

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

USO DA MONENSINA, SALINOMICINA E NICARBAZINA NO CONTROLE  
DA COCCIDIOSE EM REPRODUTORAS PESADAS PARA A  
PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE



José da Silva Guimarães Júnior

Belo Horizonte  
Minas Gerais  
1984

José da Silva Guimarães Júnior

1636.097 62  
637  
1984

USO DA MONENSINA, SALINOMICINA E NICARBAZINA NO CONTROLE  
DA COCCIDIOSE EM REPRODUTORAS PESADAS PARA A  
PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE



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

Área: Epidemiologia

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITARIA



000039718506

NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

103/194

Belo Horizonte

Minas Gerais

1984

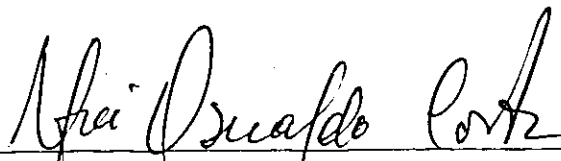


MG 174742

- G963u Guimarães Júnior, José da Silva, 1951-  
    Usos da monensina, salinomocina e micarbazina no controle da coccidiose em reprodutoras pesadas para a produção de frangos de corte. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1984.  
    33 p.  
    Tese, Mestre em Medicina Veterinária.  
    1. Coccidiose - Imunidade. 2. Frango de corte. 3. Anticoccídicos. I. Título.

CDD - 636.508 96

Aprovada em: 03 / 12 / 84



---

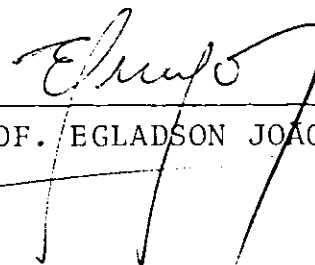
PROF. JOSÉ OSWALDO COSTA

- Orientador -



---

PROF. CELINA MARIA MODENA



---

PROF. EGLADSON JOAO CAMPOS

Dedico este trabalho à minha  
esposa Sueli, minhas filhas  
Ligia e Maysa, minha mãe  
Adeli e demais familiares  
pelo incentivo.

## AGRADECIMENTOS

Aos Professores José Oswaldo Costa, Egladson João Campos e Nelson Carneiro Baião, pela orientação e compreensão, fatores estes fundamentais para realização deste trabalho.

À Dra. Regina Maura Bueno Franco, pela identificação das espécies.

À Fundação Universidade Estadual de Maringá.

Ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva.

Aos Professores e aos colegas do curso de Pós-Graduação.

Aos Funcionários da Fazenda Experimental "Professor Hélio Barbosa" da Escola de Veterinária da UFMG.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela bolsa de estudos.

### BIOGRAFIA DO AUTOR

JOSÉ DA SILVA GUIMARÃES JÚNIOR, filho de José da Silva Guimarães e Adeli de Paiva Guimarães, nasceu em Anajás, Pará, aos 10 dias do mês de agosto de 1951.

Obteve o diploma de Médico Veterinário em 1978, pela Fundação Universidade Estadual de Londrina.

A partir de março de 1979 passou a integrar o corpo docente da Fundação Universidade Estadual de Maringá, onde atualmente é professor de Parasitologia Animal no curso de Zootecnia.

Em 1983, iniciou o curso de Mestrado na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, na área de Epidemiologia.



## RESUMO

Foi realizado um experimento com o objetivo de avaliar a eficiência dos anticoccídicos monensina, salinomicina e nicarbazina em diversas dosagens e combinações em programas de controle da coccidiose em matrizes pesadas para a produção de frangos de corte. Foram usados 720 pintos, fêmeas da linhagem Cobb com 1 dia de idade, alojados em um galpão cimentado com "cama" de cepilho de madeira e dividido em 18 boxes. A ração utilizada foi a convencional para cada período etário e os anticoccídicos foram usados em vários programas de controle da coccidiose assim descritos: I. Controle; II. Monensina 100 ppm (0-20 semanas); III. Salinomicina 60 ppm (0-20 semanas); IV. Monensina 100 ppm (0-10 semanas), 75 ppm (11-15 semanas) e 50 ppm (16-20 semanas); V. Salinomicina 60 ppm (0-10 semanas), 45 ppm (11-15 semanas) e 30 ppm (16-20 semanas); VI. Monensina 100 ppm (0-10 semanas) e Nicarbazina 125 ppm (11-20 semanas). A exposição à coccidiose 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 E. tenella, E. necatrix, E. acervulina e E. maxima. Um grupo de 5 aves criadas em bateria sem anticoccídicos recebeu 50.000 oocistos, cada uma, do mesmo inóculo; as aves inoculadas apresentaram sintomatologia clínica, mortalidade e lesões,



além de exames de laboratório que comprovaram a incidência de coccidiose. 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 programas usados parecem ter prevenido o aparecimento de surto da doença nas condições em que foi realizado o experimento.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Local.....	12
3.2. Instalações e equipamentos.....	12
3.3. Aves.....	12
3.4. Alimentação e manejo.....	13
3.5. Colheita de fezes, processamento e exame parasitológico.....	14
3.6. Diagnóstico pós-mortem.....	15
3.7. Preparação do inóculo.....	16
3.8. Procedimento de desafio à imunidade.....	16
3.9. Delimitação experimental.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
5. CONCLUSÕES.....	27
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

## LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA I - Composição da ração inicial para matrizes reprodutoras.....	18
TABELA II - Composição da ração de recria para matrizes reprodutoras.....	19
TABELA III - Incidência de oocistos de <u>Eimeria</u> spp em fezes recentes de reprodutoras pesadas medicadas com monensina, salinomícina e nicarbazina.....	21

## 1. INTRODUÇÃO

A coccidiose constitui-se ainda hoje, apesar de todos os progressos alcançados na profilaxia e terapêutica, em uma das principais doenças parasitárias da avicultura, sendo preocupação dominante de todos aqueles que, de algum modo estão ligados aos problemas das explorações avícolas (BORDIN, 1980; DIOGO, 1981).

A busca de altos índices de produtividade está comumente aliada a alta densidade populacional e à utilização intensiva das instalações favorecendo a contaminação ambiental e aumentando, dessa maneira, o risco de infecção; tais condições, podem modificar a susceptibilidade das aves e provocar "estresse" na criação (NACIRI et alii, 1982).

O controle eficiente da coccidiose é imprescindível para atingir-se níveis econômicos de produção. Este controle dependia do uso de receitas alquímicas tais, como vinagre, leite desnatado, enxofre e outras substâncias, além de manejo onde evitava-se o contato das aves com as fezes, tentando-se, dessa maneira evitar a possível infecção (RYLEY & BETTS, 1973).

