

RÍZIA MARIA DA SILVA

Infecção natural por *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* em cordeiros da raça mestiça Santa Inês, na região semi-árida do Estado do Rio Grande do Norte.

Belo Horizonte
2009

RÍZIA MARIA DA SILVA

Infecção natural por *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* em cordeiros da raça mestiça Santa Inês, na região semi-árida do Estado do Rio Grande do Norte.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Departamento de Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Parasitologia

Área de concentração: Protozoologia.

Orientador : Prof. Dr. Múcio Flávio Barbosa Ribeiro

Co-orientador: Prof. Dr. Elias Jorge Facury Filho

Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

2009

Trabalho realizado no Laboratório de Protozoologia Veterinária do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas, no Laboratório de Clínica de Ruminantes da do Departamento de Clínica e Cirurgias Veterinárias (DCCV) da Escola de Veterinária ambos da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG e no Laboratório de Helmintologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN.

AGRADECIMENTOS

A Deus que cuida de mim em todos os aspectos, que luta as minhas batalhas e vence as minhas guerras. Este é o Deus que me reveste de forças e me sustém com mão forte. É meu Senhor, meu Rei, meu Pai, meu amigo. Sem Ele nada poderia fazer. Toda glória, honra e majestade a Deus!

À Universidade Federal de Minas Gerais, em especial ao Departamento de Parasitologia por ter me acolhido;

Ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, pela oportunidade e apóio fornecidos durante o Mestrado;

À Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), especialmente ao Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Centro de Biociências pelo apoio, estrutura e por me acolher sempre desde meu período de monitoria na disciplina de Parasitologia, onde tudo começou!

Ao Professor Pedro Marcos Linardi e ao Professor Marcos Horácio Pereira, anterior e atual Coordenadores do Programa de Pós-graduação em Parasitologia, respectivamente, pela confiança e oportunidade;

Ao Professor Múcio Flávio Barbosa Ribeiro, modelo de excelência profissional, por ter me recebido e aberto as portas do seu laboratório, por todo apóio, por ter acreditado em meu trabalho. Obrigada pela orientação, paciência, compreensão e confiança.

Ao Professor Elias Jorge Facury Filho pelos ensinamentos, por ter me recebido com grande carinho no Laboratório da Clínica de Ruminantes e principalmente por sua amizade e atenção.

À Professora Maria de Fátima de Souza da UFRN, aliás, não somente Professora, é também amiga e companheira; esteve presente em todos os momentos do projeto e viabilizou a execução do experimento. É um exemplo de profissional, de mãe, de perseverança e dedicação que muito me ensinou. Mulher guerreira! Minha grande incentivadora a trilhar os caminhos do ensino em Parasitologia desde a graduação.

Ao Dr. Vicente Mesquita, pela solicitude, por disponibilizar a fazenda São Vicente para realização do trabalho. Obrigada por viabilizar todo o experimento de campo, desde os animais concedidos para acompanhamento quanto por toda estrutura oferecida. Deus te faça prosperar em tudo!

A Sr. Assis, D. Ângela e a pequena Amanda pela imensa ajuda, solicitude, companheirismo, acolhida, apóio e pelos momentos de descontração durante toda a estada na fazenda. Família inesquecível! Peço a Deus que vos abençoe muito.

Ao Professor Antônio Último de Carvalho pela amizade, pelo grande coração em ter me recebido em sua sala, pelas palavras de apóio e incentivo acompanhadas de um bom cafezinho no final da tarde.

Ao Professor Walter dos Santos Lima pelas palavras de ânimo e incentivo, principalmente pela amizade.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Parasitologia pelos conhecimentos e por admirável amor a causa passados durante as suas aulas;

A todos funcionários técnicos do Departamento de Parasitologia pelo cuidado e dedicação de cada um de vocês do qual nossa formação é dependente;

À Sumara Aparecida G. Ferreira, por toda atenção, carinho e dedicação. Obrigada pelo cuidado especial com cada aluno;

Aos meus colegas de mestrado pela convivência agradável, pelos momentos compartilhados de estresse e também de alegria e descontração, muito obrigada a todos.

Às minhas amigas Cristina Lima (Cris) e Albeísa Cleíse (Albê), agradeço a Deus principalmente por ter amigas como vocês. São pessoas muito especiais para mim! Muito obrigada pela imensa ajuda na execução do projeto, pelo companheirismo, força, pelas palavras de ânimo e incentivo, por desprender o tempo de cada uma em função da minha causa.

Ao casal Edson Santana e Prazeres, por todo apoio e carinho, pelas palavras de ânimo e orações em favor da minha causa. Vocês são uma benção em minha vida!

Aos meus irmãos em Cristo Jesus, da Igreja Assembléia de Deus em Cidade Satélite, pelas constantes orações em meu favor.

À minha grande família que ganhei durante a minha estadia em Belo Horizonte:

À minha amiga Fabiana Caetano (Fofis ou Fafá), pelo carinho, companhia sempre presente e especialmente por sua amizade, muito preciosa para mim. Agradeço a Deus por você e por todos os momentos agradáveis. Essa é minha irmã mais velha! Obrigada por tudo!

À D. Ana Lúcia, Sr. Jersino e Radamés, por abrir as portas de sua casa e de sua família e me acolher com grande carinho. Muito obrigada pela amizade de cada um de vocês.

Ao meu amigo Moisés, baiano, gente boa! Pelo companheirismo, solicitude, carinho e principalmente pela amizade. Obrigada por tornar meu percurso agradável, pelos ótimos momentos de descontração e amenizar a saudade de casa.

Aos meus amigos Rafael e Marina e também a sua família, Prof. Marcos Paulo e D. Marta Ferreira, por me acolher com grande carinho e cuidado em sua casa, por me fazer sentir que sou parte dessa família e tornar mais amena as saudades. Obrigada, Marina, por sua amizade, pela companhia, pela solicitude. Vocês moram no meu coração!

À Laís (Laisinha), mais uma irmã que Deus me deu, pela amizade e companhia agradável na fase laboriosa de identificação dos eimerídeos. Muito obrigada por estar sempre presente!

À minha querida Socorro, sempre solícita e preocupada comigo. Agradeço a Deus pela sua vida e amizade;

Jamais me esqueceria do meu alicerce, meu consolo, meu apóio, meu combustível – **a minha família:**

Aos meus pais Débora e Isaías, pessoas admiráveis, exemplos de honestidade, dedicação, batalhadores pela vida, por serem meu porto seguro, pelos conselhos, pela minha formação e ensinamentos, pelo apoio, amor e carinho incondicional, essenciais em toda minha vida, inclusive no cumprimento dessa etapa. Agradeço a Deus por ter me dado pais tão maravilhosos... amo muito vocês;

Aos meus irmãos e amigos Cíntia, Rebeca e Isaac, pelo companheirismo, pelo amor, amizade e comunhão entre nós. Vocês me dão conforto, me alegram... são presentes de Deus na minha vida...amo cada um de vocês!

Aos meus avós Marcionila (vovó Nila) e João Inácio (vovô João) e tios, pelo amor e carinho, pelas palavras de incentivo e as constantes orações em meu favor. Especialmente a minha querida tia Oglá, pela sua amizade e carinho. Pessoa agradável e solícita. Você não mede esforços para ajudar qualquer sobrinho. Agradeço pela imensa ajuda e maravilhosa companhia durante a execução do trabalho de campo. Obrigada por tudo! Amo todos vocês!

“Descobri que não há nada melhor para o homem do que ser feliz e praticar o bem enquanto vive. Descobri também que poder comer, beber e ser recompensado pelo seu trabalho é um presente de Deus.”

Eclesiastes 3:12

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo estudar as infecções naturais por *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* em cordeiros da raça mestiça Santa Inês, criados extensivamente em fazenda no semi-árido do Estado do Rio Grande do Norte. Para tanto, 27 cordeiros machos foram acompanhados para monitorar o curso da infecção natural por *Eimeria* spp., *Giardia duodenalis* e as espécies de eimerídeos presentes do nascimento até a 12^a semana de idade. Foi também investigada a presença de *Cryptosporidium* no primeiro mês de vida dos cordeiros. Observaram-se oocistos de *Eimeria* nas fezes pela primeira vez na terceira semana após o nascimento. A cinética de excreção de oocistos caracterizou-se por um aumento progressivo com pico de eliminação na sexta semana de vida, seguida de uma queda drástica na sétima, com nova elevação na oitava semana, e a partir da nona semana de vida observou-se queda gradual e progressiva na contagem de oocistos, indicando o desenvolvimento de imunidade pelos cordeiros. Foi observada considerável variação individual no valor de OOPG. Oito espécies de *Eimeria* foram identificadas: *E. ahsata*, *E. crandallis*, *E. faurei*, *E. granulosa*, *E. intricata*, *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. parva*. *E. crandallis* foi numericamente predominante da quarta a nona semana de vida, com 77,1% dos oocistos excretados pertencentes a essa espécie no pico da infecção por *Eimeria*. Infecções mistas foram comuns e aumentaram com o avançar da idade dos animais, demonstrando a exposição e desafios a diversas espécies presentes no meio ambiente. Dois dos 27 animais (7,4%) excretaram oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes, sendo um cordeiro na terceira semana de idade e outro na quarta semana. A excreção de cistos de *G. duodenalis* foi detectada pela primeira vez em um cordeiro na 10^a semana após o nascimento. A incidência acumulada de *G. duodenalis* na 10^a, 11^a e 12^a semanas foi de 4,5%, 13,0% e 33,3%, respectivamente. A maior ocorrência de infecção por *G. duodenalis* foi verificada após os cordeiros serem levados para o confinamento. Não ocorreu nenhum caso de diarreia durante o período experimental. Existiram boas condições ambientais para a esporulação de oocistos de *Eimeria* spp.

Palavras-Chave: cordeiros, *Eimeria* spp.; *Cryptosporidium* spp.; *Giardia duodenalis*; semi-árido do Estado do Rio Grande do Norte.

ABSTRACT

The objective of this study was to examine the natural infections by *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in lambs of Santa Inês crossbreed, reared under extensively exploitation conditions in farm from semi-arid region in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. Twenty seven male lambs were used to monitor the course of natural infection by *Eimeria* spp., *Giardia duodenalis* and species of eimerids present from birth to 12 weeks of age. It also investigated the presence of *Cryptosporidium* in the first month of life of lambs. The oocysts were first detected in lamb's faeces after birth. The oocysts excretion kinetics was characterized by a progressive increase with a peak to eliminate the sixth week of life, followed by a drastic fall to seventh, with new lift to the eighth week, and from the ninth week of life was observed gradual decrease fall in oocyst counting, indicating the development of lamb's immunity. There was considerable individual variation in oocyst output. Eight *Eimeria* species were identified: *E. ahsata*, *E. crandallis*, *E. faurei*, *E. granulosa*, *E. intricata*, *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. parva*. *E. crandallis* was numerically most numerous in the fourth to ninth week of life, with 77.1% were excreted oocysts of this species at the peak of the *Eimeria* infection. Mixed infections were common and increased with animals' age, demonstrating the challenges and exposure to various species present in the environment. Two of twenty seven animals excreted oocysts of *Cryptosporidium* spp. in feces, a lamb in the third week of age and another in the fourth. The excretion of cysts of *G. duodenalis* was detected for the first time in a lamb to 10 weeks after birth. The cumulative incidence of *G. duodenalis* in 10th, 11th and 12th weeks was of 4.5%, 13.0% and 33.3%, respectively. The highest incidence of *G. duodenalis* infection was recorded after the lambs are taken to the feedlot. There was no case of diarrhea during the experimental period. There were proper environmental conditions for the sporulation of oocysts of *Eimeria* spp.

