rRNA ITS1 locus and development of a PCR-RFLP assay. *Experimental Parasitology*. v. 118, p. 592-595, 2008.

SANTOS, N. M.; LOPES, C. W. G. Morfologia dos oocistos das espécies da família Eimeriidae Minchin, 1903 (Protozoa: Apicomplexa) parasitos de suínos. *Arquivo Fluminense de Medicina Veterinária*. v. 3, n. 2, p. 41-44, 1988.

SARTOR, A. A.; BELLATO, V. SOUZA, A. P.; CANTELLI, C. R. Prevalência das espécies de *Eimeria* Schneider, 1875 e *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) parasitas de suínos do município de Videira, SC, Brasil. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. V. 6, n.1, p. 38-43, 2007.

SAYD, M. O.; URARA, K. Prevalence of porcine neonatal isosporosis in Brazil. *Veterinary Parasitology*. v. 67, p. 169-174, 1996.

SCHWARZ, L.; JOACHIM, A.; WORLICZEK, H. L. Transfer of *Cystoisospora suis*-specific colostral antibodies and their correlation with the course of neonatal porcine cystoisosporosis. *Veterinary Parasitology*. v. 197, p. 487-497, 2013.

SCHWARZ, L.; WORLICZEK, H. L.; WINKLER, M.; JOACHIM, A. Superinfection of sows with *Cystoisospora suis* ante partum leads to a milder course of *Cystoisospora* in suckling piglets. *Veterinary Parasitology*. v. 204, p. 158-168, 2014.

SILVA, N. R. S.; *Prevalência de Isospora suis e de espécies de Eimeria em suínos na Região de Porto Alegre, RS, Brasil. Arquivos da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS*. v. 21, p. 27-31, 1993.

SKAMPARDONIS, V.; SOTIRAKI, S.; KOSTOULAS, P.; LEONTIDES, L. Effect of toltrazuril treatment in nursing piglets naturally infected with *Isospora suis*. *Veterinary Parasitology*. v. 172, p. 46-52, 2010.

SKAMPARDONIS, V.; SOTIRAKI, S.; KOSTOULAS, P.; LEONTIDES, L. Factors associated with the occurrence and level of *Isospora suis* oocyst excretion in nursing piglets of Greek farrow-to-finish herds. *Veterinary Research*. v. 8, 2012, 9p.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. *Doenças dos Suínos*. 2 Ed. Cànone Editorial, 2012. 959p.

SOTIRAKI, S.; ROEPSTORFF, A.; NIELSEN, J. P.; MADDOX-HYTTEL, C.; ENOE, C.; BOES, J.; MURREL, K. D.; THAMSBORG, S. M.; Population

dynamics and intra-litter transmission patterns of *Isospora suis* in suckling under on-farm conditions. *Parasitology*. v. 135, p. 395-405, 2008.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 3. Ed. Guanabara-Koogan, 2002. p. 495-496.

STUART, B. P.; ALLEN, C. B.; BEDELL, D. M. Coccidiosis in swine – dose and age response to *Isospora suis*. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. v. 46, p. 317-320, 1982.

TAYLOR, D.J. *Pig Diseases*. 9. Ed. Weyman, 2013. 430p.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. *Parasitologia Veterinária*. 3. Ed. Guanabara-Koogan, 2010. p. 275-278.

TORRES, A. Prevalence study of *Isospora suis* in Europe. *Proceedings of the 18th IPVS Congress*. 2004.

WORLICZEK, H. L.; MUNDT, H. C.; RUTTKOWSKI, B.; JOACHIM, A. Age, not infection dose, determines the outcome of *Isospora suis* infections in suckling piglets. *Parasitology Research*. v. 105, p. 157-162, 2009.

WORLICZEK, H. L. RUTTKOWSKI, B.; SCHWARZ, L.; WITTER, L.; TSCHULENK, W.; JOACHIM, A. *Isospora suis* in an epithelial cell culture system – an in vitro model for sexual development in coccidian. *Public Library of Science One* 8. E69797, 2013.

ZHANG, W. J.; XU, L.H.; LIU, Y. Y.; XIONG, B. Q.; ZHANG, Q. L.; LI, F. C.; SONG, Q. Q.; KHAN, M. K.; ZHOU, Y. Q.; HU, M.; ZHAO, J. Prevalence of coccidian infection in suckling piglets in China. *Veterinary Parasitology*. v. 190, p. 1-2, 2012.

ANEXOS

ATESTADO

Atesto para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa "**Revisão de protocolos de utilização de Toltrazuril para o controle da coccidiose em leitões**" Protocolo nº 178/2015 - CEUA, da Professora Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt, a ser conduzido por **Giovani Marco Stingelin**, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta Faculdade.

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, em 11 de dezembro de 2015.



Profª.Ass.Drª. Ibiara Correia de Lima Almeida Paz
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu



Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to

Pesquisa Veterinária Brasileira

Manuscript ID

PVB-5267

Title

Revisão de Protocolos de utilização de Toltrazuril para Controle da Coccidiose em Leitões Naturalmente Infectados

Authors

Stingelin, Giovani
de Cezaro, Marcela
Oliveira, Raphaela
Aristizabal, Viviana
Cooke, Reinaldo
M.S. Schmidt, Elizabeth

Date Submitted

07-Feb-2017

[Author Dashboard](#)

CAPÍTULO 1

Nesse capítulo consta o artigo “*Protocolos de utilização de toltrazuril para o controle da coccidiose em leitões naturalmente infectados*”, que foi submetido para publicação no periódico: Pesquisa Veterinária Brasileira. Normas de publicação no anexo.