REID (1975) define o termo anticoccídico como sendo todo medicamento que atue contra Eimeria spp. A ação poderá ser tanto coccidiostática (inibindo o desenvolvimento do parasito) como coccidicida (destruindo o parasito).

Drogas anticoccídicas são utilizadas em rações de aves desde a introdução das sulfonamidas em 1940, e seu uso

tem prevenido perdas econômicas provocadas pela doença (BRAU - NIUS, 1982; MATHIS & McDOUGALD, 1982) advindo então, extraordinário desenvolvimento no controle da coccidiose. O custo no controle da coccidiose principalmente na aquisição de drogas e fetivas para o controle da doença nos Estados Unidos da América gira ao redor de 50 a 60 milhões de dólares, sendo o gasto mundial de aproximadamente 200 milhões de dólares (LONG, 1983). Estima-se que no Brasil, em 1974, foram gastos em anticoccídicos cerca de 26 milhões de cruzeiros (SILVA et alii, 1980).

Embora já demonstrada por JOHNSON (1927) e confirmada por TYZZER et alii (1932) e DICKINSON (1941) a imunidade para coccidiose tem constituído assunto de grande interesse em trabalhos publicados recentemente. Tal interesse é devido a dificuldade na descoberta de novos anticoccídicos além do desenvolvimento de resistência aos existentes; também motivou este interesse os recentes avanços conseguidos pela Imunologia na área da Parasitologia (SANDA, 1977).

O uso de anticoccídicos em poedeiras, sejam elas reprodutoras ou para a produção de ovos destinados ao consumo, não é tão universal como em frangos. Como o período de vida dessas aves é maior, geralmente é feito um esforço para estabelecimento natural da imunidade por razões de segurança e economia (ROBERSON, 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 anticoccídicos para proteção durante o período de crescimento; as drogas utilizadas, controlam a infecção permitindo o desenvolvimento de uma imunidade que perdure durante todo o período de produção (REID et alii, 1968; RUFF & CHUTE, 1980).

A maioria de drogas anticoccídicas permite uma infecção controlada proporcionando desenvolvimento de uma sólida imunidade no lote (REID, 1972). A redução no nível do medicamento na ração usualmente permite maior infecção da ave, agilizando o desenvolvimento da imunidade (REID, 1972). Por outro lado o "programa alternado" visa reduzir ao mínimo os riscos

da ocorrência de coccidiose, reunindo as melhores características de cada anticoccídico. Entretanto, à nível de campo tem-se observado frequentemente que a utilização de drogas anticoccídicas durante o período de crescimento não vem proporcionando o desenvolvimento de grau satisfatório de imunidade, tornando as aves susceptíveis quando suspenso o uso dessas drogas às 20 semanas de idade, quando se inicia o ciclo de postura. Consequentemente, por estarem susceptíveis à infecção tem-se verificado surtos de coccidiose com grandes prejuízos econômicos para o criador.

Assim, torna-se justificável avaliar a eficiência dos diversos produtos comerciais ou combinação dos mesmos (programa alternado) em dosagens convencionais e modificadas, de modo a assegurar imunidade satisfatória quando suspensa a medicação após a 20a. semana de vida das aves.

O experimento teve como objetivo a avaliação da eficiência dos anticoccídicos monensina, salinomycin e nicarbazina em programas de controle da coccidiose em matrizes pesadas para a produção de frangos de corte.



## 2. REVISÃO DA LITERATURA

De acordo com LONG & ROSE (1982) a Eimeria tenella e Eimeria necatrix são as espécies mais patogênicas para as aves, apresentando imunogenicidade mínima. As espécies mais imunogênicas são a Eimeria maxima e Eimeria brunetti; a Eimeria acervulina ocupa posição intermediária. Contudo, todas as espécies são capazes de induzir efetiva imunidade para reinfecção, especialmente quando oocistos são ingeridos em pequeno número por vários dias consecutivos.

Segundo ROSE (1973) a resposta imunológica aumenta com a idade do hospedeiro. Além disso, os anticoccídicos diferem quanto ao modo de ação e efeito sobre os estágios do ciclo de vida dos parasitos, os quais eles podem inibir ou destruir, retardando ou permitindo o desenvolvimento da imunidade (REID, 1960; 1975). Portanto, a escolha do produto é essencial, permitindo à ave o desenvolvimento de um certo grau de imunidade antes do início do período de postura (SASMAL & SHARMA, 1982).

A monensina é um produto de fermentação (metabólito produzido durante o crescimento do Streptomyces cinnamomensis (ROBERSON, 1977). Foi introduzida nos Estados Unidos em 1971, sendo o primeiro antibiótico comercializado exclusivamente como anticoccídico (LONG & ROSE, 1982). Pertence ao grupo dos antibióticos polietéres ionofóricos os quais ocupam cerca de

80% do mercado norte americano (McDOUGALD, 1982). O temro iono fórico é utilizado para caracterizar sua habilidade em formar complexos com íons sódio e potássio; parece que o composto age na membrana da Eimeria causando grande aumento no transporte de íons sódio, elevando os níveis de sódio intracelular e por conseguinte, enfraquecendo o transporte eletroquímico desse cation na membrana SMITH & STROUT (1979), SMITH et alii (1981) In: LONG (1983).

LONG & JEFFERS (1982) In: LONG (1983) descobriram que a monensina afeta esporozoitos e merozoitos. Por outro lado observaram ainda, em dados obtidos no campo que o produto impede o empenamento normal, mas melhora o ganho de peso e conversão alimentar. A monensina tem ação coccidicida não afetando, como os demais ionofóricos a esporulação.

A salinomicina (AHR-3096), outro componente do grupo dos antibióticos ionofóricos, foi isolada no Japão a partir de uma cultura de Streptomyces albus (KINASHI et alii, 1973); exerce seu efeito na célula parasita a nível de transporte de cátions, como a monensina (BRAUNIUS, 1982). De acordo com CHAPPEL (1979) a ação da salinomicina é coccidicida atuando sobre esporozoitos e esquizontes, não afetando a esporulação.

A nicarbazina é um complexo molecular da 4,4 dinitrocarbanilida (DNC) e 2-hidroxi-4,6-dimetilpirimidina (HDP). A DCN é absorvida mais rapidamente porém desaparece mais lentamente dos tecidos. A ausência de lesões utilizando esta droga, associada a quase total ausência de resistência, como comprova LONG (1982), tem favorecido sua indicação como anticoccídico. Segundo McLOUGHLIN & WEHR (1960) e ROBERSON (1977) a nicarbazina atua sobre a segunda geração esquizonte. BORDIN (1980) descreve ainda a atuação da droga sobre primeira geração esquizonte e merozoito. O modo de ação bioquímica sobre o parasito é desconhecido, segundo ROBERSON (1977). A nicarbazina foi introduzida no mercado em 1955, sendo utilizada até esta época, especialmente em programas alternados.