Keywords: lambs; *Eimeria* spp.; *Cryptosporidium* spp.; *Giardia duodenalis*; semi-arid region of Rio Grande do Norte State.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

GRÁFICO 1: Média de OOPG de <i>Eimeria</i> spp. de cordeiros infectados naturalmente da primeira a décima segunda semana de idade, Lajes –RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	57
GRAFICO 2: Composição percentual da infecção natural por <i>Eimeria</i> spp. em cordeiros acompanhados do nascimento à décima segunda semana de idade Lajes –RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	58
GRÁFICO 3: Distribuição das média de oocistos por grama de fezes por espécie de <i>Eimeria</i> em cordeiros infectados naturalmente até a 12 ^a semana de idade, Lajes –RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	62
GRÁFICO 4: Número de espécie de <i>Eimeria</i> identificadas nas amostras fecais individuais de cordeiros naturalmente infectados, Lajes-RN, n nascidos no período de março a agosto de 2008.....	63
GRÁFICO 5: Número de espécies de <i>Eimeria</i> em amostras fecais individuais de cordeiros em função da idade (semanas) dos animais, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	64
GRAFICO 6: Frequência dos escores fecais da primeira a décima segunda semana de vida, Lajes –RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	65
GRÁFICO 7: Frequência geral de escores de fezes de cordeiros infectados todo período de experimentação, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	66
FIGURA 1: Divisão político-administrativa do Estado do Rio Grande do Norte com destaque ao município de Lajes.....	43
FIGURA 2: Cercado para recolhimento dos animais e realização das coletas ao entardecer, Fazenda São Vicente, Lajes, RN.....	46
FIGURA 3: Animais em confinamento (área:14x10m), Fazenda São Vicente, Lajes, RN.....	47
FIGURA 4: Coleta de material fecal de cordeiros com auxílio do saco coletor fixado a região perianal, Fazenda São Vicente, Lajes, RN.....	48
FIGURA 5: Organograma da sessão de material e métodos.....	53

FIGURA 6: Oocistos de *Cryptosporidium* spp. (coloração ZNM), aumento de 1000X, Lajes-RN,..... 67

FIGURA 7: Cisto de *G. duodenalis* (sedimento do formol-éter acrescido de lugol), aumento de 400X, Lajes-RN, detectado em amostra de cordeiros nascidos no período de março a agosto de 2008..... 69

QUADRO 1: Fotos das espécies *Eimeria* de identificadas nas fezes de cordeiros naturalmente infectados, Lajes –RN, nascidos no período de março a agosto de 2008. (a) *E.intricata*; (b) *E. ahsata*; (c) *E. ovina*; (d) *E. granulosa* (e) *E. crandallis*; (f) *E. ovinoidalis*; (g) *E. faurei*; (h) *E. parva*. Barra = 8 μ m..... 56

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Frequência das espécies de <i>Eimeria</i> , e sua predominância, nas amostras fecais de cordeiros naturalmente infectados durante a primeira a 12ª semana de vida, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	54
TABELA 2: Morfometria dos oocistos das espécies de <i>Eimeria</i> identificadas em cordeiros no município de Lajes, RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	55
TABELA 3: Porcentagem de cordeiros eliminando oocistos de <i>Eimeria</i> (a), média de OOPG da 1ª a 12ª semana (b) e valores máximos e mínimos de OOPG, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	60
TABELA 4: Ocorrência de <i>Cryptosporidium</i> spp. em amostras fecais de cordeiros naturalmente infectados até a quarta semanas de vida avaliadas pelo exame de esfregaços fecais corados pelo Ziehl Neelsen Modificado e ensaio imunoenzimático, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	67
TABELA 5: Detecção de infecção natural por <i>Giardia duodenalis</i> em cordeiros pelo exame de fezes por microscopia e ensaio imunoenzimático do nascimento até a décima segunda semana de vida, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.....	69
TABELA 6: Média mensal da pluviosidade, temperatura e umidade relativa do ar em Lajes-RN, no período de março a junho de 2008.....	70

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	EIMERIOSE EM OVINOS.....	20
2.1.1	Taxonomia e aspectos biológicos de <i>Eimeria</i> spp.....	20
2.1.2	Epidemiologia da eimeriose.....	21
2.1.2.1	Eimeriídios em ovinos	21
2.1.2.2	Infecção por <i>Eimeria</i> spp.....	25
2.1.3	Patofisiologia da eimeriose.....	26
2.1.4	Diagnóstico coprológico.....	28
2.2	CRIPTOSPORIDIOSE EM OVINOS.....	30
2.2.1	Taxonomia e aspectos biológicos de <i>Cryptosporidium</i> spp.....	30
2.2.2	Epidemiologia da criptosporidiose.....	31
2.2.3	Patofisiologia da criptosporidiose.....	34
2.2.4	Diagnóstico coprológico.....	35
2.3	GIARDÍASE EM OVINOS.....	36
2.3.1	Taxonomia e aspectos biológicos de <i>Giardia duodenalis</i>.....	36
2.3.2	Epidemiologia da Giardíase.....	37
2.3.3	Patofisiologia da giardíase.....	39
2.3.4	Diagnóstico coprológico.....	39
3	JUSTIFICATIVA.....	41
4	OBJETIVOS.....	42
4.1	OBJETIVO GERAL.....	42
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42

5	MATERIAL E MÉTODOS.....	43
5.1	LOCAL DA REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	43
5.2	MANEJO DOS ANIMAIS NA PROPRIEDADE.....	45
5.3	ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	47
5.4	COLETA DE MATERIAL.....	47
5.5	EXAMES LABORATORIAIS.....	49
5.5.1	Processamento das amostras fecais.....	49
5.5.2	Identificação das espécies de <i>Eimeria</i> spp.....	49
5.5.3	Diagnóstico de <i>Cryptosporidium</i> spp.....	50
5.5.4	Diagnóstico de <i>Giardia duodenalis</i>.....	51
5.5.5	Imunoensaio enzimático (ELISA) para <i>Cryptosporidium</i> spp. e <i>G. duodenalis</i>.....	51
5.6	DADOS CLIMATOLÓGICOS.....	52
5.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	52
6	RESULTADOS.....	54
6.1	ESPÉCIES DE <i>Eimeria</i> IDENTIFICADAS EM CORDEIROS ATÉ A 12ª SEMANA DE VIDA.....	54
6.2	CINÉTICA DA ELIMINAÇÃO EXCREÇÃO DE OOCISTOS DE <i>Eimeria</i> spp. EM CORDEIROS DA PRIMEIRA A 12ª SEMANA DE IDADE.....	57
6.3	CINÉTICA DA ELIMINAÇÃO DE OOCISTOS POR ESPÉCIE DE <i>Eimeria</i> EM CORDEIROS ATÉ 12ª SEMANA DE VIDA.....	61
6.4	INFECÇÕES MISTAS POR ESPÉCIES DE <i>Eimeria</i>	63
6.5	CONSISTÊNCIA FECAL.....	64
6.6	INFECÇÃO POR <i>Cryptosporidium</i> spp. NOS CORDEIROS.....	67
6.7	INFECÇÃO POR <i>Giardia duodenalis</i> NOS CORDEIROS.....	68

6.8	DADOS METEOROLÓGICOS.....	70
7	DISCUSSÃO.....	71
7.1	ESPÉCIES DE <i>Eimeria</i> IDENTIFICADAS EM CORDEIROS ATÉ A 12ª SEMANA DE VIDA.....	71
7.2	CINÉTICA DA ELIMINAÇÃO DE OOCISTOS DE <i>Eimeria</i> spp. EM CORDEIROS ATÉ 12ª SEMANA DE VIDA.....	73
7.3	CINÉTICA DA ELIMINAÇÃO DE OOCISTOS, POR ESPÉCIE DE <i>Eimeria</i> , EM CORDEIROS ATÉ 12ª SEMANA DE VIDA.....	74
7.4	INFECÇÕES MISTAS POR ESPÉCIES DE <i>Eimeria</i>	75
7.5	CONSISTÊNCIA FECAL.....	75
7.6	INFECÇÃO POR <i>Cryptosporidium</i> NOS CORDEIROS.....	76
7.7	INFECÇÃO POR <i>Giardia</i> NOS CORDEIROS.....	77
8	CONCLUSÃO.....	79
	REFERÊNCIAS.....	80

1 INTRODUÇÃO

A exploração de pequenos ruminantes domésticos é uma atividade de grande importância econômico-social, realizada em todos os continentes, especialmente na maioria dos países que possuem regiões de climas árido e semi-árido (Simplício et al., 2003; Leite, 2007).

No Brasil, a ovinocultura caracteriza-se pela exploração de carne, de leite e de peles (Vieira, 2005). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o efetivo ovino brasileiro em 2007 foi de 16.239.455 milhões de cabeças, sendo a região Nordeste detentora do maior rebanho ovino no país participando com 57,2% no efetivo total no Brasil. Dentre os estados nordestinos, o Rio Grande do Norte ocupa a quinta posição no Nordeste contribuindo com 31% do efetivo nacional com cerca de 514 mil cabeças em 2007 (IBGE, 2007).

Nos mercados interno e externo verifica-se um incremento substancial no consumo de carne ovina nos últimos dez anos, o que favorece o crescimento e o desenvolvimento da atividade (Simplício et al., 2003).

A despeito do crescimento da ovinocultura, as enfermidades infecciosas e parasitárias constituem-se desafios para a atividade agropecuária e determinam grandes prejuízos nestas (Pinheiro et al., 2002). As parasitoses gastrintestinais são consideradas principal entrave para a produção de ovinos, especialmente nas regiões tropicais, onde os prejuízos econômicos são mais acentuados (Vieira, 2005).

Dentre as doenças parasitárias, destaca-se a coccidiose, importante doença entérica causada por parasitos obrigatórios do gênero *Eimeria*. Considerada uma doença insidiosa, a coccidiose pode existir em vários graus de infecção na qual os sinais clínicos variam de assintomático a severa diarreia, com sangramento e perda de mucosa intestinal nas fezes. A eimeriose subclínica é a forma mais comum da doença, e por não ser facilmente identificada, seu efeito tem impacto considerável em termos de eficiência de produção e saúde do rebanho. As perdas econômicas são significativamente maiores por da redução da taxa de crescimento, no ganho de peso e susceptibilidade a doenças em animais afetados que propriamente por prejuízos ocasionados por morte (Fitzgerald, 1980; Foreyt, 1990; Vieira, 2005).

