

Universidade Federal de Minas Gerais  
Conselho de Pós-Graduação  
Escola de Veterinária



USO DO ARPRINOCID, NICARBAZINA E 3-5-DINITRO-O-TOLUAMIDA(D.O.T.)  
NO CONTROLE DA COCCIDIOSE EM REPRODUTORAS PESADAS  
PARA PRODUÇÃO DE PINTOS DE CORTE

Fernando Cristino Barbosa

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

*22/10/84*

Belo Horizonte  
Minas Gerais  
1984

B2.11  
1984

Fernando Cristino Barbosa

USO DO ARPRINOCID, NICARBAZINA E 3-5-DINITRO-O-TOLUAMIDA(D.O.T.)  
NO CONTROLE DA COCCIDIOSE EM REPRODUTORAS PESADAS  
PARA PRODUÇÃO DE PINTOS DE CORTE



Tese apresentada à Escola Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área: Medicina Veterinária Preventiva

Belo Horizonte  
Minas Gerais  
1984

MV-00007045-4



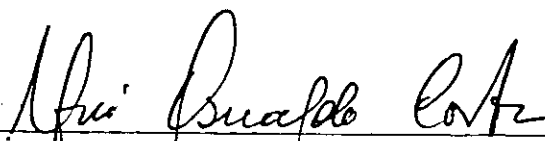
B238 Barbosa, Fernando Cristino, 1956-  
Uso do arprinocid, nicarbazina e 3-5-dinitro-o-tolua-  
mida (D.T.O.) no controle da coccidiose em reprodutoras  
pesadas para produção de pintos de corte. Belo Hori -  
zonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1984.  
3lp. ilustr.

Tese, Mestre em Medicina Veterinária.

1. Coccidiose - imunidade. 2. Anticoccídicos. 3. Galin-  
ha - matriz pesada. I. Título.

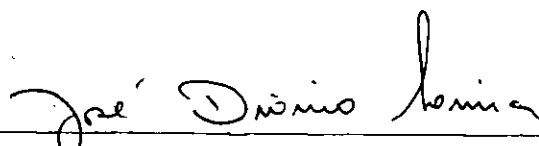
CDD - 636.513 089 693 6

Aprovada em: 14/12/84

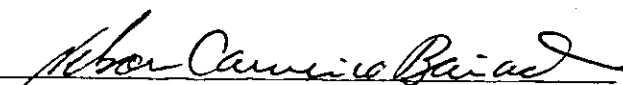


PROF. JOSÉ OSWALDO COSTA

- Orientador -



PROF. JOSÉ DIVINO LIMA



PROF. NELSON CARNEIRO BAIÃO

À minha esposa e filha,  
pelo incentivo e esperança.  
À minha mãe e a meu irmão,  
pelo apoio.  
À memória de meu pai, pelo  
exemplo de vida.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. José Oswaldo Costa, pela orientação e compreensão.

Aos Profs. Nelson Carneiro Baião, Egladson João Campos e José Divino Lima, pela colaboração e sugestões apresentadas para o aprimoramento deste trabalho.

À Profa. Regina Maura Bueno Franco, pela ajuda na parte laboratorial, identificando as espécies de coccídios.

Aos Profs. Nelson Ferreira Lúcio e Regino Leonardo de Oliveira, pelo apoio recebido.

Ao colega José da Silva Guimarães Jr., pelo convívio e auxílio na execução deste trabalho.

Aos Funcionários da Fazenda Experimental "Professor Hélio Barbosa" da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

À Universidade Federal de Uberlândia, pela oportunidade de realizar o curso de Pós-Graduação.

À Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, pela receptividade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e ao Programa Institucional de Capacitação de Docentes - PICD, pela bolsa de estudos concedida.

Aos demais professores e colegas do curso de Pós-Graduação e a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA DO AUTOR

FERNANDO CRISTINO BARBOSA, filho de Irlandino Barbosa Lima e Terezinha Figueiredo Lima, nasceu na cidade de Ituverava, Estado de São Paulo, aos 24 dias do mês de janeiro de 1956.

Concluiu o curso de Medicina Veterinária, em 1978, pela Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

A partir de janeiro de 1980 passou a integrar o corpo docente da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, onde, atualmente é professor de Doenças Parasitárias.

Em 1983, iniciou o curso de Pós-Graduação, a nível de Mestrado, na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, na área de Preventiva.

## RESUMO

O presente experimento foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência dos anticoccídicos arprinocid, nicarbazina e 3-5-dinitro-o-toluamida (D.O.T.) em diversas dosagens e combinações, em programas de controle da coccidiose em galinhas matrizes. Foram utilizadas 840 matrizes, da linhagem comercial Cobb, de 1 dia a 20 semanas de idade. Estas aves foram alojadas em um galpão convencional, dividido em vários boxes. Como material de "cama" foi utilizado o cepilho de madeira. A ração utilizada foi a convencional para cada período etário e os anticoccídicos foram adicionados a mesma, constituindo programas de controle da coccidiose, assim descritos: I. controle (não medicado); II. arprinocid 60 ppm (0 a 20 semanas); III. nicarbazina 125 ppm (0 a 20 semanas); IV. D.O.T. 125 ppm (0 a 20 semanas); V. arprinocid 60 ppm (0 a 10 semanas), 45 ppm (11 a 15 semanas) e 30 ppm (16 a 20 semanas); VI. D.O.T. 125 ppm (0 a 10 semanas) e nicarbazina 125 ppm (11 a 20 semanas); VII. arprinocid 60 ppm (0 a 10 semanas) e nicarbazina 125 ppm (11 a 20 semanas). A exposição ao parasito ocorreu naturalmente durante o período de tratamento com esses anticoccídicos. Uma semana após a interrupção do uso desses medicamentos, as aves foram desafiadas, por via oral, com um inóculo misto de 100.000 oocistos contendo Eimeria tenella, E. necatrix, E. acervulina e E. maxima. Para testar o inóculo um grupo de 5 aves criadas



em bateria com ração sem anticoccídico receberam 50.000 oocistos, cada uma do mesmo inóculo. Todas as aves criadas em bateria, apresentaram sintomas clínicos, com 100% de mortalidade, achados de necropsia e de laboratório que comprovaram a coccidiose e a eficiência do inóculo. As aves criadas no galpão não apresentaram manifestações clínicas ou mortalidade pela coccidiose, embora oocistos tenham sido recolhidos da "cama" de todos os boxes onde estavam alojadas as aves. Esses achados sugerem que os anticoccídicos usados nessas dosagens não devem ter interferido no desenvolvimento da imunidade das aves para a coccidiose. Por outro lado, o uso desses anticoccídicos parece ter prevenido o aparecimento de surto da doença nas condições em que foi realizado o experimento.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Aspêctos imunológicos.....	3
2.2. Anticoccídicos.....	4
2.2.1. Nicarbazina.....	4
2.2.2. 3-5-Dinitro-o-toluamida (D.O.T.).....	7
2.2.3. Arprinocid.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1. Local.....	10
3.2. Instalações e equipamentos.....	10
3.3. Aves.....	10
3.4. Anticoccídicos.....	10
3.4.1. Arprinocid.....	10
3.4.2. Nicarbazina.....	11
3.3.3. 3-5-Dinitro-o-toluamida (D.O.T.).....	12
3.5. Rações.....	12
3.6. Manejo e programa profilático.....	12
3.7. Exames parasitológicos.....	15
3.8. Diagnóstico pós-mortem.....	16