JOYNER & NORTON (1976) em ensaios com pintos criados em bateria livres de ração medicada, inoculou essas aves





com doses diárias de 1 ou 5 oocistos de Eimeria maxima por 20 dias consecutivos; um segundo lote recebeu doses de 5 ou 50 oocistos homólogos em uma única dose; ao 21º dia do experimento ambos os lotes foram desafiados com 320.000 oocistos/ave da mesma amostra. Os resultados obtidos demonstraram que a imunidade provindo de inoculações múltiplas foi mais consistente e duradoura do que a proveniente de inoculações em dose única.

REID et alii (1972) usaram a monensina em frangos criados em "cama" contaminada previamente por aves semeadoras, as quais tinham sido inoculadas com oocistos de E. acervulina, E. brunetti, E. maxima, E. necatrix, E. tenella e E. mivati. Os frangos receberam na ração um nível de 121 ppm de monensina do 1º dia de idade até 8 semanas; em seguida foram remanejados para a bateria onde receberam ração não medicada por um período de 10 dias; após, foram desafiados com estas 6 espécies de Eimeria em inóculos purificados. A imunidade foi demonstrada por ausência de lesões e a não perda de peso após o desafio, exceção feita para E. necatrix; a ausência de imunidade a esta espécie foi atribuída à interferência da monensina, no nível de 121ppm, sobre a produção de oocistos.

CALLENDER & SHUMARD (1973) trabalhando com frangos, expostos a cama contaminada, medicados com níveis de 121, 90, 60 ou 0 ppm de monensina e após desafiados com amostras homólogas, obtiveram desenvolvimento de imunidade à E. maxima e E. brunetti, porém essas aves permaneceram susceptíveis à E. tenella e E. necatrix, independente dos níveis de anticoccídico usado.

REID et alii (1977) utilizaram frangas criadas sobre "cama" até 20 semanas, medicadas durante este período com níveis de 120, 60 ou 0 ppm de monensina. A exposição foi feita por "aves semeadoras", as quais tinham sido inoculadas com oocistos de E. acervulina, E. brunetti, E. maxima, E. tenella, E. necatrix e E. mivati, quando as frangas completaram 3 semanas de idade. As aves foram retiradas para desafio à 5, 8, 14 e 20 semanas de idade; utilizou-se como parâmetros a contagem de lesões, mortalidade e ganho de peso. Os resultados obtidos

demonstraram que a imunidade desenvolveu mais rapidamente no grupo que recebia inicialmente 100 ppm de monensina.

KARLSSON & REID (1978) trabalharam com frangos criados em bateria até 2 semanas de idade recebendo ração não medicada; em seguida estas aves passaram a receber doses inoculantes diárias de 50, 500 e 5000 oocistos esporulados de Eimeria tenella por um período de 15 dias, enquanto medicadas com 100 ou 121 ppm de monensina; as aves foram desafiadas 13 dias após a suspensão do tratamento com um inóculo contendo 400.000 oocistos de Eimeria tenella de amostra homóloga; os parâmetros usados pelos autores para julgar imunidade foram a mortalidade, contagem de lesões e ganho de peso 7 dias após o desafio. Observaram como resultados que a maior dose (5.000 oocistos) resultou em total imunidade no grupo controle. Quanto à imunidade nos grupos medicados, observaram que nível de 100 ppm concedeu satisfatória imunidade; no entanto, quando utilizaram a monensina à 121 ppm a imunidade foi totalmente suprimida.

LONG et alii (1979) criaram galinhas do 1º dia até 14 semanas de idade, período no qual receberam ração contendo 45 ppm de monensina. A exposição ocorreu naturalmente com os oocistos sendo detectados pela primeira vez nas fezes quando as aves estavam com 3 semanas de idade; um segundo grupo de aves foi criado em uma unidade experimental sobre "cama" recebendo 125 ppm do 1º dia de vida até 14 ou 20 semanas de idade numa tentativa para mantê-los livres de coccidiose, este grupo foi denominado de grupo controle. O inóculo para desafio foi preparado com oocistos recuperados da "cama" das aves expostas; todas as aves foram desafiadas na 14a. ou 20a. semana de idade, com os seguintes inóculos: 1 - 40.000 oocistos de Eimeria acervulina; 2 - 50.000 oocistos de Eimeria tenella; 3 - 10.000 oocistos de Eimeria maxima / Eimeria mivati e 170.000 oocistos de Eimeria tenella; 4 - 50.000 oocistos de Eimeria brunetti e 400.000 oocistos de Eimeria acervulina / Eimeria mivati. As aves distribuídas em grupos de 8, receberam um ou outro inóculo desafio.

Os resultados obtidos mostraram que as aves desa-

fiadas com 14 semanas de idade recebendo 45 ppm monensina, estavam completamente imunes ao desafio; por outro lado os resultados encontrados com as aves desafiadas à 20 semanas de idade demonstraram completa imunidade. O grupo controle que recebeu 125 ppm de monensina até 14 ou 20 semanas foi completamente susceptível aos inóculos.

SASMAL & SHARMA (1982) trabalharam com frangos criados em bateria utilizando a monensina a 121 ou 100 ppm; as aves foram inoculadas com oocistos de Eimeria tenella em dose de 50.000 oocistos, quando completaram 28 dias de idade; a medicação com estes 2 níveis de monensina foi iniciada 48 horas antes da inoculação e mantida por 7 adicionais dias; decorrido 14 dias após a inoculação foram então desafiadas com 100.000 oocistos homólogos. Os parâmetros utilizados para comparar imunidade foram mortalidade, ganho de peso, contagem de lesões e oocistograma. Os autores observaram melhor imunidade nas aves que receberam ração medicada com 100 ppm de monensina. O grupo controle também foi completamente imune ao desafio, demonstrado por ausência de mortalidade.

KARLSSON & REID (1978) trabalharam com frangos criados em bateria até 2 semanas de idade recebendo ração não medicada; em seguida essas aves passaram a receber doses diárias de 50, 500 ou 5.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella por um período de 15 dias, enquanto medicadas com 80 ppm de salinomicina; as aves foram desafiadas 13 dias após a suspensão do tratamento com um inóculo contendo 400.000 oocistos de Eimeria tenella de amostra homóloga. Os parâmetros usados pelos autores para julgar imunidade foram a mortalidade, contagem de lesões e ganho de peso de 7 dias após o desafio. Concluíram que a salinomicina à 80 ppm suprimiu a imunidade.