Os coccídios são protozoários relativamente comuns em ovinos de todas as idades, porém são mais prevalentes e relevantes em animais jovens, especialmente em cordeiros desmamados e animais em confinamento. Cordeiros na faixa etária entre quatro e sete semanas constituem a categoria mais susceptível, com maior número de casos clínicos na sexta semana de idade (Gregory et al., 1980; Foreyt, 1990).

Perdas mundiais devido à mortalidade por coccidiose em bovino, bubalinos, ovinos e caprinos foram estimadas por Fitzgerald (1980) em torno de 15 milhões de dólares. Com a morbidade extrapola-se o valor de 120 milhões de dólares em razão dos custos importantes atribuíveis a doença, tais como antibióticos, desinfetantes, equipamentos, cuidados profissionais e pesquisa, além da mão-de-obra para administração de medicamentos, desinfecção e limpeza das instalações, custos inerentes a mudanças no manejo, adicionado a redução na produtividade, devido à medicação ou efeito do parasito. Pinheiro et al. (2002) estimaram o custo de aproximadamente oito dólares por animal no tratamento da eimeriose em pequenos ruminantes, nesse montante estão somados custos relacionados à mão-de-obra e medicamento.

Além da coccidiose, outras protozooses tais como a criptosporidiose e a giardíase têm sido reconhecidas como importantes parasitoses gastrintestinais em várias espécies de animais domésticos.

A criptosporidiose causada pelo *Cryptosporidium parvum* é considerado um dos principais agentes de diarreia neonatal (Holland, 1990). Geralmente atinge animais jovens entre 5 a 10 dias de idade, e apresenta-se mais branda que a coccidiose. Embora possa ocorrer morte em animais recém-nascidos em razão da gravidade, geralmente a doença é autolimitante depois de muitos dias de diarreia. A criptosporidiose é severa em animais recém-nascidos, cordeiros mais velhos podem demonstrar retardo no crescimento, e adultos são geralmente refratários a infecção e a doença (Foreyt, 1990).

As perdas econômicas associadas com a criptosporidiose em ovinos não são unicamente resultantes de mortalidade, mas do retardo do crescimento do animal, do custo com drogas, da assistência veterinária e de mudanças de manejo (De Gaaf et al., 1999).

A giardíase tem como agente etiológico a *Giardia duodenalis*, parasito ubíquo e freqüentemente reconhecido como patógeno de veiculação hídrica. É um protozoário flagelado entérico que afeta uma ampla extensão de vertebrados, incluindo mamíferos selvagens e domésticos, particularmente ruminantes e cães, causando nestes, infecção e doença clínica aguda, autolimitante, mas freqüentemente diarreia em animais

jovens. Também afetam negativamente o crescimento e a engorda de animais de interesse econômico (Adam, 1991; Aloisio et al., 2006; Thompson et al., 2000).

Aloisio et al. (2006) mostraram que infecções por *G. duodenalis* causam relevantes perdas econômicas em fazendas com ramo de atividade da ovinocultura. Olson et al. (1995) estudando o efeito da giardíase em cordeiros infectados experimentalmente mostraram uma diminuição no ganho de peso e diminuição na eficiência da alimentação quando comparados a animais do grupo controle. Nos animais infectados, o peso da carcaça foi mais baixo que nos animais não infectados. Estes autores concluíram que a infecção por *G. duodenalis* nesses animais diminui a taxa de crescimento e é, portanto, uma doença economicamente importante em ruminantes.

Relatos a respeito das infecções por *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. e *G. duodenalis* em ovinos no Brasil são escassos, especialmente na região Nordeste. Este trabalho propõe monitorar o curso da infecção por esses agentes parasitários e identificar as espécies de *Eimeria* infectando cordeiros criados extensivamente em fazenda de propriedade particular voltada para ovinocultura de corte, localizada no município de Lajes, semi-árido do Rio Grande do Norte.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EIMERIOSE EM OVINOS

2.1.1 Taxonomia e aspectos biológicos de *Eimeria* spp.

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa

Classe: Sporozoea

Subclasse: Coccidia

Ordem: Eucoccidiida

Subordem: Eimeriina

Família: Eimeriidae

Gênero: *Eimeria*

Os Eimerídeos são membros do Filo Apicomplexa, que consiste num grupo diverso de protozoários parasitos caracterizado por um complexo apical formado por organelas especiais localizadas na porção anterior final dos estágios invasivos no seu ciclo biológico.

Geralmente a classificação tradicional dos coccídios dentro do Filo Apicomplexa em classes ou subclasses e nos táxons menores é baseada nas características fenotípicas tais como morfologia e o padrão do ciclo biológico nas fases de reprodução sexuada e assexuada (Tender et al., 2002)

Os parasitos eimerídeos são monóxenos, completando seu ciclo em um único hospedeiro. Os coccídios realizam três fases típicas: fase esporogônica que ocorre no meio ambiente e outras duas fases, merogônica (reprodução assexuada) e gametogônica (reprodução sexuada), nas células intestinais do hospedeiro. O ciclo biológico inicia-se após a ingestão dos oocistos esporulados (oocisto infectante) e termina com a produção de novos oocistos que são eliminados no ambiente com as fezes. Estes sofrem esporogonia, dando origem a um oocisto esporulado que contem quatro esporocistos com dois esporozoítos cada.

Para que ocorra a esporulação são necessárias condições ótimas de umidade, presença de oxigênio e temperatura (24 a 32°C) são fatores necessários para desenvolvimento de oocistos infectantes. Em geral, a esporulação dos oocistos de

Eimeria ocorre mais rapidamente de 28 a 31°C. Não ocorre esporulação a 40°C e oocistos se tornam inviáveis em quatro dias nessas condições. Oocistos não sobrevivem a temperaturas inferiores a -30°C ou acima de 40°C. Temperaturas entre 0 a 5 °C retardam a esporulação, embora os oocistos permaneçam viáveis por no mínimo 10 meses no material fecal ou em sítalos úmidas. Se, contudo, o sedimento fecal tornar-se putrefeito, contudo, nenhuma esporulação ocorre a qualquer temperatura (Foreyt, 1990; Levine, 1961).

Os animais se infectam ao ingerir oocistos esporulados junto com alimentos, água, pastagens contaminadas com fezes ou até mesmo ao lambarem a pelagem suja uns dos outros (Foreyt, 1990; Lima, 2004). No intestino, os esporozoítos se desencistam e invadem as células intestinais, onde se multiplicam formando merontes. Geralmente ocorre uma ou mais gerações merogônicas, formando merozoítos que invadem novas células hospedeiras. A fase gametogônica inicia-se pela penetração de merozoítos de segunda geração nas células epiteliais intestinais. Alguns merozoítos evoluem para macrogametas (femininos) e outros microgametas (masculinos). Estes penetram nas células hospedeiras que contem o macrogameta, o fertilizando, dando origem aos oocistos que são liberados não esporulados nas fezes. Detalhes como localização dentro da célula hospedeira, duração do ciclo e o sítio intestinal da fase parasitária variam consideravelmente com as espécies de coccídios (Fayer, 1980; Foreyt, 1990).

2.1.2 Epidemiologia da eimeriose

2.1.2.1 Eimeriídeos em ovinos

Infecções por eimeriídeos em ovinos e a prevalência de suas espécies são amplamente relatados mundialmente.

O número de espécies do gênero *Eimeria* que parasitam ovinos é variável e depende da validade de algumas espécies por diferentes autores (Lima, 1991). A despeito da semelhança morfológica entre oocistos de espécies de caprinos e ovinos, atualmente a infecção por esses coccídios nesses pequenos ruminantes é considerada espécie-específica (McDougald, 1979; Fayer, 1980), com exceção da *Eimeria caprovina*, descrita originalmente em caprinos (Lima, 1980), mas também infecta ovinos (Vieira, 1999).

Nos artigos mais antigos que foram consultados observam-se espécies de *Eimeria* de caprinos, descritas como parasitos de ovinos e vice-versa. Por esta razão, no

presente trabalho foi descrita a espécie originalmente registrada pelo(s) autore(s) e logo em seguida, entre parênteses, o nome atualmente aceito.

A espécie *E. ovina*, descrita por Levine e Ivens (1970), pode ser encontrada pela sinonímia *E. bakuensis* descrita por Musaev também em 1970. Em alguns trabalhos pode ser visto espécies agrupadas separadas somente por barra. Esses agrupamentos foram formados por problemas na identificação nos quais nem sempre uma espécie pôde ser separada morfológicamente de outra.

Michael e Probert (1970) encontraram em 60 amostras fecais de ovinos entre seis e oito meses de idade do North Wales, Inglaterra, as seguintes espécies por ordem decrescente de prevalência: *E. arloingi* (*E. ovina*), *E. ninaekohlyakimovae* (*E. ovinoidalis*), *E. parva*, *E. crandallis*, *E. ahsata*, *E. pallida*, *E. faurei*, *E. intricata*, *E. granulosa*. Infecções mistas foram encontradas na maioria das amostras.

McKenna (1972) analisando 215 amostras provenientes de 12 localidades da Nova Zelândia mostrou que 93% eram positivas para o coccídio. Neste estudo, 10 espécies de *Eimeria* foram identificadas: *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. parva*, *E. crandallis*, *E. faurei*, *E. ahsata*, *E. pallida*, *E. intricata*, *E. granulosa*, *E. punctata*. Em 77% das amostras positivas observaram-se infecções mistas contendo entre quatro e oito espécies diferentes. A infecção única foi encontrada em somente 11 amostras, sendo cinco contendo *E. ovina*, três *E. crandallis*, duas *E. parva*, uma *E. ovinoidalis*. As espécies *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. parva*, *E. crandallis* ocorreram com mais frequência e predominaram nas amostras fecais.

Vercruyse (1982) examinou 2234 ovelhas no Senegal durante a estação seca e identificou as seguintes espécies: *E. ahsata*, *E. crandallis*, *E. faurei*, *E. intricata*, *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. pallida*, *E. parva*. Infecções mistas foram verificadas em 94% das amostras, e 74% continham três a seis espécies.

Na Espanha, Hidalgo-Argüelo e Cordero del Campillo (1987) identificaram oito espécies parasitando ovinos *E. parva*, *E. crandallis*, *E. ahsata*, *E. bakuensis*, *E. ovinoidalis*, *E. faurei*, *E. pallida* e *E. intricata*.