	Página
3.9. Preparo do inóculo.....	17
3.10. Desafio à imunidade.....	17
3.11. Delineamento experimental.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5. CONCLUSÕES.....	26
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

## LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA I - Composição da ração inicial de reprodutoras pesadas para produção de pintos de corte...	13
TABELA II - Composição da ração de recria de reprodutoras pesadas para produção de pintos de corte.....	14
TABELA III - Incidência de oocistos de <u>Eimeria</u> spp nas fezes de reprodutoras pesadas, medicadas com arprinocid, nicarbazina e D.O.T.....	20



## 1. INTRODUÇÃO

A coccidiose é uma das doenças de maior prevalência na avicultura e pode ser encontrada sob as mais diversas condições climáticas, sendo da maior importância um controle eficiente para a obtenção de produção lucrativa.

Constitui-se ainda hoje, apesar de todos os progressos alcançados no domínio da profilaxia e terapêutica, preocupação de todos aqueles que de algum modo estão ligados aos problemas das explorações avícolas (BORDIN, 1980; DIOGO, 1981).

Drogas anticoccídicas são utilizadas em rações de aves desde 1940, e seu uso tem prevenido perdas econômicas provocadas pela doença devido a alta mortalidade, baixo ganho de peso e conversão alimentar, e baixa produtividade (BRAUNIUS, 1982; MATHIS & McDOUGALD, 1982). LONG (1983) estimou que só o custo de drogas para o controle da coccidiose nos Estados Unidos da América do Norte e no mundo está respectivamente em volta de 50 e 200 milhões de dólares por ano. Estima-se que no Brasil em 1974, foram gastos em anticoccídicos a importância de 26 milhões de cruzeiros (SILVA et alii, 1980).

Uma eficiente droga anticoccídica deve proteger as aves da mortalidade e morbidade causadas pelos coccídios e não deve interferir na resposta imunológica conferindo uma imunidade suficiente até o início da postura.

Em programas de controle da coccidiose em reprodutores

ras e poedeiras, fatores como exposição acidental às espécies de Eimeria, e uso de anticocídicos para proteção durante o período de crescimento são fundamentais, de tal modo que uma imunidade natural se desenvolva e perdure durante o período de produção. Entretanto, a nível de campo tem-se observado às vezes que a utilização de drogas anticocídicas durante o período de crescimento não vem proporcionando o desenvolvimento de uma imunidade satisfatória, tornando as aves susceptíveis quando suspenso o uso dessas drogas, em torno de 20 semanas de idade quando se inicia o ciclo de postura.

Assim torna-se justificável avaliar os diversos anticocídicos em dosagens convencionais e modificadas ou combinações dos mesmos, de modo a assegurar programas satisfatórios de controle da eimeriose, principalmente após suspensa a medicação. Dentro desse espírito o presente experimento teve como objetivos a avaliação dos anticocídicos nicarbazina, arprino-cid e 3-5-dinitro-o-toluamida (D.O.T.) em diversas dosagens e combinações dos mesmos visando o controle da eimeriose e permitindo simultaneamente o desenvolvimento de imunidade em matrizes (reprodutoras pesadas).



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Aspéctos imunológicos

TYZZER (1929) observou que galinhas que haviam sido infectadas com Eimeria spp. desenvolveram uma imunidade satisfatória contra a eimeriose. Entretanto, o tratamento efetivo durante o período de criação, interfere muitas vezes com o desenvolvimento da imunidade, tornando as aves susceptíveis quando a droga é retirada. Por isso, a imunidade contra a coccidiose tem constituído assunto de grande interesse (SANDA, 1977).

Um dos programas utilizados para o controle da coccidiose em reprodutoras e poedeiras depende da exposição accidental às espécies de Eimeria e envolve o uso de um anticoccídico para proteção durante o período de crescimento, mas de tal modo que uma imunidade natural se desenvolva e perdure durante todo o período de produção (REID et alii, 1968; RUFF & CHUTE, 1980). Nestes programas, além da exposição natural para o desenvolvimento da imunidade, outros fatores devem ser considerados: espécie de Eimeria envolvida, idade e estado de saúde das aves expostas ao parasito, o teor da dose imunizante e a frequência de exposição à Eimeria (SANDA, 1977; CHAPMAN, 1978; LONG & ROSE, 1982). Como lembra ROSE (1973) a resposta imunológica aumenta com a idade do hospedeiro.

De acordo com LONG & ROSE (1982) a Eimeria tenella

e Eimeria necatrix são as mais patogênicas, no entanto com mínima imunogenicidade e a Eimeria maxima a de maior imunogenicidade. Portanto todas as espécies de Eimeria são capazes de induzir uma imunidade efetiva, quando a exposição ao parasito ocorre de tal modo que as doses de oocistos sejam pequenas e por um período prolongado.

## 2.2. Anticoccídicos

Os anticoccídicos administrados na ração como preventivos da coccidiose diferem no modo de ação e efeito sobre os estágios do ciclo de vida dos parasitos, que podem ser inibidos ou destruídos. Essas drogas podem inibir, permitir ou causar um atraso no desenvolvimento da imunidade (REID, 1960 ; KARLSSON & REID, 1978).

A maioria dos anticoccídicos permitem produção moderada de oocistos, ocorrendo com isto uma infecção controlada enquanto as aves estão recebendo a medicação. A redução do nível do produto na ração usualmente permite maior infecção, agilizando o desenvolvimento de uma sólida imunidade nas aves (REID, 1972). Por outro lado, a utilização de programas alternados com drogas que diferem no modo de ação podem permitir um melhor controle da infecção e por sua vez maior estímulo imunogênico.

### 2.2.1. Nicarbazina

CUCKLER & MALANGA (1956) desenvolveram 3 experimentos com frangos criados em baterias, para testar o desenvolvimento de imunidade contra a Eimeriose. Os frangos foram expostos ao parasito na 3a. semana de idade por via oral. No experimento I, os frangos foram inoculados com oocistos esporulados de Eimeria tenella com uma única dose de 50.000 oocistos ou em inoculações diárias de 2.000 ou 10.000 oocistos, durante 5 dias. Os frangos do experimento II foram inoculados com oocistos esporulados de Eimeria necatrix, na mesma dosagem do experimento I. Para o experimento III o inóculo utilizado foi





oocistos esporulados de Eimeria acervulina, em uma única dose de 500.000 oocistos em inoculações diárias de 4.000, 20.000 ou 100.000 oocistos por 5 dias. A ração medicada com nicarbazina (125 ppm) foi introduzida no dia anterior a inoculação e mantida por mais 15 dias. Após um período de 21 dias seguido da inoculação os frangos dos experimentos I, II e III foram desafiados com 100.000 oocistos de Eimeria tenella, 50.000 oocistos de Eimeria necatrix e 100.000 oocistos de Eimeria acervulina respectivamente. Os resultados mostraram que a nicarbazina reduziu significativamente as lesões causadas pelos coccídios e que houve desenvolvimento de imunidade satisfatória em todos os experimentos. Por outro lado, a imunidade que se desenvolveu nessas aves foi semelhante a que se desenvolveu nos controles expostos não medicados. Os parâmetros utilizados foram contagem de lesões e oocistos, mortalidade e ganho de peso.