CHAPPEL & BABCOCK (1979) conduziram experimento com frangos criados sobre "cama" contaminada previamente com oocistos de E. tenella, E. acervulina, E. maxima, E. brunetti, E. necatrix e E. mivati. Durante todo o período experimental (8 semanas) as aves receberam nível de 60 ppm de salinomicina na ração; os parâmetros usados pelos autores foram mortalidade ,

ganho de peso e conversão alimentar. Os resultados obtidos demonstraram completa proteção à coccidiose, com ausência de mortalidade e mínimas lesões no grupo tratado com 60 ppm de salinomomicina; o grupo controle foi susceptível à doença.

YVORÉ et alii (1980) trabalharam com frangos criados em bateria com o objetivo de avaliar a eficácia da salinomomicina em doses de 60 e 80 ppm administradas durante todo o ciclo de vida dessas aves (56 dias); ao completarem 13 dias de idade receberam alimento contaminado com oocistos esporulados de E. tenella, E. acervulina e E. necatrix por um período de 5 dias; cada 50 aves recebeu uma média diária de 15.000 oocistos de E. tenella, 100.000 oocistos de E. acervulina e 20.000 oocistos de E. necatrix. Os efeitos do parasitismo foram avaliados 7 e 14 dias após o início da infecção, utilizando os autores como critérios, a contagem de lesões, hematócrito, densidade óptica do soro por leitura direta a 480nm. e ganho de peso. Os resultados obtidos confirmaram a indicação de 60 ppm de salinomomicina para frangos, devido sua ótima performance e controlada coccidiose. O grupo controle permaneceu susceptível à coccidiose.

CUCKLER & MALANGA (1956) desenvolveram uma série de 3 ensaios com frangos criados em bateria, visando testar o desenvolvimento de imunidade nestas aves contra coccidiose. Os frangos foram expostos ao parasito na 3a. semana de idade pela via oral; no ensaio 1 os frangos foram inoculados com oocistos esporulados de Eimeria tenella em uma única dose de 50.000 oocistos ou em doses diárias de 2.000 ou 10.000 por um período de 5 dias; no ensaio 2, as aves receberam oocistos esporulados de Eimeria necatrix nas mesmas dosagens do ensaio 1; para o ensaio 3 utilizaram oocistos esporulados de Eimeria acervulina em uma única dose de 500.000 ou doses diárias de 4.000, 20.000 ou 100.000 oocistos por um período de 5 dias consecutivos. A ração medicada com 125 ppm de nicarbazina foi introduzida no dia anterior à inoculação e mantida por um período de 15 dias; decorrido um período de 21 dias após a inoculação os frangos dos ensaios 1, 2 e 3 foram desafiados com 100.000 oocistos de Ei-

meria tenella, 50.000 oocistos de Eimeria necatrix e 1.000.000 de oocistos de Eimeria acervulina respectivamente. Os resultados obtidos demonstraram que a nicarbazina (125 ppm) reduziu significativamente as lesões causadas pelas Eimerias e que satisfatória imunidade desenvolveu em todos os experimentos; a imunidade obtida nessas aves foi similar à desenvolvida nos grupos controle. Os parâmetros usados pelos autores foram contagem de lesões, oocistograma, ganho de peso e mortalidade.

CUCKLER et alii (1956) criaram 2 lotes de frangos até 11 semanas de idade sobre "cama", período no qual recebiam ração medicada com níveis de 50 ou 100 ppm de nicarbazina. As aves foram expostas a 40.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella na 3a. semana de idade, através da água de bebida; com 12 semanas de idade estas aves foram desafiadas com 100.000 oocistos esporulados homólogos. Concluíram os autores que os níveis de 50 e 100 ppm de nicarbazina, administrados continuamente permitiram desenvolvimento de imunidade, não havendo evidência de lesão cecal ou mortalidade, inclusive nos grupos controle. Os parâmetros utilizados foram: contagem de lesões e mortalidade.

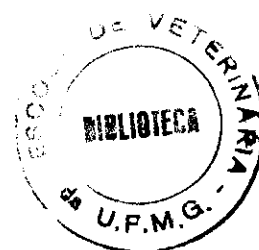
Ainda CUCKLER et alii (1956) trabalharam com frangos criados em bateria com o objetivo de avaliar a eficácia da nicarbazina em diferentes dosagens; foram utilizados níveis variando de 50 e 200 ppm de nicarbazina na ração; as aves passaram a receber as rações medicadas quando completaram 3 semanas de idade sendo alimentadas por um período de 7 dias; foram inoculadas 24 horas após o início da medicação com uma dose de 50.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella via oral; no 8º dia do teste as aves sobreviventes foram pesadas, sacrificadas e avaliadas lesões cecais e número de oocistos. Os resultados obtidos pelos autores demonstraram melhor eficácia e desempenho quando utilizado para aves em bateria níveis de 120 à 150 ppm de nicarbazina.

McLOUGHLIN et alii (1957) trabalharam com frangos de 3-4 semanas de idade em bateria, separados em 3 grupos; o grupo 1, como controle, exposto não medicado, foi inoculado com

50.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella; grupo 2, exposto e medicado com 125 ppm de nicarbazina, recebeu a mesma dose de oocistos do grupo 1; esta medicação foi introduzida 24 horas antes da inoculação e mantida por 7 adicionais dias; o grupo 3 funcionou como controle não exposto e não medicado. Decorrido um período de 3 semanas após a inoculação todos os grupos foram desafiados; os grupos 1 e 2 com 100.000 oocistos e o grupo 3 com 50.000 oocistos de Eimeria tenella.

Os resultados obtidos demonstraram taxas de sobrevivência de 98%, 97% e 51% respectivamente; os autores concluíram que a nicarbazina não interferiu com o desenvolvimento da imunidade e teve ação profilática; a imunidade desenvolvida no grupo 2 pareceu ser tão protetora quanto a obtida no grupo 1. Os parâmetros usados foram mortalidade, ganho de peso e contagem de lesões.

KARLSSON & REID (1978) trabalharam com frangos criados em bateria até 2 semanas de idade recebendo, nesse período, ração não medicada; em seguida as aves passaram a receber doses inoculantes diárias de 5.000 oocistos esporulados de Eimeria tenella por 15 dias consecutivos, enquanto medicadas com 125 ppm de nicarbazina; as aves foram desafiadas 13 dias após a suspensão do medicamento com um inóculo contendo 400.000 oocistos homólogos. Os parâmetros usados pelos autores para julgar imunidade foram: mortalidade, ganho de peso 7 dias após o desafio e contagem de lesões. Observaram como resultado que a nicarbazina a 125 ppm apenas suprimiu levemente a imunidade.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local

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

#### 3.2. Instalações e equipamentos

Utilizou-se um galpão convencional de alvenaria medindo 50 metros de comprimento por 10 metros de largura com piso de cimento, dividido em 18 boxes em estrutura metálica; cada boxe foi equipado com 1 bebedouro automático e 2 comedouros, ambos tipo "pendular". Para a "cama" foi utilizado cepilho de madeira, novo; galpão foi previamente desinfetado com solução de formol à 3%.