O'Callaghan et al. (1987) determinaram a prevalência e abundância da infecção por *Eimeria* spp. em fêmeas recém-desmamadas e saudáveis em diferentes áreas geográficas do sul australiano. Neste trabalho foram identificadas 12 espécies de *Eimeria* spp.: *E. faurei*, *E. intricata*, *E. parva*/*E. pallida*, *E. granulosa*, *E. ahsata*, *E. crandallis*, *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. ovina*, *E. weybridgensis*, *E. punctata*. As espécies predominantes foram a *E. crandallis*/*E. weybridgensis*, seguida de *E. ovina*, *E. ovinoidalis* e *E. granulosa*. A menos prevalente entre as espécies relatadas foi a *E.*

punctata. Infecção mista foi relatada na maioria dos animais examinados. Os autores observaram que o declínio na eliminação de oocisto está relacionado ao avanço da idade do animal.

Estudo realizado por Barutzki et al. (1990), no nordeste da Alemanha, visou determinar as espécies de *Eimeria* spp. e a sazonalidade na eliminação de oocistos em amostras fecais de ovinos coletadas mensalmente por um período de um ano. Os animais foram divididos pela idade em cordeiros, juvenis e adultos, e também por sistemas de manejo. Foram observadas 10 espécies de *Eimeria* spp. das quais *E. bakuensis*, *E. ovinoidalis*, *E. weybridgensis*/*E. crandallis*, *E. parva* e *E. ahsata* foram as mais abundantes. *E. faurei*, *E. granulosa*, *E. intricata* e *E. pallida* foram as menos frequentes. Infecções mistas foram comuns em todas as categorias, sendo encontrado o mais amplo espectro de espécies em cordeiros. A intensidade de eliminação de oocistos e a incidência individual de cada espécie de *Eimeria* mostraram estar relacionada à idade do hospedeiro, mas não ao sistema de manejo. Os cordeiros constituíram a categoria de maior eliminação de oocistos com maior número de espécies de *Eimeria* spp.

Na Jordânia, Muwalla e Abo-Shehada (1991) identificaram dez diferentes espécies de eimerídeos. *E. parva* foi a mais prevalente (86,4%), seguida de *E. crandallis* (84,5%), *E. bakuensis* com 80,4%, *E. pallida* (77,7%), *E. marsica* (72,0%), *E. ovinoidalis* (35,4%), *E. intricata* (25,0%), *E. ahsata* (24,8%), *E. faurei* (6,8%) e *E. granulosa* (2,0%). Interessante frisar que a presença da *E. marsica* parece ter distribuição restrita e não existe relatados dessa espécie no Brasil. Ainda no Oriente Médio, cidade de Sanandj no Iran, Yakhchali e Golami (2008) identificaram seis espécies. *E. ovinoidalis*, foi a mais prevalente presente em 33% dos 240 ovinos examinados. Esta espécie juntamente com *E. bakuensis* e *E. ahsata* possivelmente estão contribuindo para a síndrome entérica que tem afetado ovinos na região do país.

No Brasil, Santiago e Costa (1975) identificaram seis espécies de *Eimeria* em ovinos no Rio Grande do Sul, que foram: *E. faurei*, *E. arloingi* (*E. ovina*), *E. intricata*, *E. ahsata*, *E. parva* e *E. ninakohlyakimovae* (*E. ovinoidalis*).

No município de Porto Alegre, também no Rio Grande do Sul, Silva et al. (1987/1988) encontraram ovinos infectados com as espécies *E. ahsata*, *E. crandallis*, *E. faurei*, *E. intricata*, *E. bakuensis*, *E. ovinoidalis*, *E. pallida*, *E. parva* e *E. punctata*.

Num experimento realizado em Botucatu no Estado de São Paulo, Amarante e Barbosa (1992) identificaram oito espécies de *Eimeria* em 25 cordeiros criados em sistema rotacional que foram *E. parva*, *E. crandallis*, *E. ovinoidalis*, *E. pallida*, *E.*

intricata, *E. ahsata*, *E. weybridgensis* e *E. ovina*. As espécies predominantes foram, em ordem decrescente, *E. crandallis/weybridgensis*, *E. bakuensis*, *E. ovinoidalis*, *E. parva*. A maioria das espécies de *Eimeria* foi detectada imediatamente no primeiro exame a duas semanas de idade, exceto *E. pallida* e *E. intricata* que começaram a aparecer aos seis meses de idade do cordeiro. As maiores contagens de oocistos foram observadas quando os animais tinham entre quatro e oito semanas de idade com posterior declínio gradual do OOPG (oocistos por grama de fezes) sugerindo desenvolvimento de resistência contra *Eimeria* spp.

Num criatório de ovinos da raça Santa Inês, localizado na microrregião Serrana do Rio de Janeiro, foram identificadas 10 espécies de *Eimeria* em ovinos até 180 dias de idade, por ordem de prevalência: *E. ovinoidalis* (27,01%), *E. crandallis* (20,81%), *E. parva* (19,87%), *E. bakuensis* (13,56%), *E. pallida* (12,04%), *E. intricata* (3,07%), *E. faurei* (2,16%), *E. caprovina* (0,83%), *E. granulosa* (0,33%) e *E. ahsata* (0,33%) (Menezes et al., 2001).

No município de São João da Ponte, norte de Minas Gerais, Silva (2006) acompanhou o comportamento da infecção natural por *Eimeria* spp. em cordeiros lactentes criados em sistema semi-intensivo. Os cordeiros iniciaram a eliminação de oocistos entre os 16 e 32 dias de idade. A eliminação de oocistos caracterizou-se por altos níveis de infecção (picos excretórios) na sétima e décima semanas com posterior declínio na intensidade de eliminação de oocistos, indicando desenvolvimento de imunidade. Foram detectadas 11 espécies do gênero *Eimeria*: *E. ahsata*, *E. crandallis*, *E. faurei*, *E. intricata*, *E. ovina*, *E. ovinoidalis/E. caprovina*, *E. pallida*, *E. parva*, *E. punctata* e *E. granulosa*. As infecções mistas predominaram durante o período experimental, sendo encontrada até nove espécie por amostra.

No nordeste brasileiro, estudos de identificação e prevalência de *Eimeria* spp. são escassos. No Estado da Bahia, Santana et al. (1983) encontraram seis espécies em ovinos, por ordem decrescente de incidência: *E. arloingi* (*E. ovina*), *E. ninakohlyakimovae* (*E. ovinoidalis*), *E. ahsata*, *E. parva*, *E. intricata* e *E. faurei*.

Um experimento realizado no Estado do Ceará visou a identificação de espécies do gênero *Eimeria* spp. em ovelhas adultas e o acompanhamento do curso da infecção nos seus respectivos cordeiros desde a terceira semana até seis meses de idade. Neste estudo, Vieira et al. (1999) registraram nove espécies de *Eimeria* nos animais jovens: *E. parva*, *E. granulosa*, *E. crandallis*, *E. ahsata*, *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. caprovina*, *E. faurei* e *E. intricata*. As mesmas espécies foram identificadas nas ovelhas adultas, exceto *E. caprovina* e *E. intricata*. Os mais altos níveis de eliminação de

oocistos em cordeiros ocorreram, em ordem decrescente de intensidade: durante a nona, décima primeira e décima quinta semanas de vida, com declínio da infecção com o avançar da idade dos cordeiros. A eliminação de oocisto pelas ovelhas foi baixa, nunca excedendo 220 OOPG durante o período de estudo.

Diversos trabalhos na literatura abordam que diferenças sazonais (Hidalgo-Argüelo e Cordero Del Campillo, 1987; Reginsson e Richter, 1997; Ahmed et al., 1992); faixa etária ou categorias de ovinos (Barutzki et al., 1990; Maingi e Munyua, 1994; Reginsson e Richter, 1997; Arslan et al., 1999; Menezes et al., 2001; Vasilková et al., 2004; Hassum e Menezes, 2005; Yakhchali e Golami, 2008) e diferentes sistema de produção ou manejo (Gauly et al., 2004) afetam a prevalência e a intensidade da infecção por este coccídio.

2.1.2.2 Infecção por *Eimeria* spp.

Os animais mais velhos usualmente são fonte de infecção para os mais jovens em virtude da eliminação freqüente de baixo número de oocistos em fezes por períodos longos (Foreyt, 1990). Ovelhas no pós-parto também podem eliminar grandes quantidades de oocistos (mais de 25×10^4). As fezes amolecidas e frequentemente diarréicas das ovelhas pós-parturientes facilitam a disseminação dos oocistos no ambiente. A contaminação fecal do úbere de ovelhas infectadas poderia ser a principal fonte de infecção para os lactentes até que iniciem do pastejo quando as pastagens tornam-se fontes de oocistos infectantes (Pout et al., 1966; Pout, 1976). Pout (1973) considera três fontes primárias de infecção no nascimento e imediatamente após o nascimento: oocistos oriundos de contaminação com fezes antigas na área de partos; oocistos que constantemente são eliminados pelas ovelhas; oocistos excretados por cordeiros.

Em cordeiros criados a pasto, os oocistos começam a aparecer nas fezes em torno de duas semanas de vida e à oitava semana, os oocistos estão presentes nas fezes de todos os cordeiros do rebanho. O pico de eliminação ocorre entre a oitava e a décima segunda semanas de vida com valores de 10^5 a 10^6 OOPG (Pout, 1976). Claramente dois fatores parecem determinar a infecção inicial: a idade em que ocorreu ingestão inicial dos oocistos e o tamanho da dose infectante (Pout, 1973).

Chapman (1974), no monitoramento do curso da infecção natural por coccídios adquirida nas pastagens, observou que oocistos apareciam nas fezes dos cordeiros à terceira semana de vida, e o pico de infecção somente ocorreu em torno da

décima semana com aproximadamente 50.000 OOPG. Seguindo padrão semelhante a outros trabalhos, o autor igualmente observou que após o pico ocorreu subsequente declínio na produção de oocistos.

Manson (1977) verificou o aparecimento de oocistos nas fezes 19-37 dias com média de 26 dias depois do nascimento. Aos 40 a 50 dias de idade, a eliminação de oocistos atingiu um pico com valor médio de 25×10^4 OOPG e após esse período, a média de produção de oocisto declinou. Quando os cordeiros estavam com 150 a 170 dias de idade, a produção de oocistos chegou a uma média de valor em torno de 5×10^3 OOPG.

O experimento de Pout et al. (1966) demonstrou que os cordeiros podiam se infectar precocemente logo depois do nascimento e na quarta semana de idade todos os cordeiros eliminavam oocistos. Cordeiros de dois a oito meses de idade, aparentemente saudáveis, eliminam grande número de oocistos nas fezes (25×10^4 a 50×10^4 OOPG). Aos seis meses de nascimento o número de oocistos eliminados caiu progressivamente até 10^2 a 5×10^3 OOPG, valores similares aos de ovelhas adultas. Este estudo evidenciou que cordeiros aparentemente saudáveis e criados a pasto têm uma alta carga parasitária nas primeiras semanas de vida, que diminui com o avançar da idade do animal. Atribuiu-se ser as ovelhas a principal fonte de contaminação para os cordeiros até eles iniciarem o pastejo, quando então as pastagens contaminadas tornam-se fonte de oocistos infectantes.