CUCKLER et alii (1956) criaram 2 lotes de galinhas até 11 semanas de idade em "cama", período em que recebiam ração medicada com nicarbazina a 50 ppm e 100 ppm respectivamente. As aves foram expostas a 40.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella na 3a. semana de idade, através da água. Com 12 semanas de idade as aves foram desafiadas com 100.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella. Concluíram que os níveis de 50 e 100 ppm de nicarbazina, administrados continuamente na ração permitiram o desenvolvimento de imunidade, não havendo evidência de lesão cecal ou mortalidade, inclusive nos controles expostos não medicados. Utilizaram como parâmetros a contagem de lesões e mortalidade.

McLOUNGLIN et alii (1957) trabalharam com frangos com 3-4 semanas de idade separados em 3 grupos. O grupo 1, controle exposto não medicado, os frangos foram inoculados com 50.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella. Grupo 2, exposto e medicado, os frangos receberam a mesma dose de oocistos do grupo 1 e a ração medicada com nicarbazina (125 ppm) foi introduzida no dia anterior a inoculação e mantida por mais 7 dias. No grupo 3, controle não exposto e nem medicado, os frangos não foram inoculados e nem receberam ração medicada com ni

carbазина. Após um período de 3 semanas da inoculação todos os grupos foram desafiados; os grupos 1 e 2 com 100.000 oocistos e o grupo 3 com a dose de 50.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella. Os resultados revelaram uma sobrevivência de 98%, 97% e 51% para as aves dos grupos 1, 2 e 3 respectivamente. Os autores concluíram que a nicarbazina não interferiu com o desenvolvimento da imunidade e teve ação profilática. A imunidade que se desenvolveu no grupo 2 pareceu ser tão protetora quanto a que se desenvolveu no grupo 1. Os parâmetros utilizados para a avaliação foram mortalidade, contagem de lesões e ganho de peso.

McLOUGHLIN et alii (1958) testaram o desenvolvimento da imunidade contra Eimeria tenella em frangos com 4-5 semanas de idade. Os frangos foram distribuídos em 3 lotes (A, B e C), e cada lote era composto de 3 grupos de aves: controle exposto não medicado, aves que foram expostas ao parasito e medicada e controle não exposto e nem medicado.

Nos lotes A, B e C os frangos que foram inoculados receberam a suspensão de oocistos via oral com uma pipeta, na dose de 500, 5.000 oocistos de uma única vez ou em doses diárias de 1.000 oocistos por 5 dias, respectivamente. O anticocídico utilizado foi a nicarbazina (125 ppm), que foi introduzida no dia anterior a inoculação e mantida por mais 7 dias.

Decorrido um período de 3 semanas da inoculação todos os frangos foram desafiados com 100.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella, exceto os controles não expostos e nem medicados que foram desafiados com as respectivas doses da exposição inicial. Os dados utilizados para a avaliação foram o índice de mortalidade, ganho de peso e contagem de lesões. Os autores observaram ao desafio que as aves medicadas do lote A não desenvolveram imunidade tão protetora quanto a que se desenvolveu no controle exposto não medicado. As aves medicadas dos lotes B e C desenvolveram imunidade semelhante e tão protetora quanto a que se desenvolveu nos respectivos controles expostos não medicados. Concluíram que a nicarbazina teve ação profilática e não interferiu no desenvolvimento da imunidade .

Esses autores lembraram todavia, que foi necessário uma inoculação de 5.000 oocistos de uma única vez ou em 5 doses de 1000 oocistos para permitir o desenvolvimento de sólida imunidade.

KARLSSON & REID (1978) trabalharam com 3 lotes de frangos para testar o desenvolvimento de imunidade contra Eimeria tenella; os frangos foram inoculados na 2a. semana de idade com doses diárias de 50, 500 ou 5.000 oocistos esporulados respectivamente, durante 15 dias consecutivos. A ração medicada com nicarbazina (125 ppm) foi dada durante o período de exposição e por mais 7 dias. Uma semana após suspensão a medicação os frangos foram desafiados com 400.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella. De acordo com os parâmetros utilizados, contagem de lesões e ganho de peso, os resultados revelaram uma leve supressão da imunidade nas aves medicadas com nicarbazina; enquanto que a maior dose, 5.000 oocistos, resultou em imunidade protetora no controle exposto não medicado.

#### 2.2.2. 3-5-Dinitro-o-toluamida (D.O.T.)

KARLSSON & REID (1978) trabalharam com 3 lotes de frangos criados em baterias; os mesmos foram inoculados na 2a. semana de idade com doses diárias de 50, 500 ou 5.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella respectivamente. O inóculo foi administrado por via oral durante 15 dias consecutivos. A ração medicada com D.O.T. (125 ppm) foi fornecida durante o período de exposição e por mais 7 dias. Uma semana após suspensão do uso da medicação os frangos foram desafiados com 200.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella. Os resultados mostraram que não houve interferência no desenvolvimento da imunidade nas aves medicadas. A imunidade que se desenvolveu nessas aves foi tão protetora quanto a que desenvolveu no controle exposto a 5.000 oocistos e não medicado; considerando como parâmetros ganho de peso e contagem de lesões.

LONG et alii (1979) criaram pintos do 1º dia até 14 semanas de idade em "cama", período em que recebiam ração medicada com D.O.T (125 ppm). A exposição à Eimeria ocorreu natu -

ralmente, e os oocistos foram detectados nas fezes pela primeira vez quando as aves estavam com 3 semanas de idade. O inóculo para desafio foi preparado com oocistos recuperados da cama, onde estavam as aves. Foram desafiadas na 14a. e 20a. semana de idade, com os seguintes inóculos: inóculo 1 - 40.000 oocistos de E. acervulina; inóculo 2 - 50.000 oocistos de E. tenella; inóculo 3 - 10.000 oocistos de E. maxima/E. mivati e 170.000 oocistos de E. tenella; inóculo 4 - 50.000 oocistos de E. brunetti e 400.000 oocistos de E. acervulina/E. mivati; sendo que grupos de 8 aves recebiam um dos 4 inóculos. Os resultados mostraram que as aves desafiadas na 14a. e 20a. semana estavam substancialmente imunes. Os parâmetros que serviram para avaliação foram ganho de peso e contagem de lesões.