#### 3.3. Aves

Foram utilizados 720 pintos matrizes, fêmeas de 1 dia de idade, da linhagem Cobb os quais foram mantidos em "cama", continuamente por todo o período experimental, ou seja, 22

semanas.

### 3.4. Alimentação e manejo

Foram utilizadas rações convencionais para as fases inicial (TAB. I) e de recria (TAB. II); em ambos os tipos de ração foram acrescentada monensina, salinomicina e nicarbazina, de acordo com os seguintes programas:

- I - Controle
- II - Monensina  
100 ppm (0-20 semanas)
- III - Salinomicina  
60 ppm (0-20 semanas)
- IV - Monensina  
100 ppm (0-10 semanas)  
75 ppm (11-15 semanas)  
50 ppm (16-20 semanas)
- V - Salinomicina  
60 ppm (0-10 semanas)  
45 ppm (11-15 semanas)  
30 ppm (16-20 semanas)
- VI - Monensina e Nicarbazina (programa alterna - do)  
Monensina  
100 ppm (0-10 semanas)  
Nicarbazina  
125 ppm (11-20 semanas)

As rações foram distribuídas através de um programa de restrição diária como sendo controlada a partir da 6a. semana de idade até 20 semanas.

A água foi fornecida através de bebedouros tipo "copo pressão" nas 2 primeiras semanas, sendo também substituídas por bebedouros automáticos pendulares.

As aves foram debicadas no 30º dia de idade utilizando-se um debicador elétrico.

Durante o período experimental foram realizadas as



vacinações indicadas para matrizes reprodutoras conforme o calendário assim elaborado:

- 12 dias - Newcastle e Bronquite Infecciosa (via ocular).
- 17 dias - Gumboro-vírus vivo (via oral através da água de bebida).
- 35 dias - Newcastle e Bronquite Infecciosa (nebulização).
- 10 semanas - Boubá Aviária (via intradérmica)
- 14 semanas - Newcastle e Bronquite Infecciosa (nebulização).
- 16 semanas - Encefalomielite Aviária (via oral através da água de bebida).
- 22 semanas - Newcastle, Bronquite Infecciosa e Gumboro - vacinas mortas (via intramuscular).

Foi também administrado antihelmíntico 2 vezes (10 e 18 semanas de idade respectivamente). O antihelmíntico utilizado foi o Mebendazol (TOANAVE) na dose de 30g para cada 50 kg de ração por 5 dias consecutivos.

### 3.5. Colheita de fezes, processamento e exame parasitológico

Foram realizadas colheitas de fezes a partir da 4a. semana do experimento, objetivando-se detectar a presença de oocistos de Eimeria no ambiente bem como a identificação das espécies existentes. As fezes foram colhidas diretamente da "cama" estabelecendo-se como delimitações os quatro cantos de cada "boxe" e sua área central onde localizava-se o bebedouro. Estas colheitas detiveram-se apenas a material fecal recentemente eliminado pelas aves. Em seguida as fezes foram acondicionadas em sacos plásticos ou vidros de boca larga e identificadas sendo posteriormente armazenadas à 4°C.

As amostras de fezes foram examinadas para presença de oocistos de Eimeria, após terem sido concentradas através de flutuação centrífuga em solução açucarada de SHEATHERS,

conforme descrito por LEVINE (1973); parte deste material foi misturado a 10-20 volumes de solução de bicromato de potássio 2,5% e estendida em fina camada, em placas de Petri, sendo mantidas em temperatura ambiente (22-25°C) por 1 a 2 semanas para esporular; após este período foram armazenadas à temperatura de 4°C.

Foram realizados oocistogramas através do método de McMASTER modificado por LEVINE (1978) quando as aves estavam com 14, 15 e 16 semanas de idade. Misturas de fezes de aves de cada tratamento foram feitas após colheita do material fecal sobre as "camas" e usadas para essas dosagens.

A identificação das espécies foi feita no Laboratório de Doenças Parasitárias da Escola de Veterinária da UFMG, utilizando-se microscópio Olympus com objetiva de 40X, sendo a mensuração executada com um micrometro calibrado; a medida do tamanho do oocisto foi feita utilizando-se como parâmetros seu maior comprimento e largura. Foram examinados 50 oocistos esporulados e 50 oocistos provenientes do exame a fresco de "raspado" intestinal.

Utilizou-se como critérios de microscopia, aspectos micrométricos e morfológicos descritos por LEVINE (1938); EDGAR & SEIBOLD (1964) e LONG et alii (1976) como segue: (1) forma e tamanho dos oocistos; (2) cor; (3) presença ou ausência de micrôpila; (4) presença ou ausência de resíduos no oocisto; (5) presença ou ausência de granulo polar no oocisto; (6) presença ou ausência de resíduos nos esporocistos e suas características; (7) número de esporozoitos nos esporocistos.

Outros critérios usados foram a localização e frequência da lesão, descrito por JOHNSON & REID (1970) e a detecção de formas evolutivas do parasito em exame a fresco do "raspado" da mucosa intestinal.

### 3.6. Diagnóstico pós-mortem

Durante a fase experimental todas as aves mortas foram necropsiadas visando a possível detecção de coccidiose .

Associou-se os achados macroscópicos à diagnóstico laboratorial o qual foi feito através de raspados de mucosa onde observou-se a possível presença de formas evolutivas do parasito. Este material foi examinado entre lâmina e lamínula ao microscópio ótico, utilizando-se as objetivas de 10 e 40 X.

### 3.7. Preparação do inóculo

Procedeu-se a preparação do inóculo a partir de oocistos previamente esporulados em placas de Petri. Este material foi submetido a um processo de sucessivas lavagens com água, através de centrifugação, com o objetivo de dissociar os oocistos do bicromato de potássio; em seguida, eles foram concentrados em centrífuga (4.000g), procedendo-se então a contagem de oocistos segundo a técnica de McMASTER modificada por LEVINE (1978).

Obteve-se um inóculo misto de 100.000 oocistos por mililitro contendo as espécies E. tenella, E. necatrix, E. acervulina e E. maxima, o qual foi designado como dose padrão de desafio para todas as aves do experimento. Este material foi identificado e mantido em frascos de vidro à 4°C.