Protocolos de Utilização de Toltrazuril para Controle da Coccidiose em Leitões Naturalmente Infectados

Giovani M. Stingelin¹, Marcela C. de Cezaro¹, Raphaela M. Oliveira¹, Viviana H. V. Aristizabal¹, Reinaldo F. Cooke², Elizabeth M. S Schmidt¹

ABSTRACT – Stingelin G. M., Cesaro M. C., Oliveira R. M., Aristizabal V. H., Cooke R. F., Schmidt E. M. S. **Toltrazuril Protocols for Controlling Coccidiosis in Naturally Infected Piglets.** Coccidiosis is one of the most important diseases affecting suckling piglets. It causes diarrhea, dehydration, weight loss, low performance and significant economic losses. Toltrazuril administration is used worldwide for coccidiosis prevention in piglets, however, no research was found on the correct prophylaxis of the disease in field conditions in Brazil. Thus, this study is aimed at evaluating different protocols of toltrazuril administration (FARMACOX® 5%, oral suspension, Farmabase Animal Health, SP, Brazil). These protocols were used for specific conditions of production in the state of São Paulo for controlling coccidiosis under field conditions. For that, 495 piglets were randomly allocated. The animals were divided into four different groups: 125 piglets (control group) which did not receive toltrazuril; 127 piglets that received toltrazuril on the third day of life (group two); 116 piglets which received toltrazuril on the fifth day (group three), and 127 piglets that received two dosages of toltrazuril when the animals were 3 and 7 days-old (group four). Excretion of oocysts was evaluated by coproparasitological analysis when the animals were 5, 7, 12, 21 and 63 days-old. They were individually weighed at 3, 21 and 132 days-old to evaluate the growth performance between treatments. Data was analyzed using the MIXED procedure of SAS, using the third day weight as an independent covariate. Results were separated with PDIFF adjusted by Tukey ($P \leq 0.05$). Groups 2 and 4 did not excrete *C. suis*. One animal from the control group and group three (63 days-old) excreted *C. suis* oocysts. The control group demonstrated lower weight at weaning when compared to group 4. When the piglets from the control group were 132 days-old the body weight was significant lower when compared to groups 2 and 4. The control group also demonstrated significant lower average daily weight gain (ADG) then group 4 at weaning and lower significant ADG at 132 days-old then groups 2 and 4. These results suggested that the administration of toltrazuril by the third day of life is the recommended protocol to control coccidiosis and to improve the weight and ADG of piglets.

Index Terms: prophylaxis, *Cystoisospora suis*, oocysts, diarrhea, daily weight gain.

RESUMO - [Protocolos de utilização de Toltrazuril para Controle da Coccidiose em Leitões Naturalmente Infectados]. A coccidiose é uma das doenças mais importantes que acometem leitões lactentes no Brasil. A administração de toltrazuril é usada no mundo todo para a prevenção de coccidiose em leitões, entretanto, não foram encontradas pesquisas sobre a correta profilaxia da doença no Brasil. Sendo assim, este estudo tem como objetivo investigar diferentes protocolos de administração de toltrazuril (FARMACOX® 5%, suspensão oral, Farmabase Saúde Animal, SP, Brasil) sob as condições de campo no estado de São Paulo. Para isso, 495 leitões foram aleatoriamente divididos em quatro diferentes grupos: 125 leitões (grupo controle) que não receberam toltrazuril; 127 leitões que receberam toltrazuril no terceiro dia de vida (grupo dois); 116 leitões que receberam toltrazuril no quinto dia de vida (grupo três), e 127 leitões que receberam duas doses de toltrazuril, uma com três e outra com sete dias de idade (grupo quatro). A excreção de oocistos foi avaliada por análises coproparasitológicas quando os animais tinham cinco, sete, 12, 21 e 63 dias de idade e as pesagens individuais foram realizadas aos três, 21 e 132 dias de idade. Os dados foram analisados usando o peso ao terceiro dia como uma covariável independente. Os resultados foram separados por médias e ajustados por Tukey ($p \leq 0,05$). Os animais dos grupos dois e quatro não excretaram *Cystoisospora suis*, mas um animal do grupo controle e um do grupo três (aos 63 dias de idade) excretaram oocistos de *C. suis*. Os leitões do grupo controle apresentaram menor peso ao desmame quando comparado com os do grupo quatro. Quando os leitões do grupo controle

¹ Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica (FMVZ), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), câmpus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, 18.618-970 Botucatu, SP, Brasil. E-mail: giovani_44@hotmail.com marceladecezaro@hotmail.com raphaelamoreira7@gmail.com vallaristy@gmail.com bethschmidt@fmvz.unesp.br

² Eastern Oregon Agricultural Research Center, Oregon State University, 67826-A Hwy 205, Burns, OR 97720, USA.

*Corresponding author: reinaldo.cooke@oregonstate.edu

tinham 132 dias de idade, o peso corporal foi significativamente menor quando comparado com os grupos dois e quatro. Os animais do grupo controle tiveram menor ganho de peso diário (GPD) que os do grupo quatro no período de três a 21 dias e menor GPD dos três aos 132 dias de idade que os animais dos grupos dois e quatro. Estes resultados sugeriram que a administração de toltrazuril ao terceiro dia de vida é o protocolo recomendado para controle da coccidiose e para melhoria do peso e GPD dos leitões.

Palavras chave: profilaxia, *Cystoisospora suis*, oocistos, diarreia, ganho de peso diário.

INTRODUÇÃO - A coccidiose ou isosporose suína é uma das principais doenças que acometem leitões na fase de maternidade e é endêmica em todo o mundo (TAYLOR 2013). No Brasil há trabalhos demonstrando a alta prevalência nas criações de suínos (MARTINS e LIMA 1982, LIMA et al. 1983, BARCELLOS et al. 1984, SANTOS et al. 1988, REBOUÇAS et al. 1992, SILVA et al. 1993, SAYD e URARA 1996, NISHI et al. 2000, SARTOR et al. 2007). A enfermidade caracteriza-se por diarreia pastosa a aquosa, amarelada e fétida que acomete os leitões principalmente na segunda e terceira semanas de vida. Os índices de mortalidade são baixos, porém a morbidade é alta e a coccidiose causa redução acentuada no ganho de peso diário dos leitões, interferindo negativamente no desempenho dos animais ao longo de todo ciclo produtivo, ocasionando perdas econômicas relevantes na suinocultura (SOBESTIANSKY et al. 2012).