SASMAL & SHARMA (1981) inocularam frangos aos 28 dias de idade, com uma dose imunizante de 50.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella. A ração medicada com D.O.T. (125 ppm) foi introduzida 2 dias antes da inoculação e mantida por mais 7 dias. Quatorze dias após a inoculação os frangos foram desafiados com 100.000 oocistos de E. tenella; e o parâmetro utilizado para avaliação foi a contagem de oocistos. Os autores observaram que o D.O.T. controlou a doença no período de exposição e permitiu o desenvolvimento de imunidade protetora; essa imunidade que desenvolveu nessas aves medicadas foi tão protetora quanto a que se desenvolveu no controle exposto não medicado.

SASMAL & SHARMA (1982) testaram o efeito do anticocídico D.O.T. sobre o desenvolvimento de imunidade para Eimeria tenella. Inocularam frangos com 28 dias, com uma única dose de 50.000 oocistos esporulados de E. tenella. A ração medicada com D.O.T. (125 ppm) foi introduzida 2 dias antes da inoculação e mantida por mais 7 dias. Os frangos foram desafiados 14 dias após a inoculação com 100.000 oocistos esporulados de E. tenella; e os resultados revelaram que não houve mortalidade entre as aves que receberam ração medicada. Considerando, entretanto, os parâmetros utilizados, mortalidade, ganho de peso e contagem de lesões concluíram que houve pequena interferência no desenvol-

vimento da imunidade, em relação com o controle exposto não medicado.

### 2.2.3. Arprinocid

KARLSSON & REID (1978) trabalharam com 3 lotes de frangos criados em baterias. Os mesmos foram inoculados na 2a. semana de idade com doses diárias de 50, 500 e 5.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella respectivamente; o inóculo foi administrado por via oral durante 15 dias consecutivos. A ração medicada com arprinocid (70 ppm) foi fornecida nesse período e por mais 7 dias. Uma semana após suspenso o uso da medicação os frangos foram desafiados com 400.000 oocistos esporulados de E. tenella. Os resultados mostraram que as aves tiveram leve supressão da imunidade, quando alimentadas com o arprinocid (70 ppm). No entanto, a maior dose de oocistos resultou imunidade protetora no controle exposto não medicado. Os parâmetros utilizados foram ganho de peso, mortalidade e contagem de lesões.

LONG et alii (1979) criaram lotes de pintos do 1º dia até 10 semanas de idade em "cama", período em que recebiam ração medicada com 20 ppm ou 50 ppm de arprinocid. Na 2a. semana administraram um inóculo contendo as seguintes espécies de Eimeria: 100 oocistos de E. acervulina, E. brunetti, E. maxima e E. necatrix; e 1000 oocistos de E. tenella e E. mivati. Dois dias após suspenso uso da medicação as aves foram desafiadas com 200.000 oocistos de E. acervulina ou E. mivati, ou 50.000 oocistos de E. brunetti, E. maxima, E. necatrix ou E. tenella. Os resultados revelaram que o arprinocid na dosagem de 50 ppm interferiu no desenvolvimento da imunidade. Todavia, nas aves que receberam o mesmo medicamento na dose de 20 ppm houve desenvolvimento de imunidade, considerando ganho de peso e contagem de lesões.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental "Prof. Hélio Barbosa" da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, município de Igarapé - Minas Gerais, no período de 10 de janeiro a 12 de junho de 1984.

#### 3.2. Instalações e equipamentos

Utilizou-se um galpão convencional dividido em 21 boxes, cada um com 8 m<sup>2</sup>. Como material de "cama", utilizou-se ce pilho de madeira. Cada boxe foi equipado com um bebedouro auto mático tipo pendular e dois comedouros do tipo tubular.

#### 3.3. Aves

Foram utilizados 840 pintos matrizes, da linhagem "Cobb", de 1 dia a 20 semanas de idade.

#### 3.4. Anticoccídicos

##### 3.4.1. Arprinocid

Arprinocid (9-12-cloro-6-fluorofenil-metil 9H-puri

na 6-amina) é um análogo da adenosina, o qual possui atividade anticoccídica.

O mecanismo de ação da droga aparentemente envolve a inibição da purina na cadeia metabólica, mas o exato mecanismo de ação não é simples. A ação da droga depende da conversão no hospedeiro para N-1-óxido, o qual é a forma ativa (WANG et alii, 1979 e WANG & SIMASHKEVICH, 1980). Trabalhos mais recentes sugerem que o arprinocid-N-1-óxido pode atuar dilatando o retículo endoplasmático rugoso no parasito (WANG et alii, 1981).

A medicação por um pequeno período produz um efeito coccidiostático, mas a medicação prolongada é coccidicida (McDOUGALD, 1982).

O arprinocid tem atividade contra a 2a. geração assexuada (merontes e merozoitos). Uma das características interessante desta droga é o efeito sobre a esporulação dos oocistos. O arprinocid é eficaz contra Eimeria tenella a nível de 60 ppm, mas concentrações tão baixas quanto 30 ppm, reduziria significativamente a esporulação dos oocistos (TAMAS et alii, 1978).

O arprinocid a 50 ppm promove um controle da infecção à Eimeria, suprimindo a produção de oocistos (LONG et alii, 1979).

#### 3.4.2. Nicarbazina

A droga é um "complexo equimolar" da dinitrocarbani<sup>l</sup>ida e pirimidina. Ambos compostos são de essencial atividade anticoccídica (McDOUGALD, 1982). A ausência de lesões utilizando esta droga, associada à quase total ausência de resistência como comprova LONG & ROSE (1982), tem favorecido sua indicação como anticoccídico.

O modo de ação bioquímica sobre o parasito é desconhecido, segundo ROBERSON (1977).

A nível de 125 ppm na ração, a nicarbazina é primariamente coccidicida, com ação direta contra a 2a. geração assexuada (merontes) (McLOUGHLIN & WEHR, 1960).

### 3.4.3. 3-5-Dinitro-o-toluamida (D.O.T.)

O D.O.T. é um nitrobenzamida. O tratamento por 5-6 dias pode ser coccidiostático, mas tratamentos mais longos torna-se coccidicida (JOYNER, 1960). O D.O.T. tem praticamente as mesmas propriedades como a nitromida, a diferença é somente em um grupo metil (McDOUGALD, 1982).

Quanto ao seu mecanismo de ação nada é conhecido. Sua atividade é contra o estágio assexuado especialmente contra merontes de 1a. geração (McDOUGALD, 1982). De acordo com JOYNER & NORTON (1977) e McDOUGALD (1982) o D.O.T. tem mostrado uma ação em reduzir a esporulação dos oocistos. E segundo SASMAL & SHARMA (1981) o D.O.T. suprime a produção de oocistos.

### 3.5. Rações

As rações utilizadas foram balanceadas e administradas de acordo com as necessidades das aves em cada período etário; ração inicial (TAB. I) e ração de recria (TAB. II). Foram adicionados às rações os anticoccídicos conforme os programas propostos, até a 20a. semana de idade. De 1 dia a 6a. semana de idade as aves receberam ração inicial à vontade, até atingir o consumo de 50 g/ave/dia, quando foi iniciado o programa de restrição alimentar, que foi constituído pela limitação da quantidade de ração ingerida diariamente. A partir da 7a. semana de idade as aves passaram a receber a ração de recria, obedecendo o programa de restrição alimentar, de acordo com o peso corporal.