Há considerável variabilidade individual na eliminação de oocistos entre os cordeiros. Essa variação pode ser resultado da diferença na susceptibilidade; variação no número de oocistos ingeridos e contínuo desafio de oocistos infectantes, o estado nutricional e de saúde, bem como a diferença individual no exoencistamento de coccídio no interior do hospedeiro. (Pout et al., 1966; Pout e Catchpole, 1974; Manson, 1977; Muwalla e Abo-Shehada, 1991).

A despeito do grande número de oocistos produzido durante a infecção, Manson (1977) observou que nenhum dos cordeiros mostrou sinal clínico de coccidiose. Pout et al. (1966) igualmente observaram que altas contagens de oocistos na primeira semana após o nascimento não necessariamente foi acompanhada de sintomas clínicos da doença. Estes autores atribuíram a ocorrência de doença clínica a um conjunto de outros fatores que se somam a carga parasitária, tais como: estado nutricional e de saúde do hospedeiro, sistema de manejo, condições estressantes e as espécies que compõe a infecção parasitária.

2.1.3 Patofisiologia da Eimeriose

A superfície epitelial das vilosidades do intestino delgado consiste de uma única camada de células principais que são produzidas nas criptas e deslocam-se para as vilosidades, e depois de quatro dias de vida, são lançadas no lúmen intestinal. A produção de células principais é influenciada por vários fatores, mas tem-se mostrado que a subnutrição e mudanças bruscas de dieta podem afetar o número de células produzidas. Se a reposição de novas células é prejudicada, ou ocorrer a morte das células principais, as vilosidades atrofiam e se tomam achatadas (Pout, 1976).

O dano ao hospedeiro relativo à eimeriose é devido primariamente à destruição de células das vilosidades intestinais, causadas por estágios invasivos do parasito. Um oocisto ingerido pode resultar na destruição de milhares de células durante o processo de formação de novos oocistos em decorrência da reprodução assexuada e sexuada. As células epiteliais são unidas por junções das membranas plasmáticas adjacentes, formando uma barreira epitelial, pela qual a água, os eletrólitos, os nutrientes e fluidos atravessam por difusão. Nas infecções por coccídios pode haver descontinuidade nesta barreira e danos celulares que permitem o extravasamento de sangue, plasma e proteínas para lúmen intestinal, e, desse modo afetar o funcionamento do intestino, além de que possibilita a migração de bactéria do intestino para os tecidos (Foreyt, 1990; Lima, 2004).

Mudança na constituição sanguínea do hospedeiro pode ocorrer em infecções graves por coccídios. Nessas circunstâncias os níveis de potássio tornam-se elevados e os de sódio diminuídos. Mudanças extremas nesses dois eletrólitos podem ser responsáveis pela destruição de células e o hospedeiro pode morrer por desequilíbrio eletrolítico bem como pela ação direta e destrutiva do parasito (Fitzgerald, 1980). Radha e Harikrishnan (2003) observaram redução significativa do conteúdo de hemoglobina eritrocitária, contagem global de eritrócitos, volume globular e contagem global de leucócitos em ovelhas infectadas naturalmente e experimentalmente por coccídios quando comparadas a ovinos clinicamente normais. Os níveis de proteína sérica, albumina e glicose não apresentaram alterações significativas nos valores normais, mas nos animais infectados os valores desses parâmetros bioquímicos estavam reduzidos quando comparados a animais não infectados. Em contra partida, estudos de Romaniuk et al. (1993) demonstraram que infecções naturais por coccídios não influenciaram parâmetros hematológicos e bioquímicos em cordeiros.

Em um animal saudável, a maior parte da atividade absorptiva acontece na porção anterior e alta do intestino delgado e a porção mais baixa recebe o material de

menor digestibilidade. Em eventos de má absorção na porção alta do intestino, contudo, ocorre um aumento compensatório da absorção na região posterior. Mas em algumas circunstâncias, a má absorção na porção anterior é seguida de crescimento excessivo de bactérias na parte inferior, com concomitante redução da absorção, diarreia e perda de fluidos (Pout, 1976).

É conhecido que diferentes espécies de coccídios colonizam diferentes áreas do intestino. Em condições experimentais, a administração de grande número de oocistos é seguida da ocorrência de atrofia das vilosidades em áreas específicas do intestino (Pout et al., 1966). Em geral, espécies que parasitam a porção final do intestino grosso tendem a ser mais patogênicas do que aquelas que acometem a porção inicial do intestino delgado (Gregory et al., 1980). A gravidade e o curso da doença são frequentemente determinados pelo número de oocistos ingeridos, número de células intestinais invadidas, pela quantidade de tecido afetado devido à presença ou atividade do parasito, a espécie de *Eimeria* presente, fatores estressantes no ambiente, a idade e estado imunitário do hospedeiro (Fitzgerald, 1980; Foreyt, 1990; Lima, 2004).

A destruição de células das criptas frequentemente resulta em desprendimento da mucosa intestinal e enterite hemorrágica. Diarreia e septicemia bacterianas, via de regra, acompanham os surtos de eimeriose (Foreyt, 1990).

2.1.4 Diagnóstico coprológico

O diagnóstico correto da eimeriose pode ser difícil por se tratar de uma doença multifatorial. Evidências de campo indicam que surtos de diarreia são mais comumente associadas a perturbações nutricionais ou a infecções helmínticas e quando estes são investigados e excluídos, só então poderia se atribuir aos coccídios.

Certamente a contagem de oocistos nas fezes pode não ser parâmetro preciso para um correto diagnóstico. Observa-se que existe uma grande variação individual no OOPG e que a maioria dos animais, sem sinais clínicos da doença, libera grande quantidade de oocistos nas fezes (10^4 e 10^5 OOPG) (Pout et al., 1966; Pout, 1976). Geralmente animais que apresentam doença clínica grave com a presença de diarreia sanguinolenta, apresentam baixa contagem de oocistos, e nenhuma lesão específica no intestino (Gregory et al., 1980). As lesões *post-mortem*, que concederiam o diagnóstico específico pela presença de estágios endógenos do parasito, não são facilmente disponíveis devido a baixa mortalidade na maioria dos surtos (Pout et al., 1966; Michael e Probert, 1970).

De acordo com Gregory et al. (1980), geralmente o diagnóstico de eimeriose é feito quando os cordeiros com cinco ou seis semanas de idades com diarreia apresentam: baixa carga de helmintos; alta eliminação de oocistos (10^5 OOPG) predominando as espécies *E. crandallis* e *E. ovinoidallis*; presença de oocisto deformado; lesões intestinais que podem ser visualizadas como uma massa de coccídio em raspado de mucosa e; algumas vezes, resposta clínica a terapia com sulfonamida.

Resultados de outras investigações mostram que cordeiros podem apresentar eimeriose clínica quando excretam poucos oocistos nas fezes, portanto deve-se ter cuidado ao interpretar o OOPG de animais jovens devido à alta variabilidade inerente a esta contagem. Contudo, a contagem fecal de oocistos associada a sinais clínicos poder ajudar a confirmar o diagnóstico de eimeriose (Manson, 1977). Segundo Gregory et al. (1980) para se chegar a um diagnóstico racional é importante o conhecimento da história e do quadro clínico do rebanho, tendo como suporte a investigação laboratorial de um grande número de casos.

As diferentes espécies de *Eimeria* que infectam ovinos apresentam variações quanto a patogenicidade, assim, uma simples contagem de oocistos nas fezes sem identificação de espécies de *Eimeria* é de valor limitado (Ross, 1968). A indicação de qual(is) espécie(s) é responsável pelo quadro clínico pode ser obtida determinando-se a proporção das diferentes *Eimeria* spp. A diferenciação das espécies no material fecal mostra a espécie predominante, que em associação com altas contagens (acima de 10^5) pode dar melhor indicação de patogenicidade. A comparação entre espécies que predominam em animais doentes e entre os saudáveis reforça o conhecimento sobre qual(is) espécie(s) estão implicadas na doença clínica ou em surtos (Gregory et al., 1980). As espécies de *Eimeria* de ovinos podem ser diferenciadas pelas características morfológicas do oocisto (Long e Joyner, 1984).

Algumas espécies de *Eimeria* spp. podem ser identificadas com oocisto não esporulado, mas o estudo de oocistos esporulados é a forma mais recomendada. O processo de esporulação pode ser feito misturando fezes com solução de bicromato de potássio a 2,5%; a mistura é colocada em camada fina em placa de Petri permanecendo por tempo variável de acordo com a espécie do parasito e a temperatura. A solução de bicromato de potássio previne crescimento bacteriano na amostra que possam destruir o protozoário, e a camada fina é necessária para fornecer condições ótimas de oxigenação para os oocistos (Levine, 1961).

O sítio da lesão pode ser indicativo de qual *Eimeria* está causando problemas. Por exemplo, *E. crandallis* e *E. ovinoidalis* são conhecidas por causar lesões no íleo, e em casos mais avançados, causando sérios danos no cécum (Gregory et al., 1980).

Uma boa indicação laboratorial de doença aguda é a presença de oocistos deformados e com baixa taxa de esporulação. Isso é explicado pela saturação dos sítios intestinais de predileção de determinada espécie (Pout, 1965).

A determinação da prevalência e o diagnóstico específico das espécies de *Eimeria* spp., especialmente das mais patogênicas, pode prover informações importantes para formulações de tratamento apropriado e programas de controle efetivo (Silva e Miller, 1991).

2.2 CRIPTOSPORIDIOSE EM OVINOS

2.2.1 Taxonomia e aspectos biológicos de *Cryptosporidium* spp.

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa

Classe: Sporozoea

Subclasse: Coccidia

Ordem: Eucoccidiida

Subordem: Eimeriina

Família: Cryptosporidiidae

Gênero: *Cryptosporidium*

O ciclo de vida das espécies de *Cryptosporidium* é direto, monoxênico e se completa totalmente no trato gastrointestinal (intestino delgado e cólon). O *Cryptosporidium* segue padrão similar descritos para outros coccídios entéricos como *Eimeria* spp., que inclui um ciclo merogônico com duas gerações de merontes, um ciclo gametogônico com macro e microgametas, que juntos dão origem a um zigoto seguido de esporogonia para formação de um oocisto infectante (esporulado), estágio de maior importância para dispersão, sobrevivência e infectividade do parasito. Todos os estágios se desenvolvem intracelularmente nas células epiteliais da mucosa intestinal e o oocisto liberado com as fezes do hospedeiro é esporulado e infectante, diferente da *Eimeria* spp. no qual o processo de esporogonia, para formação de oocistos infectivos, ocorre no

meio ambiente (De Graaf et al., 1999; Tzipori e Ward, 2002; Ramirez et al., 2004). Os oocistos de *Cryptosporidium* spp. podem sobreviver por vários meses, desde que em ambiente úmido e livre de ação solar direta. Temperaturas abaixo de 0°C e acima de 65°C são letais aos oocistos, mas eles podem sobreviver entre estas condições extremas (Foreyt, 1990; Robertson et al., 1992).