O agente causador da coccidiose é o *Cystoisospora suis*, um protozoário que taxonomicamente pertencia à família *Eimeriidae*, porém, recentemente houve redescrição morfológica e filogenética, sugerindo que seja classificado junto com os demais coccídios formadores de cisto da família *Sarcocystidae* (FRENKEL e SMITH 2003). Embora tenham sido descritas dez espécies de coccídios em suínos, entre eles, oito espécies de *Eimeria* (*E. deblickei*, *E. polita*, *E. scabra*, *E. spinosa*, *E. porci*, *E. neodeblickei*, *E. perminuta* e *E. suis*), sua importância não está clara, e aparentemente, o *C. suis* é o único envolvido nos casos de diarreia em leitões (TAYLOR 2010, LINDSAY et al. 2012).

Atualmente, de acordo com pesquisas internacionais, a aplicação de toltrazuril nos leitões para profilaxia da coccidiose deve ser feita no terceiro dia de vida, na dose de 20 miligramas (mg) por quilograma (kg) de peso vivo (MAES et al. 2007, SKAMPARDONIS et al. 2010, LEYTON et al. 2011b). No entanto, no Brasil, esse manejo não é corretamente seguido, pois as granjas brasileiras realizam diferentes protocolos de profilaxia que muitas vezes não seguem a recomendação da aplicação do fármaco no terceiro dia de vida dos animais.

Pelo fato de não existir até o momento pesquisas para avaliar a profilaxia desta parasitose no Brasil, o presente trabalho tem como objetivo investigar e determinar um protocolo de aplicação de toltrazuril a 5%, via oral, adaptado às condições brasileiras de produção, que possa apresentar melhor eficiência no controle da coccidiose nos leitões em condições de produção industrial.

MATERIAIS E MÉTODOS - O experimento foi realizado em uma granja comercial no município de Brotas (Latitude Sul 22° 17' 03", Longitude Oeste 48° 07' 36"), estado de São Paulo, com histórico de diarreia em leitões lactentes e com baixo peso ao desmame.

Local de estudo

A granja possuía aproximadamente 2.000 matrizes da genética PIC¹ com desmame semanal de leitões. O piso era de material plástico vazado nas laterais da gaiola, local onde os leitões se protegiam e se posicionavam para mamar. O piso sob a gaiola e na sua parte posterior era de ferro galvanizado vazado. As gaiolas eram suspensas do chão com vala para deposição e condução dos dejetos. Os escamoteadores (abrigo dos leitões) eram anexos à unidade de parição com paredes e pisos construídos em madeira e possuíam lâmpadas infravermelhas para aquecimento.

As salas de maternidade possuíam climatização do ambiente com o sistema "Ductofan" que corresponde a dutos de condução de ar refrigerado posicionados na direção da região cervical dorsal das porcas. O sistema era acionado quando a temperatura da sala ultrapassava os 28°C. O teto era forrado com lona plástica e as paredes laterais possuíam cortinas móveis que podiam ser abertas para ventilação natural quando a temperatura interna estava elevada.

Dentre os procedimentos e manejos realizados pela granja estava o acompanhamento do nascimento dos leitões e o toque vaginal nas matrizes para auxílio ao nascimento de leitões em partos distócicos. Realizava-se logo após o nascimento a amarração de umbigo com barbante embebido em iodo (IODIGEN®, Sanphar Saúde Animal, Campinas –SP, Brasil), no 2º dia de vida a aplicação intramuscular de amoxicilina na dose de 50 mg/kg (VETRIMOXIN®, Ceva Saúde Animal, Paulínia-SP, Brasil), desgaste de dentes no 3º dia de vida, aplicação de ferro

¹Genética comercial PIC: matrizes híbridas (50% Landrace e 50% Large White).

dextrano intramuscular (GLEPTOFERRIL® 20%, Eurofarma, São Paulo-SP, Brasil), na dose de 1 mL/leitão e no 7º dia de vida a castração cirúrgica dos leitões.

O período de lactação dos leitões era de 21 dias com a adoção do sistema de manejo “todos dentro-todos fora”, ou seja, após o desmame de todas as porcas alojadas na sala de maternidade, ocorria a higienização da sala com água e detergente e, posteriormente à secagem, realizava-se a desinfecção com desinfetante a base de glutaraldeído e amônia quaternária (FARMASEPT PLUS®, Farmabase Saúde Animal, Jaguariúna – SP, Brasil). A desinfecção era realizada pela pulverização da mistura de um mL do desinfetante para cada litro de água. Utilizava-se um litro da solução de desinfetante para cada m² de sala, atentando-se para umedecer todo o ambiente, incluindo equipamentos, escamoteadores, gaiolas parideiras e canaletas.

A granja era de ciclo completo com desmame dos leitões aos 21 dias de idade. Os animais eram transferidos para o setor de creche, onde eram alojados em baias de 25 animais, permanecendo até os 63 dias de vida ou em torno de 24 kg de peso vivo. Após o período de creche, havia nova transferência dos leitões para as instalações de recria e terminação, que alojavam 2.400 suínos, com 60 animais por baia. Na unidade de recria e terminação, os animais permaneciam por aproximadamente 80 dias, ou seja, até o abate com peso vivo aproximado de 100 kg.

A granja tinha excelente perfil sanitário e o rebanho era considerado livre de *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Período pré-experimental

Para a determinação do melhor protocolo de controle da coccidiose e avaliação do desempenho dos leitões ao longo do período produtivo, foram utilizados quatro grupos de 10 matrizes em gestação da genética comercial PIC. Cada grupo de matrizes foi composto seguindo obrigatoriamente a ordem de três matrizes de 1º parto, três matrizes de 2º parto, duas matrizes de 3º parto e duas matrizes de 4º ou 5º parto, buscando-se evitar que algum dos grupos fosse prejudicado pela maior presença de porcas de 1º parto ou beneficiado com a maior presença de porcas de 3º parto.

Todas as matrizes foram alojadas na mesma sala, sendo as porcas do mesmo grupo alojadas lado a lado em gaiolas vizinhas, separadas do grupo seguinte por uma gaiola vazia.