### 3.6. Manejo e programa profilático

Não se tomou nenhuma precaução para evitar-se a exposição das aves às espécies de Eimeria. Isto é, as aves foram criadas em "cama" sem nenhuma preocupação especial com a contaminação que usualmente ocorre nas criações, principalmente em locais em que já se pratica a avicultura.



TABELA I - Composição da ração inicial de reprodutoras pesadas para produção de pintos de corte

Ingredientes	%
Milho (fubá)	70,1
Farelo soja	22,4
Farinha carne	6,0
Calcário	0,7
Sal	0,25
Premix mineral	0,1
Premix vitamina	0,45
Níveis calculados	
Proteína bruta	18,87
Energia metabolizável (Kcal/kg)	3010
Cálcio	1,03
Fósforo	0,62

TABELA II - Composição da ração de recria de reprodutoras pesadas para produção de pintos de corte

Ingredientes	%
Milho (fubá)	57,0
Farelo soja	18,7
Farelo trigo	19,5
Calcário	1,0
Fosfato Patos de Minas	3,0
Sal	0,3
Premix (vitaminas e minerais)	0,5
Níveis calculados	
Proteína bruta	16,36
Energia metabolizável (kcal/kg)	2671
Cálcio	1,09
Fósforo	0,74

A partir da 16a. semana do experimento houve troca da "cama" nos boxes que estavam excessivamente úmidos. Foi realizado uma debicagem quando as aves estavam com 30 dias de idade. Foram feitas também 2 vermifugações quando as aves estavam com 10 e 18 semanas de idade. O anti-helmíntico utilizado foi o mebendazole na dosagem de 30 gramas para cada 50 kg de ração por um período de 5 dias consecutivos.

Os pintos receberam no incubatório de origem as vacinas contra as doenças de Marek e Boubá Aviária. No decorrer do experimento foram realizadas as outras vacinações conforme o programa a seguir:

- 12 dias - Newcastle e Bronquite Infecciosa (via ocular)
- 17 dias - Gumboro - vírus vivo (via oral)
- 35 dias - Newcastle e Bronquite Infecciosa (aspersão)
- 10 semanas - Boubá Aviária (via intradérmica)
- 14 semanas - Newcastle e Bronquite Infecciosa (aspersão)
- 16 semanas - Encefalomielite Aviária (via oral)
- 22 semanas - Newcastle, Bronquite e Gumboro (vacina morta) - (via intramuscular)

### 3.7. Exames parasitológicos

Foram realizadas colheitas de fezes a partir da 4a. semana de idade das aves, visando verificar a presença de oocistos de Eimeria e a identificação das possíveis espécies existentes. Foram colhidas fezes recentes, diretamente da "cama" em 5 áreas determinadas nos boxes (nos quatro cantos e uma área central). As fezes foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas a 4°C por um período de 24 horas. Após este período foram examinadas.

O exame das amostras foi feito após concentração pelo método de flutuação centrífuga com solução açucarada de SHEATHER de acordo com a técnica descrita por LEVINE (1973).

As fezes foram preparadas para a esporulação adicionando-se 20 volumes de uma solução de bicromato de potássio a 2,5%, coando-se em peneira fina e distribuindo-se em placas de Petri. Estas foram mantidas à temperatura ambiente (22-25°C) por 2 semanas. Após este período, o material foi estocado a 4°C.

A identificação das espécies de Eimeria foi feita no Laboratório de Doenças Parasitárias da Escola de Veterinária da UFMG. Utilizou-se um microscópio Olympus com objetiva de 40 aumentos e ocular de 10 aumentos; sendo que as medidas foram tomadas utilizando-se uma ocular equipada com escala micrométrica. A medida do tamanho dos oocistos foi feita usando como parâmetro seu maior comprimento e maior largura. Foram examinados 50 oocistos esporulados, que foram mantidos em bicromato de potássio a 2,5%, e 50 oocistos provenientes do exame de raspado intestinal.

Utilizou-se critérios de microscopia micrométrica e morfológica, assim descritas: (1) forma e tamanho dos oocistos; (2) cor; (3) presença ou ausência de micrôpila; (4) presença ou ausência de resíduos nos oocistos; (5) presença ou ausência de grânulos polar; (6) presença ou ausência de resíduos nos esporocistos e suas características; (7) número de esporozoitos nos esporocistos (EDGAR & SEIBLOD, 1964; LEVINE, 1938; LONG et alii, 1976).

Outros critérios utilizados foram a localização e frequência das lesões, descrito por JOHNSON & REID (1970) e o encontro de formas evolutivas do parasito em exame a fresco do raspado da mucosa intestinal.

Foram realizadas 3 contagens de oocistos através da técnica de McMASTER modificadas por LEVINE (1978), quando as aves estavam na 14a., 15a. e 16a. semana de idade. Estas contagens foram feitas de um "pool" de fezes das repetições de cada programa.

### 3.8. Diagnóstico pós-mortem

Durante o experimento as aves mortas foram necrop -

siadas para verificar-se a presença de Eimeria. De todas as ne cropsias eram colhidos raspados de mucosa intestinal para possibilidade de diagnóstico laboratorial de Eimeria.

### 3.9. Preparo do inóculo

O inóculo foi preparado com oocistos recuperados das fezes, após a esporulação conforme especificado anteriormente. Este material sofreu um processo de lavagem através de centrifugação para a retirada do bicromato de potássio.

Efetuuou-se uma contagem do número de oocistos através da técnica de McMASTER modificada por LEVINE (1978), estabelecendo-se um inóculo misto de 100.000 oocistos por ml que foi estocado a 4°C por 24 horas, até o momento da inoculação.

### 3.10. Desafio à imunidade

Após 20 semanas de idade foi suspenso o uso do anti coccídico e as aves foram mantidas na cama, recebendo uma ração padrão não medicada, durante uma semana, para que pudessem eliminar os resíduos dos anticoccídicos. Metade das aves de cada repetição dos diversos programas foram escolhidas aleatoriamente, identificadas e inoculadas individualmente com uma dose de 100.000 oocistos de Eimeria. Estas aves foram mantidas em seus respectivos boxes e observadas diariamente por um período de 9 dias. Os parâmetros utilizados para determinar a proteção das aves à coccidiose, foram manifestações clínicas e mortalidade.

Um total de 5 pintos de corte da linhagem "Cobb" foram criados em baterias desde 1 dia até 3 semanas de idade, recebendo ração não medicada e água à vontade. Foram, então infectados com uma dose de 50.000 oocistos de Eimeria do mesmo inóculo que foi usado para desafiar as matrizes.