### 3.8. Procedimento de desafio à imunidade

Completada as 20 semanas de idade com uso de rações medicadas com anticoccídicos, as aves foram alimentadas com ração básica não medicada, durante 1 semana, com o objetivo de eliminar-se resíduos dos diferentes anticoccídicos do organismo das mesmas. Decorrido este período, foram designadas aleatoriamente 50% das aves de cada repetição, para serem desafiadas.

Procedeu-se a inoculação individualmente, utilizando-se seringa plástica graduada em 5 ml, sendo o inóculo administrado diretamente por via oral. Essas aves foram mantidas com as demais não desafiadas em seus respectivos boxes, após prévia identificação.

Foi feito acompanhamento clínico diariamente por



um período de 9 dias após a inoculação, onde observou-se mais atentamente o aspecto das fezes, comportamento das aves e possíveis alterações no consumo de água e ração.

Para identificar as aves imunes ou não imunes foram utilizados sintomas clínicos de coccidiose e a possível mortalidade atribuída a esta doença.

Para testar a capacidade de infecção do inóculo desafio, utilizou-se 5 pintos machos da mesma linhagem com 3 semanas de idade, criados em bateria e alimentados com ração não medicada; essas aves foram inoculadas cada uma, com 50.000 oocistos contendo E. tenella, E. necatrix, E. acervulina e E. maxima, provenientes do inóculo preparado para desafio das matrizes reprodutoras. Os pintos foram observados por um período de 8 dias; os sobreviventes e mortos, no decorrer deste período, foram necropsiados, visando-se constatação de possíveis lesões decorrentes de coccidiose.

### 3.9. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com 3 repetições de 40 fêmeas, totalizando 120 fêmeas por programa.

TABELA I - Composição da ração inicial para matrizes reprodutoras

Ingredientes	%
Milho	70,1
Soja	22,4
Carne	6,0
Calcário	0,7
Sal	0,25
Premix mineral	0,1
Premix vitamina	0,45

TABELA II - Composição da ração de recria para matrizes reprodutoras

Ingredientes	%
Milho	57,0
Soja	18,7
Trigo	19,5
Calcário	1,0
Fosfato	3,0
Sal	0,3
Premix	0,5

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame parasitológico realizado a partir da 4a. semana do experimento apresentou resultado positivo para a presença de oocistos em todas as aves das diversas repetições dos respectivos programas. Esse resultado foi igualmente obtido nos exames parasitológicos seguintes demonstrando, dessa maneira, a precoce exposição das aves à Eimeria spp.

Os resultados obtidos com os 3 oocistogramas realizados são apresentados na TAB. III.

Comparando-se os resultados das contagens da TAB. I, a incidência de oocistos de Eimeria spp nas fezes decresceu em todos os programas à medida que as aves aumentavam a idade. Este fato pode estar ligado ao aumento do grau de imunidade que pode ocorrer à medida que as aves se tornam mais adultas (ROSE, 1973). Reitera-se esta suposição, observando-se que mesmo no programa I (grupo controle), a incidência de oocistos nas fezes decresceu.

Como resultado da classificação de coccídios existentes, foram identificadas as seguintes espécies de Eimeria: E. tenella, E. necatrix, E. acervulina e E. maxima.

Durante a fase em que os anticoccídicos estavam sendo administrados foram diagnosticados 3 casos de coccidiose, isoladamente. Essas aves estavam com 6, 12 e 13 semanas de idade e pertenciam aos programas I, III e IV respectivamente. Esse fato permitiu concluir que as aves estavam expostas ao para

TABELA III - Incidência de oocistos de Eimeria spp em fezes recentes de reprodutoras pesadas medicadas com monensina, salinomocina e nicarbazina

Nº do programa	Nº oocistos/grama/fezes		
	14a. semana	15a. semana	16a. semana
I	4.400	2.100	800
II	2.200	700	400
III	500	300	200
IV	5.500	5.200	4.700
V	1.600	1.500	1.100
VI	7.100	7.000	6.500



sito nesse período.

Procedendo-se à necropsia dessas aves observou-se como achados macroscópicos o comprometimento da região cecal com aumento de volume, parede espessada e hemorragias petequiais disseminadas por toda a extensão da parede, vistas através da serosa; mesmo ao exame macroscópico a luz intestinal apresentou um espessamento da mucosa cecal, que mostrava-se hemorrágica, incluindo a presença de coágulos sanguíneos; o intestino delgado apresentou-se com aspecto aparentemente normal. Esses achados identificaram a espécie de Eimeria tenella como responsável pela mortalidade.

Ao exame microscópico foram encontradas formas assexuadas do parasito, predominantemente merontes; além disso, foram identificados oocistos de Eimeria spp.

Como resultado do desafio à possível imunidade desenvolvida, observou-se em todos os programas propostos a ausência de sintomatologia clínica e mortalidade devido à coccidiose, o que parece significar que houve proteção ao inóculo utilizado. A imunidade desenvolvida pelo controle (Programa I) possivelmente ocorreu em virtude de exposição moderada às espécies de Eimeria que deve ter promovido estímulos imunogênicos suficientes para o desenvolvimento de imunidade. O fato das aves estarem separadas em boxes cujas "camas" eram mudadas quando ficavam excessivamente úmidas deve também ter facilitado a contaminação moderada. Todavia, o aparecimento de apenas algumas aves com coccidiose, em lotes tratados faz supor que o uso dos anticoccídicos preveniu mortalidade mais alta, permitindo o desenvolvimento de certo grau de imunidade contra Eimeria spp.

Os resultados obtidos por REID et alii (1972) diferiram parcialmente dos alcançados no programa II deste experimento possivelmente em decorrência de uma exposição insuficiente a oocistos de E. necatrix na "cama" durante o período experimental e também porque essa espécie é pouco imunogênica. (LONG & ROSE, 1982).

Os resultados obtidos por CALLENDER & SHUMARD

(1973) diferiram dos alcançados no programa II deste experimento, provavelmente devido ao número insuficiente de oocistos de E. tenella e E. necatrix presentes na "cama", capaz de permitir desenvolvimento de imunidade. Além disso, observa-se que a supressão de imunidade ocorreu justamente com as 2 espécies de Eimeria consideradas as menos imunogênicas (LONG & ROSE, 1982).

Os resultados encontrados por REID et alii (1977) diferiram dos alcançados no programa II do presente experimento possivelmente em função do nível de 120 ppm de monensina, usado por aqueles autores, o qual deve ter interferido negativamente na produção de oocistos, prejudicando dessa maneira a exposição das aves à parasitose. Outro aspecto a ser considerado para atribuir-se essa diferença no índice da imunidade, diz respeito aos parâmetros contagem de lesões e ganho de peso, os quais não foram considerados no presente experimento.

Os resultados obtidos no programa IV deste experimento estão em acordo com os alcançados por REID et alii (1977), apesar desses autores terem usado apenas uma redução no nível do medicamento.