Período Experimental

A quantidade de ração fornecida por fêmea seguiu a fórmula de dois kg mais 500 gramas por leitão nascido, de modo que uma porca que pariu 12 leitões recebeu oito kg de ração por dia, divididos em dois fornecimentos, um no período da manhã e outro no período da tarde. O acesso à água era livre às matrizes.

Os leitões eram alimentados exclusivamente com leite materno e a água era fornecida em mini bebedouros chupeta, posicionados na baia, até os oito dias de vida. A partir do 8º dia, além do leite da porca, os leitões recebiam a primeira ração em comedouros específicos posicionados no piso da gaiola parideira. A ração dos leitões e das matrizes atendia as exigências nutricionais de acordo com Rostagno et al. (2011).

Formação dos Grupos e Protocolo de administração de toltrazuril

Os leitões foram separados em quatro grupos. Cada grupo foi composto por 10 leitegadas e cada leitegada alojada em uma gaiola parideira. Todos os leitões dos diferentes grupos foram identificados com brincos numerados.

O G1 composto por 125 leitões, não recebeu a administração do fármaco anticoccidiano toltrazuril. O G2, composto por 127 leitões, recebeu um mL de toltrazuril a 5% por via oral (FARMACOX®, Farmabase Saúde Animal, Jaguariúna- SP, Brasil) no 3º dia de vida, equivalente a 20 mg/kg de peso vivo da molécula para um animal de 2,5 kg. O G3, composto por 116 leitões, recebeu um mL de toltrazuril a 5% por via oral no 5º dia de vida. O G4, composto por 127 leitões, recebeu duas aplicações de um mL de toltrazuril a 5%, quando os animais tinham três e sete dias de idade (Tabela 1).

Todos os animais dos diferentes grupos do experimento foram pesados individualmente no 3º dia de vida, utilizando Balança Digital Plástica Redonda (Kamer Indústrias de Balanças LTDA, São Paulo, SP). No 21º dia (data do desmame) e no 132º dias de vida, uma nova pesagem individual foi realizada utilizando a Balança MGR-4000 Júnior (Toledo do Brasil, Indústrias de Balanças LTDA, São Bernardo do Campo, SP), para avaliação do ganho de peso e do peso médio de cada grupo nas fases de três a 21, 21 a 132 e de três a 132 dias de idade.

Amostra de fezes e análises laboratoriais

As análises coproparasitológicas foram realizadas no Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP-Botucatu-SP.

As amostras individuais de fezes de leitões foram coletadas nas idades de cinco, sete, 12, 21 e 63 dias diretamente da ampola retal e analisadas pela técnica de centrífugo-flutuação de Faust e colaboradores modificada para pesquisa de oocistos de protozoários (FAUST et al., 1938).

Nos leitões de cinco dias de idade, devido à dificuldade de se obter a quantidade de fezes adequada, foram coletados no mínimo dois gramas de fezes de dois animais de cada grupo, diretamente da ampola retal e um *pool* de fezes de cada tratamento para pesquisa de oocistos de *Cystoisospora suis*.

No sétimo, 12º, 21º e 63º dia de idade dos animais, foram coletados no mínimo dois gramas de fezes, de seis animais de cada grupo, diretamente da ampola retal, e dois *pools* de fezes de cada tratamento para pesquisa de oocistos de *C. suis*.

Os *pools* de amostras de fezes foram analisados através do método de Gordon e Whitlock modificada (GORDON et al., 1939) para a contagem de oocistos por grama de fezes (OPG).

Exames clínicos e exames histopatológicos

Aos sete, 12, 21 e 63 dias de vida dos leitões, foram realizadas observações clínicas de cada grupo e indivíduo, além da avaliação da condição corporal.

Em cada um dos tratamentos que apresentou animais com quadro clínico diarreico sugestivo de coccidiose, realizou-se a eutanásia e posteriormente a necropsia. As eutanásias seguiram o método de insensibilização por eletroanestesia e morte por sangria da artéria carótida (LUDTKE et al., 2010) e as necropsias foram feitas pela técnica adaptada para suínos (BARROS, 1988), com o objetivo de coletar porções do intestino delgado para realização de exames histopatológicos.

Foram realizadas 13 necropsias, sendo de um animal do G4 com sete dias de idade e de um animal de cada grupo aos 12, 21 e 63 dias de vida. Na necropsia foram coletados fragmentos de dois a três centímetros de duodeno e jejuno e acondicionados individualmente em frascos contendo formaldeído a 10%.

As análises histopatológicas foram realizadas no laboratório do Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal de Concórdia-SC (CEDISA), pela técnica de inclusão do tecido em parafina e coloração em hematoxilina e eosina. Para todas as amostras de duodeno e jejuno optou-se também por realizar imuno-histoquímica para pesquisa de Rotavírus tipo A, pela semelhança das lesões histopatológicas da rotavirose com a coccidiose. A técnica utilizada foi a imuno-histoquímica de Gelberg Modificado (GELBERG et al., 1990) também realizada no laboratório CEDISA.

Análise estatística

Os dados foram analisados com o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC, EUA). Cada animal foi considerado uma unidade experimental. O modelo fixo contém os efeitos de tratamento, além de peso inicial como covariável independente. Os resultados estão apresentados como médias do quadrado mínimo e separados com PDIFF ajustado por Tukey. A significância foi determinada se $p \leq 0,05$ e tendências se $p > 0,05$ e $\leq 0,10$.

RESULTADOS

Exames coproparasitológicos

As amostras individuais e os *pools* de fezes analisadas nos leitões de cinco, sete, 12 e 21 dias de idade foram negativas para a presença de oocistos de *C. suis*. Na Tabela 2 estão apresentados os resultados dos exames coproparasitológicos de acordo com a idade dos leitões.

Os resultados coproparasitológicos dos animais com 63 dias de idade demonstraram que um animal do G3 (1/7; 14,28%) apresentou oocistos de *C. suis* nas fezes. No G4, um animal (1/7; 14,28%) também foi positivo para oocistos do *C. suis*. Os animais do G2 e G4 não apresentaram oocistos nas fezes.