### 3.11. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente ao aca

so, constituído por 7 programas, cada um com 3 repetições. Os boxes foram sorteados e identificados de acordo com os programas propostos. Em cada boxe foi alojado 40 aves, distribuídos ao acaso, de acordo com os programas:

- Programa I - Controle (não medicado)
- Programa II - Arprinocid  
60 ppm de 0-20 semanas
- Programa III - Nicarbazina  
125 ppm de 0-20 semanas
- Programa IV - D.O.T.  
125 ppm de 0-20 semanas
- Programa V - Arprinocid  
60 ppm de 0-10 semanas  
45 ppm de 11-15 semanas  
30 ppm de 16-20 semanas
- Programa VI - D.O.T. e Nicarbazina  
D.O.T. - 125 ppm de 0-10 semanas  
Nicarbazina - 125 ppm de 11-20 semanas
- Programa VII - Arprinocid e Nicarbazina  
Arprinocid - 60 ppm de 0-10 semanas  
Nicarbazina - 125 ppm de 11-20 semanas



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os exames das amostras de fezes colhidas na 4a. semana de vida das aves, mostraram a presença de oocistos de Eimeria em todas as repetições dos diversos tratamentos. Este achado indicou que as aves tinham nesse período uma infecção de monstrosando a exposição natural dessas aves ao parasito.

O exame dos oocistos existentes revelou a presença de 4 espécies identificadas como: Eimeria tenella, Eimeria maxima, Eimeria acervulina e Eimeria necatrix.

Os resultados obtidos nas 3 contagens de oocistos, apresentados na TAB. III, mostram que houve um decréscimo do número de oocistos por grama de fezes em todos os programas à medida que as aves aumentavam a idade. Isto, provavelmente foi devido ao aumento da resposta imunológica que aumenta com a idade do hospedeiro de acordo com ROSE (1973). Realmente, observa-se que mesmo no programa I (controle) houve um decréscimo na incidência de oocistos nas fezes.

De acordo com os resultados apresentados na TAB. III, observou-se no programa II um oopg baixo em relação ao programa V. Provavelmente porque no programa II utilizou o arprinocid (60ppm) até 20 semanas, e nesse nível o produto reduz significativamente a esporulação dos oocistos e afetando também a produção dos mesmos. No período em que realizou-se a contagem o arprinocid no programa V estava sendo utilizado a nível de

TABELA III - Incidência de oocistos de Eimeria spp nas fezes de reprodutoras pesadas medicadas com Arprinocid, Nicarbazina e D.O.T.

Programas	Nº oocistos/grama/fezes		
	14a. semana	15a. semana	16a. semana
I	4.400	2.100	800
II	1.400	1.200	900
III	20.800	17.200	12.400
IV	7.500	7.100	6.700
V	36.400	32.300	25.000
VI	1.500	1.400	1.100
VII	34.100	29.700	23.300



45 ppm; de tal modo que diminuiu o efeito sobre a esporulação e a produção dos oocistos. Com isto, aumentando o número de formas infectantes (oocistos esporulados) na "cama" e permitindo às aves maior infecção.

O programa VII que utilizou o arprinocid (60 ppm - 0 a 10 semanas) apresentou um oopg alto; possivelmente devido ao fato de que no período da contagem já se utilizava a nicarbazina (125 ppm), que apesar do mecanismo de ação ser desconhecido provavelmente não afeta a esporulação com o arprinocid. Fato este reforçado pelo encontro de um oopg alto no programa III (nicarbazina 125 ppm - 0 a 20 semanas).

No programa VI encontrou-se um oopg baixo em relação ao programa III. Isto, possivelmente ocorreu devido que no programa VI utilizou-se o D.O.T. (125 ppm de 0 a 10 semanas), que apresenta mecanismo de ação sobre a esporulação e com isto diminuindo o nível de infecção. Achado este reforçado pelo resultado do programa IV (D.O.T. - 125 ppm - 0 a 20 semanas) que revelou um oopg baixo.

De acordo com as necrópsias realizadas no período de exposição ao parasito diagnosticou-se 3 casos de coccidiose isoladamente, dos seguintes programas: I, III e IV, sendo na 6a., 10a. e 5a. semanas de idade respectivamente.

À necrópsia constatou-se o comprometimento da região cecal, que mostrou-se aumentada de volume, com paredes espessadas e hemorragias petequiais disseminadas por toda extensão da mucosa, podendo ser observada inclusive pela serosa. À abertura verificou-se um espessamento da mucosa cecal que estava hemorrágica. A luz intestinal mostrava presença de sangue e coágulos sangüíneos. As demais áreas intestinais mostravam-se aparentemente normais. A nível laboratorial confirmou-se o diagnóstico observando formas evolutivas ao parasito, como merontes, merozoitos e oocistos.

A reposição da "cama" excessivamente úmida e a distribuição das aves em boxes, devem ter favorecido a exposição gradual das aves à ingestão de oocistos. Supõe-se que essa exposição gradual, juntamente com o uso dos anticoccídicos evitaram

o aparecimento de um surto de coccidiose nos lotes tratados e não tratados. Por outro lado, esses fatos devem ter facilitado estímulos imunogênicos suficientes para o desenvolvimento da imunidade, principalmente durante a restrição alimentar, quando as frangas aumentaram a ingestão de "cama" e conseqüentemente devem, neste período, ingerir maior número de oocistos.

No desafio observou-se que em todos os programas propostos, incluindo o controle, não houve mortalidade e nem manifestações clínicas da doença. Portanto, verificou-se o desenvolvimento de uma proteção ao inóculo utilizado, essa semelhante em todos os programas propostos desse experimento. Resultado este reforçado pelo teste de eficiência do inóculo que provocou a morte dos 5 pintos controles que foram infectados com 50.000 oocistos.

A proteção que se desenvolveu no programa I (controle), provavelmente deve-se a infecção moderada devido à exposição gradual das aves à Eimeria conforme já fora salientado. Fato este reforçado pela ocorrência de 1 único caso de coccidiose no controle.

O resultado do programa II e V, em que utilizaram o arprinocid a 60 ppm e em decréscimo de nível, foram semelhantes ao resultado encontrado por LONG et alii (1979). Embora aqueles autores tenham utilizado o arprinocid (20 ppm) durante 10 semanas em frangas criadas em "cama" e observado o desenvolvimento de imunidade. Isto, possivelmente porque o método e o período de exposição ao parasito utilizados nos programas II e V desse experimento, foram diferentes dos utilizados por aqueles autores. De tal modo que mesmo o arprinocid a 60 ppm reduzindo significativamente a esporulação dos oocistos e a produção, houve uma infecção suficiente para promover estímulo imunogênico. Por outro lado, no programa V o arprinocid em decréscimo de nível favoreceu uma melhor infecção, devido diminuir a ação sobre a esporulação e produção de oocistos. Fato este reforçado pelo encontro de um oopg alto (TAB.III). No entanto, os parâmetros utilizados foram diferentes; e talvez se nesse experimento tivesse utilizado outros parâmetros como ganho de peso

e contagem de lesões os resultados poderiam ser diferentes.