Estudos de genotipagem de isolados de *C. parvum* têm demonstrado a existência de distintos genótipos (Fayer et al., 2000). Alguns desses genótipos têm sido isolados somente em uma espécie ou classe particular de hospedeiros como os genótipos suíno e marsupial. O genótipo tipo 2 de *C. parvum* ou genótipo bovino ou de animais de criação pecuária pode ser compartilhado entre humano e animais domésticos e artiliodactilos, implicado no ciclo zoonótico de transmissão animal-humano (Fayer et al., 2000; Monis e Thompson, 2003; Hunter e Thompson, 2005).

2.2.2 Epidemiologia da criptosporidiose

A criptosporidiose em ovinos foi descrita pela primeira vez na Austrália em cordeiros com um a três semanas de idade (Barker e Carbonell, 1974). Posteriormente, Snodgrass et al. (1984) confirmaram o papel do *Cryptosporidium* como agente parasitário capaz de produzir doença em um experimento com cordeiros isentos de outros enteropatógenos.

Cryptosporidium parvum, *Cryptosporidium andersoni* e *Cryptosporidium bovis*, três espécies do gênero *Cryptosporidium* descritas em ruminantes domésticos, apenas o *C. parvum* tem sido encontrado infectando ovinos. (De Graaf et al., 1999; Lindsay et al., 2000; Fayer et al., 2000, Ramirez et al., 2004, Fayer et al., 2005).

A infecção em cordeiros se dá através da ingestão de oocistos eliminados nas fezes de neonatos infectados ou adultos assintomáticos. Ovelhas no período de pré-parto e lactação podem excretar oocistos de *Cryptosporidium* spp. sem apresentarem doença clínica (Xiao et al., 1993).

Xiao et al. (1994) verificaram que a eliminação de oocistos tem início somente no parto com baixa eliminação (100 a 5.700 OOPG), mas mesmo assim esses autores sugerem que as ovelhas exerçam um papel inicial importante na infecção por *Cryptosporidium* spp. em cordeiros. Os resultados obtidos por Ortega-Mora et al. (1999) confirmaram o aumento da eliminação de oocisto do parasito nas fezes de ovelhas periparturientes, uma semana antes do nascimento dos cordeiros e na primeira semana pós-parto. Os ruminantes adultos assintomáticos são considerados fonte

adicional da infecção para neonatos e contribuem para manutenção da infecção nos períodos de partos (De Graaf et al., 1999; Causapé et al., 2002).

A criptosporidiose em ovinos é doença de animais jovens, geralmente entre 5 a 10 dias de idade, e é mais branda que a coccidiose (Fayer, 1990; Causapé et al., 2002).

Dependendo de fatores relacionados ao parasito, hospedeiro e sua imunocompetência, o período pré-patente varia de 1 a 3 semanas. Na maioria dos ruminantes domésticos esse período varia ente 2 a 14 dias. O período patente pode variar entre as diferentes espécies de hospedeiros, variando de dias a meses. Snodgrass et al. (1984) descreveram que em infecção experimental por *Cryptosporidium* spp. em cordeiros, o parasito é excretado do 3º ao 14º dia pós-infecção.

Em condições naturais, a maioria das infecções nos cordeiros ocorre com menos de duas semanas de idade (Xiao et al.,1994). A aquisição de resistência à infecção e o efeito desta no desenvolvimento da criptosporidiose em cordeiros está relacionada à idade do animal e independe da imunidade adquirida. A extensão do período pré-patente, a redução da eliminação de oocistos e a diminuição da severidade dos sinais clínicos ocorrem com o aumento da idade do cordeiro (Ortega-Mora e Wright, 1994).

Características marcantes como baixa dose (1 a 10 oocistos) necessária à infecção; possibilidade dos oocistos serem infectantes ao serem excretados; sobrevivência do oocisto no ambiente por semanas ou até meses e a dispersão ambiental que leva a contaminação de água e alimentos são fatores que influenciam a epidemiologia da infecção (Cacciò et al., 2005; Foreyt, 1990). Moscas sinantrópicas podem também estar envolvidas na epidemiologia da criptosporidiose, pelo fato de carregarem oocistos viáveis de *C. parvum* adquiridos naturalmente de fontes não higiênicas (Graczyk et al., 2003).

Os potenciais fatores de risco para infecção por *C. parvum* em cordeiros foram analisados por Causapé et al. (2002) em 89 fazendas pertencente a duas regiões da província de Zaragoza à nordeste da Espanha a presença de cordeiros diarréicos foi o único fator significativamente associado ao aumento do risco de infecção. O baixo número de cordeiros e a limpeza da área onde ocorrem partos nas fazendas são fatores associados a diminuição do risco de infecção pelo parasito em cordeiros.

Alonso-Fresán et al. (2008), no trabalho para estabelecer a associação entre as práticas de manejo de ovinos e criptosporidiose em 37 fazendas no México central, verificaram que o uso de cama, local de pastejo e a limpeza das mamadeiras de leite são fatores associados a infecção por *Cryptosporidium* spp. em ovinos.

Com relação a sazonalidade, alguns estudos observaram as maiores ocorrências da infecção por *Cryptosporidium* spp. nos períodos chuvosos (Causapé et al., 2002; Green et al., 2004).

A maioria dos dados de prevalência da infecção por *C. parvum* em animais são relatadas em bovinos, entretanto estudos epidemiológicos em todo mundo tem concluído que este protozoário é comum em rebanhos ovino.

No Brasil, Green et al. (2004) estudaram a prevalência da criptosporidiose em três raças de cordeiros entre 1 e 4 meses de idade criados a pasto no Estado de São Paulo. Constataram uma positividade de 34,8% de *Cryptosporidium* spp. nas amostras oriunda da raça Santa Inês. Em Pernambuco, Tembue et al. (2006), encontraram prevalência de 3,7% (3/81) de *Cryptosporidium* spp. em ovinos entre 3 meses a 4 anos de idade, no município de Ibimirim. Silva et al. (1990), no município de Guaíba, Estado do Rio Grande do Sul, encontraram prevalência de 10% em cordeiros.

Causapé et al. (2002) identificaram oocistos do parasito em 59% das amostras fecais de 584 cordeiros examinadas pela técnica de coloração de Ziehl-Neelsen modificada (ZNM) em Zaragoza, localizado no nordeste espanhol.

Na Turquia, Sevinç e Derinbay (2005) realizaram pesquisa de oocistos e coproantígenos de *C. parvum* em 471 amostras fecais de cordeiros entre 01 e 60 dias utilizando a técnica de ZNM e ELISA. A prevalência de acordo com os grupos etários foram 2,35%, 4,73%, 3,33% e 2,07% pelo ZNM e 7,06%, 12,84%, 8,33% e 7,53% pelo ELISA nas faixas de idade de 1-7 dias, 8-14 dias, 15-30 dias e 31-60 dias, respectivamente.

Na região nordeste do México, uma pesquisa para *Cryptosporidium* spp. pela técnica do ZNM em 20 fazendas selecionadas aleatoriamente encontrou uma prevalência de 20,09% (Fresán et al., 2004).

No nordeste da Espanha, Castro-Hermida et al. (2007b) examinaram amostras fecais de 98 cordeiros com idade inferior a um mês pela técnica de ZNM, encontrando uma prevalência de 31% (30/98). Em outro trabalho desenvolvido na mesma região na Espanha, Castro-Hermida et al. (2007a) observaram prevalência de 5,3% para *Cryptosporidium* spp. em 446 ovelhas adultas assintomáticas selecionadas aleatoriamente de 38 fazendas na Galícia.

Em três províncias da Zâmbia, amostras fecais foram coletadas de 152 cordeiros com menos de três meses de idade oriundos de 18 fazendas para pesquisa de *Cryptosporidium* spp. usando ELISA. Verificou-se uma prevalência da infecção de 12,5% entre os animais examinados (Goma et al., 2007).

2.2.3 Patofisiologia da criptosporidiose

As principais manifestações clínicas da criptosporidiose em ovinos neonatos são apatia e depressão, anorexia, dor abdominal, e principalmente diarreia acompanhada por eliminação de grande número de oocistos. As fezes geralmente são de cor amarelada de consistência líquida ou pastosa e fétida (Angus et al., 1982; Snodgrass et al., 1984; Ortega-Mora e Wright, 1994).

A criptosporidiose é mais patogênica em ovinos recém-nascidos. A diarreia é sinal clínico e geralmente observado durante 2 a 12 dias (Foreyt, 1990). As lesões entéricas atribuídas à infecção podem ser caracterizadas por grave atrofia e fusão das vilosidades (Snodgrass et al., 1984).

Os mecanismos patogênicos através dos quais o *Cryptosporidium* spp. causa diarreia e mal absorção são pouco conhecidos. Sabe-se que nestes mecanismos pode estar envolvido o processo inicial de interação parasito-hospedeiro implicados na adesão e invasão intracelular como evento primário crítico na patogênese (Tzipori e Ward, 2002).

A diarreia se desenvolve quando a absorção intestinal é prejudicada ou a secreção é aumentada. Numa situação de normalidade fisiológica, o sódio é ativamente absorvido por células das vilosidades por mecanismos eletroneural (NaCl) e eletrogênica (co-transporte Na^+ / glicose ou Na^+ / aminoácido). Em contraste, ocorre ampla secreção de fluidos intestinais resultante da secreção ativa de Cl^- e/ou HCO_3^- por células da cripta intestinal, frequentemente combinado com a diminuição da absorção de Na^+ pelas células das vilosidades. Numerosos mediadores intracelulares regulam os processos de absorção e secreção intestinal por modificação do transporte de íons através dos enterócitos. Em adição, várias células da lâmina própria e do epitélio do intestino secretam importantes substâncias que modificam o transporte de íons e a permeabilidade epitelial (Clark e Sears, 1996).

A infecção pelo parasito inicia-se no intestino delgado, onde os esporozoítos infectam os enterócitos e posteriormente ocorre a amplificação, na qual formas endógenas podem ser encontradas na superfície epitelial tanto nas vilosidades quanto nas criptas. A infecção pode se alastrar em todo intestino, incluindo mucosa gástrica, intestinos delgado e grosso ou pode se limitar a pequenos segmentos intestinais. Geralmente quanto mais próximo do intestino delgado, mais severa e aquosa a manifestação da diarreia. As formas parasitárias prejudicam a atividade absorptiva das vilosidades intestinais e eventualmente causam eliminação dessas células do epitélio. No processo de reposição celular na tentativa de regenerar o dano ao epitélio, o

processo de aceleração da divisão celular leva a fusão das vilosidades e encurtamento das criptas, hiperplasia das células da cripta e infiltração de células inflamatórias na lâmina própria. A combinação de destruição das células absortivas e hiperplasia de células das criptas secretoras de Cl⁻ leva a um desequilíbrio entre os processos de absorção e secreção, adicionado a resposta imune com produção de mediadores inflamatórios, que estimulados pela presença do parasito, podem amplificar a resposta secretora (Clark e Sears, 1996; Tzipori e Ward, 2002).