A prevalência de animais positivos nas 104 amostras coletadas individualmente nas diferentes idades (cinco, sete, 12, 21 e 63 dias) foi de 1,92% (2/104).

Necropsia e exames histopatológicos

Dos 13 animais necropsiados que apresentaram sinais clínicos e aspecto das fezes sugestivos de um quadro clínico de coccidiose, somente três tinham alterações significativas nos fragmentos de duodeno e jejuno analisados.

O animal do G4 necropsiado aos sete dias de idade apresentou leve congestão no jejuno e discreta infiltração celular, com predomínio de mononucleares na lâmina própria e dilatação dos vasos linfáticos na submucosa. Não havia evidências de lesões de coccidiose.

Um animal do G2, aos 12 dias de idade, apresentou discreta infiltração celular inflamatória mista na lâmina própria do jejuno. Em um dos fragmentos de jejuno havia grumos bacterianos aderidos ao epitélio e na luz. Havia também dilatação dos vasos linfáticos na submucosa. Os achados sugeriram enterite bacteriana por colibacilose. Não havia lesões sugestivas de coccidiose.

Um animal do G3, aos 12 dias de idade, apresentou congestão da mucosa do jejuno, leve infiltração celular mononuclear na lâmina própria com degeneração do epitélio no topo e laterais das vilosidades e discreta atrofia das vilosidades. As lesões eram compatíveis com coccidiose clínica, porém, formas endógenas do *C. suis* não foram encontradas no interior dos enterócitos e/ou na superfície da mucosa.

Um animal do GC, aos 21 dias de vida, apresentou moderada congestão no jejuno, discreta infiltração de linfócitos na lâmina própria, leve degeneração vacuolar epitelial no topo das vilosidades, camada submucosa com edema e dilatação de vasos linfáticos. As lesões eram compatíveis com coccidiose clínica, porém, formas endógenas do *C. suis* não foram encontradas no interior dos enterócitos e/ou na superfície da mucosa.

Nos animais de 63 dias de idade, não houve alterações nos fragmentos intestinais analisados.

O teste de imuno-histoquímica para a pesquisa de Rotavírus tipo A foi realizado em todas as amostras de jejuno e duodeno, como ferramenta de diagnóstico diferencial. Todas as 13 amostras avaliadas foram negativas para Rotavírus tipo A.

Avaliação dos protocolos em relação ao GPD

Todos os leitões dos quatro grupos do experimento foram pesados individualmente ao 3º dia de vida. Os pesos médios de cada grupo estão apresentados na Tabela 3.

Apesar de, para formação dos grupos, ter sido respeitada a mesma distribuição das matrizes por ordem de parto, e, apesar do fato de todas terem sido alojadas na mesma sala de parto e sob as mesmas condições ambientais de manejo, houve diferença significativa de peso dos leitões ao 3º dia do G2 em relação aos demais ($p < 0,01$). Para que isso não influenciasse a interpretação dos resultados, o peso ao terceiro dia (d3) foi considerado como covariável independente no presente estudo. Dessa forma, na Tabela 4, estão apresentados os pesos médios de cada grupo ajustados por covariável no desmame (d21) e aos 132 dias de vida (d132), momento em que os suínos foram levados para o abate.

Os animais do G4, que receberam duas doses de toltrazuril, aos três e sete dias de vida (FARMACOX®, Farmabase Saúde animal, Jaguariúna-SP), apresentaram maior peso no desmame, quando comparados com os animais do GC ($p < 0,01$).

Aos 132 dias de idade, os animais do G2 que receberam uma dose de toltrazuril aos três dias de vida, e os animais do G4 que receberam duas doses, apresentaram peso corporal significativamente maior quando comparados ao GC ($p < 0,01$).

Os valores de ganho de peso diário (GPD) dos três aos 21 dias de idade, dos 21 aos 132 dias de idade e dos três aos 132 dias de idade dos suínos estão apresentados na Tabela 5.

Avaliação dos protocolos em relação à mortalidade

A mortalidade foi avaliada ao longo de todo o experimento (três a 132 dias de idade) e os resultados estão apresentados na Tabela 6.

DISCUSSÃO - As amostras de fezes dos leitões de cinco a 21 dias de idade dos diferentes grupos foram negativas para presença de *C. suis*. De acordo com estudo realizado por Leyton e colaboradores (2011), nenhuma amostra foi positiva para *C. suis* em leitões com menos de 15 dias de vida. No entanto, Mundt e colaboradores (2003), identificaram 69% das fazendas e 25% dos leitões em lactação positivos para *C. suis*. Nos estados brasileiros de Minas Gerais e São Paulo, Nishi e colaboradores (2000), encontraram 20,65% dos leitões positivos até a terceira semana de vida. Em um estudo realizado por Sartor e colaboradores (2007) em Santa Catarina, os leitões recebiam medicação preventiva ao terceiro dia de vida com toltrazuril na dose de 20 mg/Kg de peso vivo e foram coletadas amostras de fezes de 260 leitões entre sete e 20 dias de idade, foi observado que 5% das amostras foram positivas para *I. suis*.

A ausência de *C. suis* nas amostras de fezes deste estudo, até o desmame, possivelmente está relacionada não só a medicação com toltrazuril, mas às medidas de biossegurança praticadas pela granja: manejos de limpeza e desinfecção bem realizados, vazio sanitário na sala de maternidade e piso plástico vazado nas gaiolas da sala de parto, pois o uso de detergente no processo de limpeza reduz a probabilidade de uma granja ser positiva para *I. suis* (LEYTON et al., 2011), enquanto a prática de limpeza e desinfecção na sala de maternidade seguida de vazio sanitário reduz em três vezes a probabilidade das leitegadas serem positivas, além disso, leitegadas alojadas em piso plástico vazado têm 2,81 vezes menos probabilidade de serem positivas quando comparado com o alojamento sobre piso de metal, e leitegadas criadas em salas limpas e com mais de um zelador tiveram 2,7 vezes menos chances de serem positivas (SKAMPARDONIS et al., 2012).