KARLSSON & REID (1978) e LONG et alii (1979) quando utilizaram o arprinocid a 70 e 50 ppm respectivamente, observaram que houve interferência no desenvolvimento da imunidade. Resultado este inferior ao do programa II e V deste experimento. Provavelmente devido a ação do arprinocid ao reduzir a esporulação e produção de oocistos tornando a exposição ao parasito, utilizada por aqueles autores, insuficiente para promover estímulos imunogênicos necessários para desenvolver imunidade protetora. Também deve-se considerar que os parâmetros utilizados foram diferentes. Por outro lado, KARLSSON & REID (1978) observaram que o grupo controle exposto a maior dose, 5.000 oocistos, resultou em imunidade protetora. Imunidade essa semelhante a proteção que se desenvolveu no grupo I desse experimento.

No programa III desse experimento utilizou-se a nicarbazina (125 ppm) durante 20 semanas, e o resultado foi similar ao encontrado por CUCKLER & MALANGA (1956). Esses autores observaram que aves medicadas com nicarbazina (125 ppm) desenvolveram uma imunidade que pareceu ser tão protetora quanto a que se desenvolveu no controle exposto não medicado. O resultado observado por aqueles autores no controle exposto não medicado foi similar ao do programa I desse experimento.

O resultado observado por CUCKLER et alii (1956) , mostrou que aves alimentadas com nicarbazina a 50 ou 100 ppm por 11 semanas, desenvolveram imunidade satisfatória. Este resultado foi semelhante ao do programa III desse experimento, embora tenha utilizado a nicarbazina (125 ppm) por 20 semanas. Isto provavelmente ocorreu devido que no programa III as aves estavam expostas ao parasito por um período maior e com isto houve estímulos imunogênico suficiente para desenvolver uma proteção adequada. Fato este reforçado pelo encontro de um oopg alto na 14a., 15a. e 16a. semana (TAB.III). Também deve-se considerar os parâmetros utilizados nesse experimento, que foram diferentes dos utilizados por aqueles autores.

O resultado do programa III está em acordo com o resultado encontrado por McLOUGHLIN et alii (1957) quando utili-

zaram nicarbazina (125 ppm) e observaram o desenvolvimento de imunidade tão protetora quanto a que se desenvolveu no controle exposto não medicado. Os resultados observados por aqueles autores no grupo controle exposto não medicado foi semelhante ao do programa I desse experimento. Salienta-se, todavia, que aqueles autores utilizaram além da mortalidade outros parâmetros com o ganho de peso e contagem de lesões.

O resultado encontrado no programa III está de acordo ao de McLOUGHLIN et alii (1958). Quando aqueles autores utilizaram a nicarbazina (125 ppm) e inocularam frangos com 5.000 oocistos em uma única vez ou 5 doses de 1.000 oocistos por dia; e observaram o desenvolvimento de uma imunidade satisfatória. Imunidade essa tão protetora quanto a que se desenvolveu nos respectivos grupos controles expostos não medicados. Portanto, o resultado do programa III foi superior ao encontrado por aqueles autores, quando utilizaram 500 oocistos como dose imunizante; e as aves desenvolveram uma imunidade inferior ao seu respectivo grupo controle exposto não medicado. Provavelmente, devido a uma exposição insuficiente ao parasito, aliada a ação do anticoccídico; pois quando usaram uma maior dose imunizante ou mesmo doses sucessivas resultou em imunidade protetora. A imunidade que desenvolveu nos controles expostos a maior dose imunizante, observada por aqueles autores, foi semelhante a observada no programa I. Quanto ao controle exposto a 500 oocistos, desenvolveu uma proteção inferior ao programa I.

No programa III, o resultado foi superior ao encontrado por KARLSSON & REID (1978), quando utilizaram a nicarbazina (125 ppm) e tiveram uma leve supressão da imunidade. Possivelmente, devido a Eimeria tenella ser pouco imunogênica (LONG & ROSE, 1982) e pela exposição ao parasito ter se tornado insuficiente na presença da nicarbazina para promover estímulo imunogênico; pois as aves do grupo controle exposto a 5.000 oocistos por dia desenvolveram imunidade protetora. Salienta-se, todavia, que aqueles autores, utilizaram parâmetros diferentes e também o tipo e período de exposição foram diferentes dos utilizados no programa III.

O resultado do programa I está de acordo com o resultado encontrado por KARLSSON & REID (1978), no controle exposto a 5.000 oocistos por dia, que desenvolveu uma imunidade protetora.

No programa IV o resultado foi similar aos resultados observados por KARLSSON & REID (1978); LONG et alii (1979) e SASMAL & SHARMA (1981). Esses autores observaram o desenvolvimento de imunidade protetora em aves medicadas com D.O.T (125 ppm). Embora aqueles autores tenham utilizados parâmetros diferentes e também o período de exposição ao parasito e o período de utilização do anticoccídico foram diferentes dos utilizados no programa IV desse experimento. Aquelles autores observaram o desenvolvimento de imunidade protetora nos controles expostos não medicados, resultado este semelhante ao do programa I.

O resultado do programa IV foi superior ao encontrado por SASMAL & SHARMA (1982); que observaram que houve interferência no desenvolvimento da imunidade nas aves medicadas com D.O.T. (125 ppm). Isto possivelmente porque aqueles autores consideraram como parâmetro ganho de peso e contagem de lesões. Pois, considerando-se o parâmetro mortalidade os resultados foram similares. O controle exposto não medicado desenvolveu uma imunidade protetora similar a do programa I desse experimento.

Não foram encontrados na literatura trabalhos nos quais tivessem sido utilizados anticoccídicos em programas alternados semelhantes aos programas VI e VII desse experimento. Verifica-se, todavia que o comportamento das aves desses programas, foram semelhantes aos programas I, II, III, IV e V.



## 5. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados sugerem que os programas utilizados não devem ter interferido no desenvolvimento de proteção das aves para a coccidiose. Os anticoccídicos utilizados parece ter prevenido o aparecimento de surto da doença nas condições em que foi realizado o experimento.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BORDIN, E.L. Eimeriose das aves. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 2., Fortaleza, 1980. Anais. Fortaleza, 1980. p.99-127.
2. BRAUNIUS, W.W. Coccidiosis in broilers: the effective use of anticoccidial drugs. World's Poultry Science Journal, Aylesbury, 38(3):176-85, 1982.
3. CHAPMAN, H.D. The effect of monensin on the immunity arising from repeated low-level infections with Eimeria maxima, E. brunetti and E. tenella. Avian Pathology, Houghton, 7(2):29-277, 1978.
4. CUCKLER, A.C. & MALANGA, C.M. The effect of nicarbazin on the development of immunity to avian coccidia. The Journal of Parasitology, Lawrence, 42(6):593-605, 1956.
5. CUCKLER, A.C.; MALANGA, C.M.; OTT, W.H. The antiparasitic activity of nicarbazin. Poultry Science, Champaign, 35(1):98-109, 1956.
6. DIOGO, M.R. Profilaxia da coccidiose aviária. Repositório de trabalhos do Instituto Nacional de Veterinária, Lisboa, v.13, 93-100, 1981.