2.2.4 Diagnóstico coprológico

A maioria das técnicas coprológicas raramente é apropriada para detecção de oocisto de *Cryptosporidium* spp.. Os oocistos são muito menores que os de outros coccídios e diferem destes em aspectos como a flutuação e técnicas de coloração (O'Donoghue, 1995).

Garcia et al. (1983) realizaram um estudo comparativo para verificar oocistos em amostras fecais conservadas em formalina a 10%, bicromato de potássio a 2,5% e álcool polivinílico, utilizando-se 15 métodos diferentes: microscopia óptica e de contraste de fase; flutuação em solução de Sheather; técnica de concentração em formalina; hidróxido de potássio a 10%; Giemsa; tricrômico; metanamina de prata; ácido periódico de Schiff; ácido-Schiff modificado; acridina orange; auramina-rodamina; coloração de Kinyou; carbolfucsina de Ziehl-Neelsen; e a álcool-ácido modificado. Dentre estas, a coloração carbolfucsina de Ziehl-Neelsen em fezes previamente conservadas em formalina 10% foi a recomendada para recuperação e identificação de *Cryptosporidium* spp..

A confirmação desse protozoário em amostras fecais, particularmente quando em pequeno número, pode ser difícil e demorado pelos métodos convencionais que se baseiam na observação direta de oocistos do parasito. Recentemente, teste de diagnóstico que utiliza imunomarcagem para detecção de antígenos tem sido amplamente empregados devido a facilidade de execução, fácil interpretação (cor, intensidade de fluorescência), além de serem mais sensíveis e específicos que os métodos parasitológicos convencionais. Garcia e Shimizu (1997) avaliaram nove kits de imunoenensaio (Ensaio imunoenzimático, Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay - ELISA e Imunofluorescência direta - IFD) disponíveis no mercado e verificaram que a sensibilidade do teste de ELISA para *Cryptosporidium* spp. foi de 98% (Alexon) e 99% (Meridian Premier); sendo que ambos apresentaram especificidade de 100%. Em todos

os testes de IFD, tanto a sensibilidade como a especificidade foi de 100% (Garcia e Shimizu, 1997).

A comparação entre o esfregaço fecal com a coloração álcool-ácido de Kinyoun modificado, ImmunoCard STAT! Rapid Assay, o ProSpecT microplate EZ (ELISA; Remel Inc., Lenexa, KS, USA) e o IFD Merifluor® mostrou que este último foi o mais sensível (Johnston et al., 2003). Tomando-se o IFD Merifluor® como padrão, as sensibilidades do ImmunoCard STAT!, do ProSpecT microplate EZ e do esfregaço corado com álcool-ácido foram de 67,6%, 70,3% e 78,4%, respectivamente e a especificidade foi igual ou maior que 99% em todos os casos.

2.3 GIARDÍASE EM OVINOS

2.3.1 Taxonomia e aspectos biológicos de *Giardia duodenalis*.

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Sarcomastigophora

Subfilo: Mastigophora

Ordem: Diplomonadida

Família: Hexamitidae

Gênero: *Giardia*

Para o entendimento da epidemiologia e patofisiologia, o ciclo deve ser considerado. A rota de transmissão pode ser descrita simplesmente como oral-fecal, por ter um ciclo biológico simples. Os cistos de *Giardia*, estágio infectante do parasito, são eliminados nas fezes do animal infectado e podem infectar outro animal por ingestão direta, por veiculação hídrica ou por alimentos contaminados com o cisto do parasito. Quando ingerido pelo hospedeiro, a exposição ao ácido estomacal e aos sais biliares estimula o rompimento da parede cística e a conseqüente liberação do trofozoíto, processo conhecido como exoencistamento que ocorre no duodeno. O trofozoíto fixa-se através do seu disco suctorial e coloniza a superfície das microvilosidades intestinais do duodeno e porção anterior do jejuno onde o pH alcalino favorece a multiplicação do parasito. No intestino delgado ocorre também o encistamento e os novos cistos são liberados nas fezes (Wolfe, 1992; Monis e Thompson, 2003).

A caracterização molecular de isolados morfologicamente indistinguíveis de *Giardia* provenientes de fezes de humanos e de outras espécies de mamíferos tem confirmado a heterogeneidade genotípica de *G. duodenalis* sendo que alguns desses genótipos parasitam hospedeiros específicos (Thompson et al., 2000). Os genótipos A e B infectam a mais ampla extensão de mamíferos, incluindo o homem e uma variedade de outros animais tais como ovinos. Os genótipos C e D têm sido encontrados unicamente em cães, o genótipo E em ovinos, bovinos e suínos e os genótipos F e G em gatos e ratos, respectivamente (Monis et al., 2003). Nesse contexto, Thompson et al. (2000) afirmam que a possibilidade de determinar os genótipos de *Giardia* se constitui uma poderosa ferramenta preditiva, não só para demonstrar a existência de transmissão zoonótica do parasito, mas também determinar as fontes de infecção em situações de surtos.

2.3.2 Epidemiologia da Giardíase

A transmissão por contato direto é maior fonte de infecção em qualquer sistema de produção (Geuden et al., 2009). Animais jovens podem ser considerados como uma das principais fontes de infecção para outros hospedeiros susceptíveis, já que a intensidade de eliminação de cisto é extremamente alta (Xiao, 1994; Xiao et al., 1994). A eliminação de cistos por ovelhas periparturientes pode constituir fonte inicial de infecção para os cordeiros. Xiao et al., (1994) demonstraram que a eliminação de cistos nas fezes das ovelhas prenhas iniciou duas semanas antes do parto e obteve dois picos de eliminação: no parto e na quarta semana pós-parto.

A infecção por *Giardia* em ovinos é relativamente comum e tem sido relatada em todo mundo (Kiorpes et al., 1987; Buret et al., 1990; Xiao et al., 1994; Díaz et al., 1996; Olson et al., 1997; Aloisio et al., 2006; Castro- Hermida et al., 2007; Santín et al., 2007).

Díaz et al. (1996), estudando a giardíase animal na província de Granada, sudeste da Espanha, verificaram que entre bovinos, ovinos e caprinos de uma fazenda, os ovinos eram os mais susceptíveis apresentando prevalência de 6,26%.

Olson et al. (1997) investigaram a prevalência de *G. duodenalis* em fazendas canadenses em diferentes grupos etários. *Giardia* foi identificada em 38% dos ovinos examinados, sendo a maior prevalência entre cordeiros (57%) quando comparado com adultos (9%).

Giangaspero et al. (2005) examinaram 325 ovinos provenientes de 20 fazendas investigadas da Itália Central, encontrando a prevalência de *G. duodenalis* de 1,5%.

Castro-Hermida et al. (2007) identificaram cistos *G. duodenalis* em 19,2% das ovelhas num estudo realizado em 60 fazendas leiteiras na Galicia, Espanha.

Geralmente, o uso de técnicas de diagnóstico com diferentes especificidades e sensibilidades determina diferentes estimativas de prevalência. Isto foi visto por Geurden et al. (2004) em trabalho com estimativa de prevalência de *G. duodenalis* em bovinos pela microscopia, ensaio imunoenzimático e imunofluorescência.

Olson et al. (1995) realizaram infecção experimental em cordeiros com trofozoítos de *Giardia* spp. e verificaram que 100% dos animais apresentavam a infecção duas semanas pós-inoculação. Foi observado um período pré-patente de 6-10 dias em infecção experimental em caprinos (Koudela e Vítovec, 1998)

Taylor et al. (1993) monitoraram semanalmente a infecção natural por *Giardia* em 86 cordeiros criados a pasto, do nascimento aos 63 dias de idade. Os primeiros cistos de *Giardia* spp. foram detectadas nas fezes dos cordeiros na terceira semana de vida (média de 23 dias) e o pico de eliminação de cistos ocorreu quando os animais atingiram 37 dias após o nascimento. O padrão de eliminação de cistos nas fezes foi irregular e intermitentemente.

Xiao et al. (1994) mostraram que a eliminação de cistos do parasito pode ocorrer desde o quarto dia de idade do cordeiro. A taxa de infecção e a intensidade da eliminação aumentaram na segunda semana de vida, chegando a um pico de eliminação na quarta semana, permanecendo em níveis altos até o desmame.

Olson et al. (1997), Bonfim et al. (2005) e Aloisio et al. (2006) observaram que animais jovens são mais frequentemente infectados com *Giardia* que adultos.

Bonfim et al. (2005) observaram que os possíveis fatores de risco à infecção com o parasito estão associados a idade do animal, o tipo de instalação com piso de terra e construído com ripas de madeira e as pobres condições higiênicas e sanitárias.

Taylor et al. (1993) observaram que condições climáticas adversas e a dieta em geral podem influenciar na resistência de cordeiros à infecção e a eliminação de cistos de *Giardia*.

2.3.3 Patofisiologia da giardíase

A patogênese da giardíase não tem sido completamente elucidada e pode ser considerada como processo multifatorial. Existem trabalhos que mostram o dano direto do trofozoíto à microvilosidade intestinal (Koudela e Vítovec, 1998), o envolvimento da resposta imune (Scott et al., 2000) e aumento da permeabilidade epitelial (Scott et al., 2002).

Existem relatos de sinais clínicos em cordeiros com giardíase (Kiorpis et al., 1987; Aloisio et al., 2006) incluindo fezes amolecidas, esverdeadas e com odor fétido, diarréia intermitente, déficit no crescimento e perda de peso, mas a maioria dos ruminantes não apresenta manifestações clínicas da doença (Taylor et al., 1993; Xiao, 1994; Xiao et al., 1994). Taylor et al. (1993), por sua vez, não verificaram relação entre presença de cistos de *Giardia* e diarréia.

Em indivíduos com infecção assintomática, o estudo histológico da mucosa duodenal e jejunal geralmente não apresenta nenhuma anormalidade. Em casos sintomáticos, achados podem incluir atrofia das vilosidades intestinais, hipertrofia das criptas, danos a células epiteliais e extenso infiltrado por linfócitos e leucócitos polimorfonucleares na lâmina própria (Wolfe, 1992). Observações feitas por Aloisio et al. (2006) em necropsia realizada em cordeiros que morreram por infecção natural ocasionada por *G. duodenalis* revelaram péssima condição corporal e moderada desidratação no exame geral do animal; espessamento da parede intestinal, contendo um denso exsudato catarral e os linfonodos mesentéricos apresentaram-se aumentados. O intestino apresentava uma moderada enterite crônica difusa com fusão das vilosidades e intensa infiltração de eosinófilos na lâmina própria.

Olson et al. (1995) relataram que cordeiros infectados experimentalmente por *G. duodenalis* apresentavam fezes amolecidas e diarréicas. Diminuição no ganho de peso e na conversão alimentar foi observada no grupo infectado.