Os resultados encontrados no programa II deste experimento superaram os obtidos por KARLSSON & REID (1978) quando esses autores utilizaram 121 ppm de monensina; este nível deve ter interferido sobre o ciclo do coccídio não permitindo estímulos antigênicos suficientes para desenvolvimento de imunidade. Outro aspecto de importância a ser considerado refere-se ao fato do maciço desafio (400.000 oocistos de E. tenella) feito pelos autores, utilizando a espécie mais patogênica de Eimeria (LONG & ROSE, 1982).

Ao utilizarem nível de 100 ppm de monensina, os autores obtiveram resultados semelhantes aos do programa II do presente experimento, com satisfatório desenvolvimento de imunidade.

Os resultados alcançados por LONG et alii (1979) estão em acordo com os encontrados no programa IV deste experimento ao usarem 45 ppm de monensina na ração, fato este demonstrado pela completa proteção ao desafio; quanto aos resultados

obtidos por aqueles autores com o grupo controle, foram superados pelos obtidos no programa I do presente experimento, provavelmente em virtude do nível de 125 ppm de monensina utilizado o qual não permitiu às aves produção de oocistos capaz de estimular a imunidade.

Os resultados encontrados por SASMAL & SHARMA (1982) foram semelhantes aos obtidos no programa II deste experimento no que diz respeito à mortalidade, quando os autores utilizaram 100 ppm de monensina na ração; ao usarem 121 ppm, no entanto, os resultados obtidos foram inferiores, provavelmente em virtude da interferência dessa dosagem de monensina sobre a produção de oocistos não concedendo, dessa maneira estímulos imunogênicos suficiente para desenvolvimento de imunidade; quanto ao grupo controle usado por aqueles autores, apresentou resultado similar ao obtido no programa I deste experimento, com total ausência de mortalidade.

Os resultados encontrados no programa III do presente experimento superaram os de KARLSSON & REID (1978) quando aqueles autores usaram 80 ppm de salinomicina na ração; possivelmente isto ocorreu em virtude dessa dosagem ter interferido na produção de oocistos e com isso, não permitiu adequada exposição das aves, necessária para desenvolver imunidade; por outro lado deve ser considerado o maciço desafio (400.000 oocistos de E. tenella) utilizado por aqueles autores com a espécie mais patogênica de Eimeria (LONG & ROSE, 1982).

Os resultados obtidos por CHAPPEL & BABCOCK (1979) foram superiores aos obtidos no programa III deste experimento quando utilizou-se a salinomicina na dose de 60 ppm durante o período de exposição, demonstrado pela ausência de mortalidade observada por aqueles autores; quanto ao grupo controle usado por CHAPPEL & BABCOCK (1979), apresentou resultados inferiores ao programa I deste experimento possivelmente devido à maior e precoce exposição ao coccídio a qual aquelas aves foram submetidas; no programa I do presente experimento as aves foram expostas inicialmente à "cama" não contaminada o que favoreceu uma infecção gradual das aves na mesma; além disso as trocas

de "cama" devido o excesso de umidade também contribuíram para esta exposição controlada.

Os resultados encontrados por YVORÉ et alii (1980) estão em acordo com os obtidos no programa III do presente experimento no que concerne ao controle da coccidiose quando utilizado o nível de 60 ppm de salinomicina; quanto aos resultados obtidos por aqueles autores com o grupo controle, foram superados pelos encontrados no programa I do presente experimento provavelmente devido a forma de inoculação adotada, a qual não permitiu uma ingestão padronizada de oocistos por aquelas aves; além disso o sistema de criação em bateria não permitiu reinfecção adequada das aves, necessária para estimular a imunidade.

Os resultados conseguidos por CUCKLER & MALANGA (1956) foram semelhantes aos obtidos no programa VI do presente experimento. Quando comparado com o programa I deste experimento, os resultados alcançados também estão em acordo, demonstrado pela proteção à coccidiose alcançada pelos grupos controle utilizados por aqueles autores.

Os resultados obtidos por CUCKLER et alii (1956) estão em acordo com os obtidos no programa VI do presente experimento apesar daqueles autores terem usado níveis diferentes de nicarbazina; da mesma forma os resultados obtidos pelos autores com os controles foram semelhantes aos observados no programa I com nenhuma mortalidade ocorrendo.

Os resultados obtidos por CUCKLER et alii (1956) estão em acordo com os encontrados no programa VI deste experimento, onde não foi observada nenhuma mortalidade devido a coccidiose no período que receberam 125 ppm de nicarbazina.

Os resultados obtidos por McLOUGHLIN et alii (1957) aproximaram-se dos alcançados no programa VI deste experimento quando aqueles autores utilizaram dose de 125 ppm de nicarbazina na ração; essa pequena diferença nos resultados provavelmente seja devido ao tipo de inoculação utilizado, em uma única dose, a qual permitiu leve supressão da imunidade; do mesmo modo, os resultados encontrados por estes autores com re



lação ao controle exposto não medicado foram semelhantes aos obtidos no programa I do presente experimento, demonstrada por uma taxa de 98% de sobrevivência alcançada pelos referidos autores.

Os resultados encontrados por KARLSSON & REID (1978) aproximaram-se dos observados no programa VI do presente experimento, quando aqueles autores utilizaram 125 ppm de nicarbazi na na ração; a leve supressão da imunidade observada pelos autores possivelmente seja em decorrência do menor período de exposição à Eimeria tenella, ao qual as aves foram submetidas, não permitindo a elas completa proteção ao desafio; além disso o sistema de criação das aves em bateria não favoreceu reinfeção do tipo acidental.

## 5. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados sugerem que os programas usados não devem ter interferido no desenvolvimento de proteção 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):176-185, 1982.
3. CALLENDER, M.E. & SHUMARD, R.F. Effects of monensin on development of immunity to coccidia. Poultry Science, Champaign, 52(5):2007, 1973.
4. CHAPPEL, L.R. The site of action of the anticoccidial salinomycin (Coxistac). The Journal of Parasitology, Lawrence, 65(1):137-143, 1979.
5. CHAPPEL, L.R. & BABCOCK, W.E. Field trials comparing salinomycin (Coxistac)<sup>1</sup>, monensin, and lasalocid in the control of coccidiosis in broilers. Poultry Science, Champaign, 58(2):304-307, 1979.
6. CUCKLER, A.C. & MALANGA, C.M. The effect of nicarbazin on the development of immunity to avian coccidia. The Journal of Parasitology, Auburn, 42(6):593-605, 1956.