7. EDGAR, S.A. & SEIBOLD, C.T. A new coccidium of chickens , Eimeria mivati sp.n. (Protozoa: Eimeriidae) with details of its life history. The Journal of Parasitology, Lawrence, 50(2):193-204, 1964.
8. JOHNSON, J. & REID, W.M. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. Experimental Parasitology, New York, 28(1):30-36, 1970.
9. JOYNER, L.P. The coccidiostatic activity of 3,5-dinitro - orthotoluamide against Eimeria tenella. Research Veterinary Science, London, 1(4):363-370, 1960.
10. JOYNER, L.P. & NORTON, C.C. The anticoccidial effects of amprolium, dinitolmide and monensin against Eimeria maxima, E. brunetti e E. acervulina with particular reference to oocyst sporulation. Parasitology, London, 75: 155-164, 1977.
11. KARLSSON, T. & REID, W.M. Development of immunity to coccidiosis in chickens administered anticoccidials in feed. Avian Diseases, College Station, 22(3):487-495, 1978.
12. LEVINE, N. Eimeria hagani n. sp. (Protozoa: Eimeriidae) a new coccidium of the chicken. Cornell Veterinarian, Ithaca, 28(4):263-267, 1938.
13. LEVINE, N.D. Protozoan parasites of domestics animals and of man. 22 ed. Burges, Minneapolis, 1973. 406p.
14. LEVINE, N.D. Text book of veterinary parasitology. Burges, Minneapolis, 1978, 236 p.
15. LONG, P.L.; JOYNER, L.P.; MILLARD, B.J.; NORTON, C.C. A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. Folia Veterinaria Latina, Milano, 6(3):201-217, 1976.



16. LONG, P.L.; MILLARD, B.J.; SMITH, K.M. The effect of some anticoccidial drugs on the development of immunity to coccidiosis in field and laboratory conditions. Avian Pathology, Houghton, 8:453-467, 1979.
17. LONG, P.L. & ROSE, M.E. Prospects for the control of coccidiosis by immunization. World's Poultry Science Journal, Aylesbury, 38(2):85-96, 1982.
18. LONG, P.L. New emerging coccidiostats are compared. Poultry Digest, Mt. Morris, 41(491):10-14, 1983.
19. MATHIS, G.F. & McDOUGALD, I.R. Drug responsiveness of field isolates of chicken coccidia. Poultry Science, Champaign, 61(1):33-45, 1982.
20. McDOUGALD, L.R. Chemotherapy of coccidiosis. In: LONG, P. L. The biology of the coccidia. Baltimore, University Park Press, 1982. p.373 a 427.
21. McLOUGHLIN, D.K.; RUBIN, R.; CORDARY, D.R. The development of immunity to cecal coccidiosis in the presence of nicarbazin. Poultry Science, Champaign, 36(5):1003-1005, 1957.
22. McLOUGHLIN, D.K.; RUBIN, R.; CORDRAY, D.R. Further studies on the development of immunity to cecal coccidiosis in the presence of nicarbazin. Poultry Science, Champaign, 37(4):813-816, 1958.
23. McLOUGHLIN, D.K. & WEHR, E.E. Stages in the life cycle of Eimeria tenella affected by nicarbazin. Poultry Science, Champaign, 39(3):534-538, 1960.
24. REID, W.M. The relationship between coccidiostats and poultry flock immunity in coccidiosis control programs. Poultry Science, Champaign, 39(6):1431-1437, 1960.

25. REID, W.M.; WOMACK, H.E.; JOHNSON, J. Coccidiosis susceptibility in layer flock replacement programs. Poultry Science, Champaign, 47(3):892-899, 1968.
26. REID, W.M. Coccidiostats versus immunity. Poultry Digest, Mt. Morris, 31(369):575-578, 1972.
27. ROBERSON, E.L. Antiprotozoan drugs. In: JONES, L. M.; BOOTH, N.H.; McDONALD, L.E. Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 4.ed. Ames. The Iowa State University Press, 1977. cap. 54, p.1079-1103.
28. ROSE, M.E. Immunity. In: HAMMOND, D.M. & LONG, P.L. The coccidia. Baltimore, University Park Press, 1973. cap. 8, 295-341.
29. RUFF, M.D. & CHUTE, M.B. Relationship of restricted feeding and medication to coccidiosis control. Poultry Science, Champaign, 59(4):697-701, 1980.
30. SANDA, A. Development of immunity to coccidiosis caused by Eimeria tenella in one-day-old chickens. Acta Veterinaria Brno, Prague, 46(3/4):311-314, 1977.
31. SASMAL, N.K. & SHARMA, N.N. The effect of anticoccidials on oocyst output of Eimeria tenella: post immunisation and post challenge. Indian Journal of Animal Health, Calcutta, 20(1):15-19, 1981.
32. SASMAL, N.K. & SHARMA, N.N. Effect of certain anticoccidials on the development of immunity against Eimeria tenella in chickens. Indian Journal of Animal Science, New Delhi, 52(8):678-681, 1982.
33. SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L.; KESSLER, R.H. Protozooses dos animais domésticos. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1980. p.204.
34. TAMAS, T.; OLSON, G.; SMITH, D.A.; MILLER, B.M. Effect of

- 6-amino-9- (substituted benzyl) purines on oocyst sporulation, Poultry Science, Champaign, 57(2):381-385, 1978.
35. TYZZER, E.E. Coccidiosis in galinaceous birds. American Journal of Hygiene, 10(2):269-382, 1929 apud: LONG, P.L. & ROSE, M.E. Prospects for the control of coccidiosis by immunization. World's Poultry Science Journal, Aylesbury, 38(2):85-96, 1982.
36. WANG, C.C.; SIMASHKEVICH, P.M.; STOTISH, R.L. Mode of anticoccidial action for arprinocid. Biochemical Pharmacology, Oxford (28):2241-2248, 1979a apud: LONG, P.L., ed The biology of the coccidia, Baltimore, University Park Press, 1982. p.403.
37. WANG, C.C.; TOLMAN, R.L.; SIMASHKEVICH, P.M.; STOTISH, R. L. Arprinocid on inhibitor of hypoxanthine guanine transport. Biochemical Pharmacology, Oxford, (28):2249-2260, 1979b apud: LONG, P.L., ed The Biology of the coccidia . Baltimore, University Park Press, 1982. p. 403.
38. WANG, C.C. & SIMASHKEVICH, P.M. A comparative study of the biological activities of arprinocid and arprinocid - 1-N-oxide. Biochemical Pharmacology, Oxford, (1):335-345, 1980. apud: LONG, P.L., ed The biology of the coccidia . Baltimore, University Park Press, 1982. p.403.
39. WANG, C.C.; SIMASHKEVICH, P.M.; FAN, S.S. The mechanism of anticoccidial action of arprinocid-1-N-oxide. The Journal of Parasitology, Lawrence, 67:137-149, 1981 apud: LONG, P.L., ed The biology of the coccidia. Baltimore, University Park Press, 1982. p.403.