Sayd e colaboradores (1996), em estudo prévio realizado no estado de São Paulo, verificaram que 38% das amostras de fezes de leitões lactentes alojados em piso compacto sujo foram positivas para *C. suis*, 20% das amostras de fezes de leitões alojados em piso compacto limpo, foram positivas para *C. suis* e 11,7% das amostras de fezes de leitões alojados em piso vazado auto-limpante, positivas para oocistos deste protozoário, demonstrando que houve queda significativa na prevalência de oocistos em pisos vazados, sugerindo que a dificuldade de detecção de oocistos pelo método usual em amostras de fezes não diarreicas com um baixo número de oocistos pode explicar a baixa positividade.

As amostras de fezes dos leitões de 63 dias de idade do G2 e do G4 foram negativas para presença de *C. suis*, uma amostra de fezes do GC e do G3 foram positivas para o *C. suis*, representando 7,14% do total. Resultados similares a estes foram reportados em estudos prévios realizados nos estados de São Paulo e Minas Gerais, onde houve 11,11% de positividade em amostras de fezes de leitões entre 21 e 63 dias de idade (NISHI et al., 2000).

Esses números contrariam os resultados de Leyton e colaboradores (2011) que encontraram positividade para *I. suis* em animais até 40 dias de idade. Em nosso estudo, somente animais não tratados (GC) e tratados ao quinto dia de vida (G3) excretaram oocistos, o que pode sugerir que a medicação profilática com toltrazuril ao terceiro dia de vida dos leitões foi mais eficiente no controle da coccidiose, concordando com outros autores que relataram que 65,6% dos leitões não tratados e 11% dos leitões tratados com toltrazuril ao terceiro dia de vida, excretaram oocistos ao menos uma vez, e que leitegadas que receberam toltrazuril demonstraram 3,7 vezes menos probabilidade de excretar oocistos nas fezes do que leitegadas não tratadas (SKAMPARDONIS et al., 2012).

Outro fator importante para o aparecimento de oocistos nas fezes dos leitões aos 63 dias de idade é o fato de terem sido alojados em instalações de creche com piso compacto cimentado, com lâmina d'água, permitindo maior contaminação fecal do ambiente e possibilidade de contaminação dos leitões pelo hábito de coprofagia. Segundo Nishi e colaboradores (2000), instalações contendo lâmina d'água são propícias à disseminação de agentes parasitários quando essas são inadequadamente utilizadas.

Para compreender a importância do protocolo correto de aplicação do toltrazuril, é necessário considerar o ciclo do protozoário: no final da esquizogonia, os esquizontes produzem uma primeira geração de merozoítos (telomerozoítos) que emergem das células originais e passam a invadir novas células sadias para início da fase de reprodução sexuada (BOWMAN et al., 2010). Estes merontes de segunda geração estão presentes quatro dias após a infecção dos leitões e rompem células do ápice das vilosidades diminuindo a capacidade de absorção dos nutrientes pelos leitões e alterando a taxa de crescimento desses animais mesmo sem apresentar diarreia. Segundo Mundt e colaboradores (2006), leitões infectados com altas doses infectantes (5.000 oocistos) do *C. suis* no primeiro dia de vida começaram a excretar oocistos no quinto dia pós infecção e apresentaram diarreia no sexto dia pós infecção. Leitões infectados com baixas doses (100 a 1.500 oocistos) apresentaram diarreia três a quatro dias após o início da excreção de oocistos.

As lesões causadas ao intestino de leitões lactentes pelo *C. suis* incluem atrofia e fusão das vilosidades, hiperplasia das criptas, enterite necrótica com consequente diarreia por má absorção (TAYLOR et al., 2010) e são semelhantes as lesões causadas pelo Rotavírus grupo A, envolvendo atrofia e fusão de vilosidades, apoptose de enterócitos no topo e laterais das vilosidades (ZACHARY e MCGAVIN, 2010). Devido à semelhança das lesões, todos os animais necropsiados no estudo foram submetidos ao diagnóstico diferencial de Rotavirose, o que excluiu a possibilidade de contaminação, pois as amostras foram negativas.

Em relação às análises histopatológicas para pesquisa de lesões sugestivas de coccidiose, um animal do G3, aos 12 dias de idade e um animal do GC aos 21 dias de idade apresentaram lesões leves e compatíveis com coccidiose, porém, como não foram encontrados *C. suis* no interior dos enterócitos, e na superfície da mucosa, é possível relacionar as alterações nas análises histopatológicas do GC e G3 com a positividade de oocistos de *C. suis* nas fezes de um animal de cada um destes grupos aos 63 dias de vida e sugerir que pode ter ocorrido um quadro de coccidiose sub-clínica em alguns animais destes dois grupos.

O presente estudo foi conduzido em granja comercial que praticava a administração de amoxicilina intramuscular em 100% dos leitões no segundo dia de vida (VETRIMOXIN®, Ceva Saúde Animal, Paulínia-SP, Brasil). Essa aplicação de antimicrobiano pode ter minimizado a exposição dos leitões com coccidiose, principalmente aqueles do GC à agentes secundários bacterianos.

Segundo Krüger e colaboradores (2010), o *C. perfringens* faz parte da microbiota normal do intestino de leitões, porém, a infecção por *I. suis* em leitões recém-nascidos, em conjunto com a exposição ao *C. perfringens* tipo A, poderia causar uma grave enterite. De acordo com Chae e colaboradores (1998), a ruptura das células das vilosidades da mucosa do intestino pelo *C. suis* causa enterite fibrinosa e lesões ao intestino que tornam os leitões mais susceptíveis a outras infecções, como colibacilose e clostridiose. O fato de todos os leitões terem sido medicados com antimicrobiano em dose alta pode ter diminuído o número de leitões com infecções secundárias ao *C. suis*, e isso consequentemente, pode ter ajudado na saúde intestinal, principalmente dos animais do GC e G3.