7. CUCKLER, A.C.; MALANGA, C.M.; OTT, W.H. The antiparasitic activity of nicarbazin. Poultry Science, Champaign, 35 (1):98-109, 1956.
8. DICKINSON, E.M. The effects of variable dosages of sporulated Eimeria acervulina oocysts on chickens. Poultry Science, Champaign, 20(5):413-424, 1941 apud 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.
9. DIOGO, M.R. Profilaxia da coccidiose aviária. Repositório de trabalhos do Instituto Nacional de Veterinária, Lisboa, v.13, 93-100, 1981.
10. 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.
11. JOHNSON, W.T. Immunity or resistance of the chicken to coccidial infection. Oregon Agr. College Exper., Sta. Bull, 230, 1927 apud: 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.
12. JOHNSON, J. & REID, W.M. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. Experimental Parasitology, New York, 28:30-36, 1970.
13. JOYNER, L.P. & NORTON, C.C. The immunity arising from continuous low-level infection with Eimeria tenella. Parasitology, Weybridge, 67:333-340, 1973.
14. JOYNER, L.P. & NORTON, C.C. The immunity arising from continuous low-level infection with Eimeria maxima and Eimeria acervulina. Parasitology, Weybridge, 72(1): 115-125, 1976.



15. KARLSSON, T. & REID, W.M. Development of immunity to coccidiosis in chicken administered anticoccidials in feed. Avian Diseases, College Station, 22(3): 487-495, 1978.
16. KINASHI, H.; OTAKE, N.; YONEHARA, H.; SATO, S.; SAITO, T. The structure of salinomycin, a new member of the polyether antibiotics. Tetrahedron lett., 49:4955-4958, 1973 apud: LONG, P.L., ed. The biology of the coccidia. Baltimore, University Park Press, 1982. p.400.
17. LEVINE, N. Eimeria hagai n. sp. (Protozoa: Eimeriidae) a new coccidium of the chicken. Cornell Veterinarian, Ithaca, 28(4):263-267, 1938.
18. LEVINE, N.D. Protozoan parasites of domestic animals and of man. 2a. ed. Burges, Minneapolis, 1973. 406p.
19. LEVINE, N.D. Text book of veterinary parasitology. Burges, Minneapolis, 1978, 236p.
20. 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.
21. LONG, P.L. Anticoccidial drugs: effect of some drugs on the development of immunity to coccidiosis. Poultry Science, 58(4):1078-1079, Athens, 1979.
22. 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.
23. LONG, P.L. & JEFFERS, T.K. Studies on the stage of action of ionophorus antibiotics against Eimeria. The Journal of Parasitology, Lawrence, 68(3):363-371, 1982.

24. 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.
25. LONG, P.L. New emerging coccidiostats are compared. Poultry Digest, Mt. Morris, 41(491):10-14, 1983.
26. MATHIS, G.F. & McDOUGALD, I.R. Drug responsiveness of field isolates of chicken coccidia. Poultry Science, Champaign, 61(1):33-45, 1982.
27. McDOUGALD, L.R. Chemotherapy of coccidiosis. In: LONG, P. L. The biology of the coccidia. Baltimore, University Park Press, 1982. p.398.
28. McLOUGHLIN, D.K.; RUBIN, R.; CORDRAY, D.R. The development of immunity to cecal coccidiosis in the presence of nicarbazin. Poultry Science, Champaign, 36(5):1003-1005, 1957.
29. 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 apud: LONG, P.L., ed. The biology of the coccidia. Baltimore, University Park Press, 1982. p.396.
30. NACIRI, M.; IVORÉ, P.; CONAN, L. Evaluation of the effect of anticoccidial drugs on size of parasite population and its development in litters. Annales de Recherches Veterinaires, Versailles, 13(1):79-83, 1982.
31. REID, W.M. The relationship between coccidiostats and poultry flock immunity in coccidiosis control programmes. Poultry Science, Champaign, 39(6):1431-1437, 1960 apud: 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.



32. REID, W.M.; WOMACK, H.E.; JOHNSON, J. Coccidiosis susceptibility in layer flock replacement programs. Poultry Science, Champaign, 47(3):892-899, 1968.
33. REID, W.M. Coccidiostats versus immunity. Poultry Digest, Mt. Morris, 31(369):575-578, 1972.
34. REID, W.M.; KOWALSKI, L.; RICE, J. Anticoccidial activity of monensin in floor-pen experiments. Poultry Science, Champaign, 51(1):139-146, 1972.
35. REID, W.M. Progress in the control of coccidiosis with anticoccidials and planned immunization. American Journal Veterinary Research, Schaumburg, 36(4):593-596, 1975.
36. REID, W.M. Progress in the control of coccidiosis with anticoccidials and planned immunization. American Journal Veterinary Research, Schaumburg, 36(4):593-596, 1975 apud: 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.
37. REID, W.M.; DICK, J.; RICE, J.; STINO, F. Effects of monensin-feeding regimens on flock immunity to coccidiosis. Poultry Science, Champaign, 56(1):66-71, 1977.
38. 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.
39. ROSE, M.E. Immunity. In: HAMMOND, D.M. & LONG, P.L. The coccidia. Baltimore, University Park Press, 1973, cap.8, 295-341.
40. RYLEY, J.F. & BETTS, M.J. 1973. Chemotherapy of chicken coccidiosis. Advances in Pharmacology and chemotherapy. vol. 11. Academic Press. New York, London, 221-289.

41. RUFF, M.D. & CHUTE, M.B. Relationship of restricted feeding and medication to coccidiosis control. Poultry Science, Champaign, 59(4):697-701, 1980.
42. 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.
43. SASMAL, N.K. & SHARMA, N.N. Effects 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.
44. 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.
45. SMITH, C.K. & STROUT, R.G. Eimeria tenella: accumulation and retention of anticoccidial ionophores by extracellular sporozoites. Experimental Parasitology, New York, 48(3):325-330, 1979.
46. SMITH, C.K.; GALLOWAY, R.B.; WHITE, S.L. effect of ionophores on survival, penetration, and development of Eimeria tenella sporozoites in vitro. The Journal of Parasitology, Lawrence, 67(4):511-516, 1981.
47. TYZZER, E.E.; THEILER, H.; JONES, E.E. Coccidiosis in gallinaceous birds II. A comparative study of species of Eimeria of the chicken. American Journal of Hygiene, Baltimore, 15(2):319-393, 1932 apud: CUCKLER, A.C. & MALANGA, C.M. The effect on the development of immunity to avian coccidia. The Journal of Parasitology, Lawrence, 42(6) : 593-605, 1956.
48. YVORÉ, P.; RAYNAUD, J.P., CONAN, L.; NACIRI, M. Evaluation of the efficacy of salinomycin in the control of coccidiosis in chicks. Poultry Science, Champaign, 59(11) : 2412-2416, 1980.