A pesagem dos animais no desmame permitiu concluir que aqueles do grupo G4 tiveram melhor desempenho até os 21 dias de idade, com diferença significativa no GPD (0,218Kg) e peso (5,55Kg) em relação ao GC (0,193Kg e 5,12Kg), respectivamente. Porém, o G4 não demonstrou diferença significativa em relação ao G2 e G3 no desmame. O peso e GPD maior em animais tratados no desmame era esperado e está de acordo com Maes e colaboradores (2007) que verificaram efeito significativo no GPD, sendo 0,260Kg nos animais tratados com toltrazuril e 0,235Kg nos animais controle. Rypula e colaboradores (2012), realizaram estudo comparando animais tratados com toltrazuril e não tratados em três fazendas, sendo que em duas delas os leitões foram desmamados com 1,412Kg e 0,350Kg mais pesados que os animais do grupo controle.

Apesar da diferença entre os tratamentos em relação ao desempenho zootécnico no desmame, o objetivo principal deste trabalho foi avaliar o desempenho dos animais até a idade de abate, e não somente até o desmame, porque na suinocultura brasileira, tanto o produtor independente de ciclo completo, quanto as agroindústrias integradoras e cooperativas, estão interessados na melhoria de desempenho dos animais ao longo de todo o ciclo, sendo que qualquer enfermidade que possa reduzir o peso dos animais ao abate poderá causar prejuízo financeiro imediato.

Na pesagem aos 132 dias de vida, ou seja, no dia em que os animais foram levados para abate, o G2 e G4 demonstraram diferença significativa em relação ao GC, mas não houve diferença significativa entre o G2 e o G4.

Os animais do G2 e G4 apresentaram peso de 98,05Kg e 95,74Kg e GPD do 3º ao 132º dia de 0,747Kg e 0,729Kg, respectivamente. Os animais do GC apresentaram peso médio de 90,78Kg e GPD de 0,691 Kg. Estes números eram esperados e estão de acordo com Rypula e colaboradores (2012), que trataram leitões aos quatro dias de vida e acompanharam o desempenho dos animais em três fazendas até o abate. Em uma das granjas, no momento da venda dos animais para abate, os animais tratados eram 5,4 Kg mais pesados do que os animais controle. Na outra, os animais tratados eram 3,0Kg mais pesados no momento da venda. O trabalho supracitado foi conduzido na Polônia e os grupos controle e tratado não foram pesados nos mesmos dias, havendo diferença de idade entre os grupos. No Brasil, até o momento não foram encontradas investigações que avaliassem o desempenho dos animais até a idade de abate.

Os valores de peso e GPD do G2 e G4 aos 132 dias foram melhores significativamente em relação ao GC, possivelmente relacionado ao uso de toltrazuril ao terceiro dia de vida nos dois grupos. O G2 e G4 também foram melhores em peso e GPD em relação ao G3, porém, sem diferença significativa, possivelmente pelo fato da granja ter boas condições de higiene e não apresentar o quadro de coccidiose clínica no rebanho.

As alterações encontradas no exame histopatológico de leitões do GC e G3 relacionadas com a presença de oocistos de *C. suis* nas fezes dos leitões aos 63 dias de vida, indicaram que houve um quadro de coccidiose subclínica que resultou na queda de desempenho (peso e GPD) dos animais do GC e G3 e que o tratamento preventivo com toltrazuril ao terceiro dia de vida foi mais efetivo no controle da doença clínica e subclínica.

A coccidiose é uma importante endoparasitose em leitões jovens que causa grandes perdas econômicas na produção de suínos, porém com baixa mortalidade (SAYD E URARA, 1996), sendo que a importância econômica da coccidiose se deve principalmente às consequências negativas sobre o desempenho zootécnico dos animais e o surgimento de refugos (SOBESTIANSKY et al., 2012). De qualquer forma, não houve mortalidade significativa de leitões submetidos aos diferentes protocolos durante o período do estudo.

Atualmente, o valor investido para o tratamento de um leitão com um mL de toltrazuril é de aproximadamente R\$0,40. O preço pago por Kg do suíno para o abate no mês janeiro de 2017 no estado de São Paulo era de R\$4,21. Os animais do G2 pesaram 7,27Kg a mais do que os animais do GC aos 132 dias de idade. Isso significou que na mesma idade um animal do G2 pode ser vendido por R\$30,60 a mais do que um animal do GC que não recebeu medicação preventiva para coccidiose. Se descontarmos o valor de R\$0,40 por animal, referente ao custo da metafilaxia com toltrazuril, o ganho seria de R\$30,20 por animal abatido. No caso de um produtor com 1.000 matrizes em ciclo completo, que entregue 27 suínos por fêmea/ano para abate, o acréscimo de faturamento seria de R\$815.400,00 no ano.

Se compararmos os animais do G2 com aqueles do G3, os suínos do G2 foram abatidos 3,68Kg mais pesados. Utilizando o mesmo raciocínio do cálculo anterior, cada animal do G2 seria vendido por R\$15,49 a mais do que um animal do G3. Para o mesmo suinocultor que abate 27.000 animais/ano, o acréscimo de faturamento seria de R\$418.230,00.

CONCLUSÃO - A administração de 1mL de toltrazuril a 5% ao terceiro dia de vida dos leitões é o protocolo mais adequado para a prevenção da coccidiose em condições de campo.

A metafilaxia com toltrazuril é efetiva no controle do impacto da infecção por *C. suis*, aumentando o peso dos leitões no desmame e aos 132 dias de idade e melhorando os indicadores econômicos da granja.

AGRADECIMENTOS – À Alex Junior Vaivadas, Carlos Alberto Cunha, Carlos Alberto Ribeiro, João Pedro Leoncio, Vitor Franceschini e a Farmabase Saúde Animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barcellos, D. E., Rodrigues, N. C., Oliveira, S. J., Borowski, S. M. 1984. Ocorrência da coccidiose como causa da diarreia em leitões lactentes no Rio Grande do Sul. Arquivo Veterinário da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. v. 12, p. 15-20.

Barros, C. S. L. 1988. Guia da Técnica de Necropsia dos Mamíferos Domésticos. Santa Maria - UFSM: s. n., 47p.

Bowman, D. Parasitologia Veterinária de Georgis. 2010. Elsevier Brasil, p. 89-95.

Chae, C., Kwon, D., Kim, O. 1998. Diarrhoea in nursing piglets associated with coccidiosis: prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms. Veterinary Record. v. 143, n. 15, p. 417-420.

Frenkel, J. K. 1977. *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidian. Journal of Parasitology. v. 63, p. 611-628.

- Frenkel, J. K., SMITH, D. D. 2003. Determination of the genera of cyst-forming coccidian. *Parasitology Research*. v. 91, p. 384-389.
- Gelberg, H. B., Hall, W. F., Woode, G. N., Basgall, E. J., Scherba, G. 1990. Brief communications and case reports multinucleate enterocytes associate with experimental Group A Porcine Rotavirus infection. *Veterinary Pathology*. v. 27, p. 453-454.
- Krüger, M., Schroedl, W., Krüger, M., Schwarz, S., Mengel, H., Dauschies, A., Swidsinski, A., Mundt, H. C., Westphal, B. 2010. *Prakt Tierarzt*. v. 91, p. 774-784.
- Leyton, A. A., Friendship, R., Dewey, C. E., Todd, C., Peregrine, A. S. 2011a. *Isospora suis* infection and its association with postweaning performance on three southwestern Ontario swine farms. *Journal of Swine Health and Production*. v. 19, n. 2, p. 94-99.
- Leyton, A., Webster, E., Friendship, R.; Dewey, C., Vilaça, K.; Peregrine, A. 2011b. An observational study on the prevalence and impact of *Isospora suis* in suckling piglets in southwestern Ontario, and risk factors for shedding oocysts. *Can Vet J*. v. 52, p. 184-188.
- Lima, J. D., Martins, N. E., Oliveira A. R. S., Boretti L. P. 1983. Coccidiose em leitões lactentes de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 35, n. 1, p. 33-40.
- Ludtke, C. B., Ciocca, J. R. P., Dandin, T., Barbalho, P. C., Vilela, J. A., Dalla costa, O. A. 2010. Abate Humanitário de Suínos. *WSPA Brasil*. 131p.
- Maes, D., Vyt, P., Rabaes, P., Gevaert, D. 2007. Effects of toltrazuril on the growth of piglets in herds without clinical isosporosis. *The Veterinary Journal*. v. 173, p. 197-199.
- Martins, N. E., Lima, J. D. 1982. Prevalência de coccídios em leitões de Minas Gerais. *Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*. v. 18, p. 187.
- McGavin, M. D., Zachary, J. F. 2011. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5. Ed. Elsevier, 1249p.
- Mundt, H. C., Joachim, A., Becka, M., Dauschies, A. 2006. *Isospora suis*: an experimental model for mammalian intestinal coccidiosis. *Parasitology Research*. v. 98, p. 167-175.
- Mundt, H. C., Joachim, A., Dauschies, A.; Zimmermann, M. 2003. Population biology studies on *Isospora suis* in piglets. *Parasitology Research*. v. 90, p. 158-159.
- Nishi, S. M., Gennari, S. M., Lisboa, M. N. T. S., Silvestrim, A., Caproni, L. Jr., Humebara, O. 2000. Parasitas intestinais em suínos confinados nos estados de São Paulo e Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 67, n. 2, p. 199-203.
- Rebouças, M. M., Oliveira, Sueli M., Filha, E. S., Santos, S. M., Amaral, V. 1992. *Isospora suis* Biester, 1934 em suínos no estado de São Paulo – Brasil (Apicomplexa Eimeriidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 1, n. 2, p. 137 – 140.
- Rostagno H. S. 2011. *Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 3 Ed. Editora UFV/DZO, 2011, 235p.
- Rypula, M., Porowsky, M.; Kaba, J., Gorczykowski, M., DENIZ, A. 2012. Effect of Isosporiasis prevention with toltrazuril on long-term pig performance. *The Scientific World Journal*. 4p.
- Santos, N. M., Lopes, C. W. G. 1988. Morfologia dos oocistos das espécies da família Eimeriidae Minchin, 1903 (Protozoa: Apicomplexa) parasitos de suínos. *Arquivo Fluminense de Medicina Veterinária*. v. 3, n. 2, p. 41-44.
- Sartor, A. A., Bellato, V. Souza, A. P., Cantelli, C. R. 2007. Prevalência das espécies de *Eimeria* Schneider, 1875 e *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) parasitas de suínos do município de Videira, SC, Brasil. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. V. 6, n.1, p. 38-43.
- Sayd, M. O., Urara, K. 1996. Prevalence of porcine neonatal isosporosis in Brazil. *Veterinary Parasitology*. v. 67, p. 169-174.
- Silva, N. R. S. 1993. Prevalência de *Isospora suis* e de espécies de *Eimeria* em suínos na Região de Porto Alegre, RS, Brasil. *Arquivos da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS*. v. 21, p. 27-31.

- Skampardonis, V., Sotiraki, S., Kostoulas, P., Leontides, L. 2010. Effect of toltrazuril treatment in nursing piglets naturally infected with *Isoospora suis*. Veterinary Parasitology. v. 172, p. 46-52, 2010.
- Skampardonis, V., Sotiraki, S., Kostoulas, P., Leontides, L. 2012. Factors associated with the occurrence and level of *Isoospora suis* oocyst excretion in nursing piglets of Greek farrow-to-finish herds. Veterinary Research. v. 8, 9p.
- Sobestiansky, J., Barcellos, D. 2012. Doenças dos Suínos. 2 Ed. Cânone Editorial, 959p.
- Taylor, D.J. 2013. Pig Diseases. 9. Ed. Wayment, 430p.
- Taylor, M. A., Coop, R. L., Wall, R. L. 2010. Parasitologia Veterinária. 3. Ed. Guanabara-Koogan, p. 275-278.

NORMAS REVISTA PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

<http://www.scielo.br/revistas/pvb/iinstruc.htm>