2.3.4 Diagnóstico coprológico

O diagnóstico laboratorial de rotina de giardíase tem sido realizado pela observação de trofozoítos ou cistos em amostras fecais. Utiliza-se o método à fresco para detecção de trofozoítos em fezes liquefeitas e métodos de concentração por sedimentação e/ou flutuação para detecção de cistos. Mais recentemente, teste de diagnóstico rápido que utiliza detecção de antígenos tem sido amplamente empregado. Esses testes são altamente sensíveis e específicos quando comparados com observação

direta das formas do parasito. A detecção de antígenos pode ser feita por diversos ensaios, sendo os mais utilizados, o teste de imunofluorescência direta (IFD) que detecta cistos intactos e o teste imunoenzimático (ELISA) que detecta antígenos solúveis.

Poucos estudos de sensibilidade e especificidade são realizados com amostras de ruminantes. A grande maioria dos trabalhos de avaliação de testes diagnósticos é feito com fezes humanas, alguns dos quais estão descritos a seguir:

A sensibilidade e especificidade do MeriFluor® *Cryptosporidium/Giardia* (Meridian Bioscience, Inc., Cincinnati, OH, USA), teste baseado no princípio da imunofluorescência direta através de anticorpos monoclonais marcados com isotiocianato de fluoresceína contra determinantes antigênicos da parede celular dos oocistos de *Cryptosporidium* e dos cistos de *Giardia*, tem sido relatado ser de 96 a 100% para *Giardia* (Zimmerman e Needham, 1995; Garcia e Shimizu, 1997). A sensibilidade do teste de ELISA varia entre 99 a 100% (Garcia e Shimizu, 1997). Uma imunocromatografia de fase sólida não enzimática chamada de ImmunoCard STAT! *Cryptosporidium/Giardia* Rapid Assay (Meridian Bioscience, Inc.) que detecta e distingue *C. parvum* e *Giardia lamblia* em extrato aquoso de amostras fecais humanas tem sido utilizado (Garcia et al., 2003). Este teste pode ser feito em 10 a 12 minutos, e quando comparado com detecção visual do parasito padrão ou um ensaio de imunofluorescência, revela sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo de 93,5%, 100, 100 e 95,5%, respectivamente. Contudo, com baixo número de parasitos (10 a 100 cistos) pode ocorrer resultado falso negativo. Comparando três ensaios: o ImmunoCard STAT! Rapid Assay, o ProSpecT microplate EZ (ELISA; Remel Inc., Lenexa, KS, USA), o IFD Merifluor® foi o mais sensível (Johnston et al., 2003). Se o IFD Merifluor® for usado como padrão, o ProSpecT tem uma sensibilidade de 90,6% e a especificidade de 99,5% e o ImmunoCard STAT! tem sensibilidade de 81,3% e especificidade de 99,5%.

Não existe padrão ouro para diagnóstico para infecção por *G. duodenalis* em bovinos (Geurden et al., 2004). Num estudo recente de Geurden et al. (2004), comparando três testes diagnósticos para determinar a presença de *Giardia* em amostras fecais de bezerros oriundos de fazendas da Bélgica, revelou que o ELISA mostrou sensibilidade de 0,89 e especificidade de 0,90; IFD, 0,77 e 0,95, ambas consideradas técnicas de diagnóstico sensíveis e específicas, contudo a microscopia mostrou-se menos sensível (sensibilidade de 0,56), porém com boa especificidade (0,87).

3 JUSTIFICATIVA

A caprinovinocultura tem considerável importância socioeconômica no Brasil, especialmente para região nordestina.

De maneira geral os ovinos no Nordeste brasileiro são explorados em sistema de criação extensivo com reduzida adoção de tecnologia. Mesmo nessas condições, estudos na região têm confirmado a ocorrência de infecções subclínicas por parasitas do gênero *Eimeria* em cordeiros (Vieira et al., 1999).

O conhecimento das espécies de *Eimeria*, que acometem esses pequenos ruminantes em determinada região, bem como os fatores que interferem na intensidade da infecção adquirida pelos animais são imprescindíveis para implantação adequada de medidas de controle. É desconhecida a prevalência e a relativa importância econômica de *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* na criação de ovinos na região e, portanto, a influência desses agentes parasitários no processo produtivo.

Considerando a escassez de relatos a respeito das infecções por *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* em ovinos no Brasil, especialmente na região Nordeste, o presente trabalho tem como objetivo monitorar o curso da infecção por *Eimeria* spp. em cordeiros criados extensivamente em fazenda do sertão central potiguar, identificar as espécies desse gênero e averiguar a ocorrência *Cryptosporidium* spp. e *G. duodenalis* nesses animais.

Esse estudo representa o primeiro relato das infecções por esses agentes em ovinos no Estado do Rio Grande do Norte.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Estudar as infecções naturais por *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* em cordeiros da raça mestiça Santa Inês, criados extensivamente em fazenda do semi-árido do Estado do Rio Grande do Norte.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a cinética de eliminação de oocistos de *Eimeria* spp por acompanhamento do OOPG do nascimento ao terceiro mês de vida;
- Identificar as espécies de *Eimeria* no curso infecção, bem como a taxa de eliminação de oocistos das diferentes espécies;
- Investigar a frequência das espécies de *Eimeria*;
- Averiguar a ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* por meio de análise coprológica pela microscopia e teste imunoenzimático comercial;
- Investigar o aparecimento de diarreia através do acompanhamento da consistência fecal por atribuição de escores.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 LOCAL DA REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado na fazenda São Vicente, localizada no município de Lajes, pertencente ao Estado do Rio Grande do Norte (RN), Região Nordeste do Brasil, no período de Abril a Agosto de 2008 (FIG. 1).

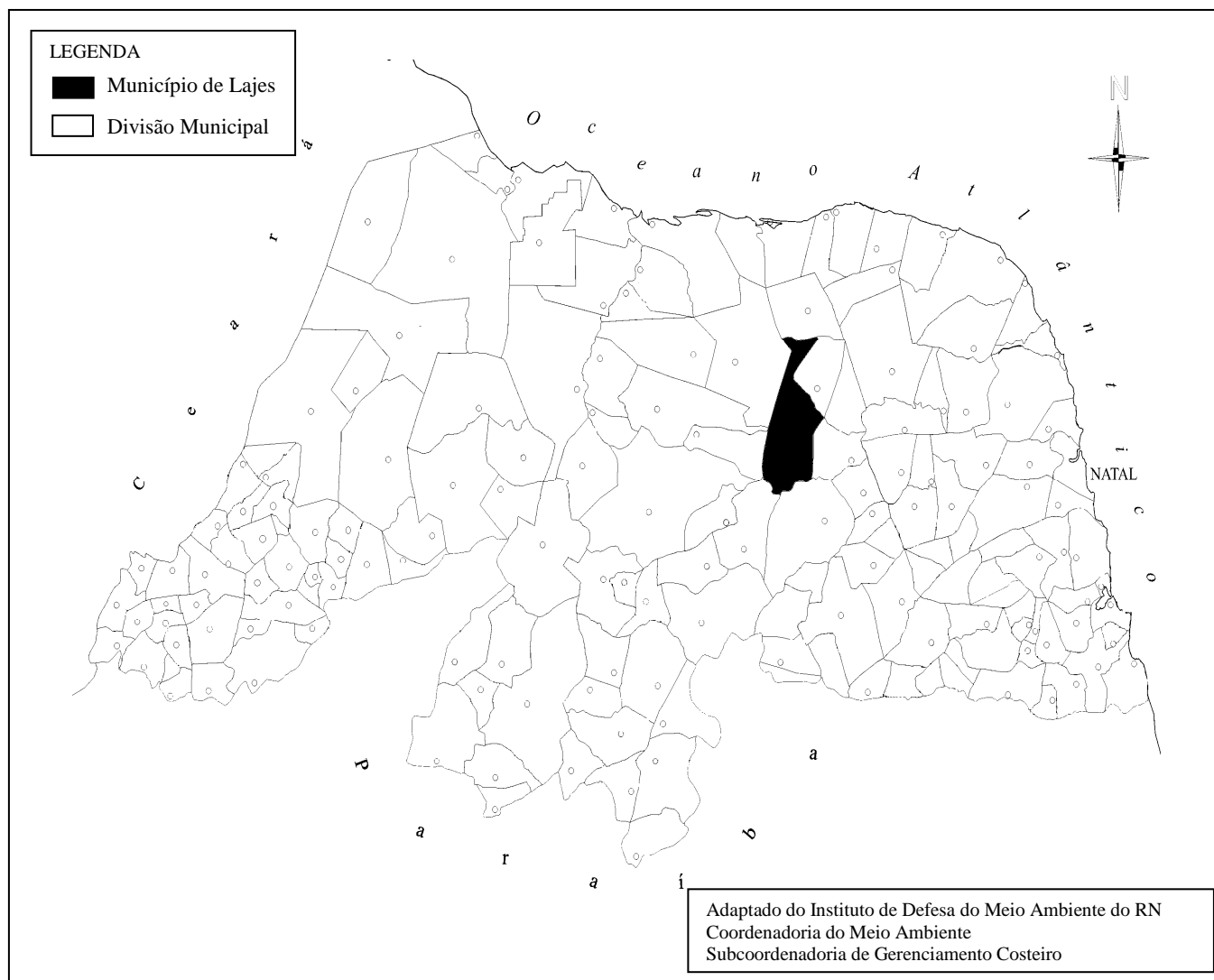


FIGURA 1: Divisão político-administrativa do Estado do Rio Grande do Norte com destaque ao município de Lajes.

Fonte: http://www.idema.rn.gov.br/anuario2007/mapas/Politico_Administrativo_2007.png

O município de Lajes situa-se na microrregião de Angicos, mesorregião Central potiguar e zona homogênea do planejamento Litoral Norte. Apresenta altitude média de 199 m em relação ao nível do mar e esta localizada nas coordenadas 05°42'00" de latitude sul e 36°14'41" de longitude oeste, distando 125 km de Natal, capital do estado (IDEMA, 2007).

O clima local é caracterizado como muito quente e semi-árido com registro de temperaturas médias anuais: máxima de 33,0 °C, média de 27,2 °C e mínima de 21,0 °C. A umidade relativa média anual é de 70% (RN, 2005). A precipitação total no ano de 2006 foi de 486 mm. Existem dois períodos bem definidos: uma estação chuvosa que compreende os meses de fevereiro a julho e o período seco, que ocorre em agosto a janeiro (posto meteorológico da EMPARN – Empresa de Pesquisa Agropecuária do RN).

A vegetação predominante caracteriza-se em Caatinga Hipoxerófila, vegetação de clima semi-árido, apresentando arbustos e árvores com espinhos, e Caatinga Hiperxerófila, caráter mais seco, com abundância de cactácea e plantas de porte mais baixo e espalhado. Dentre as espécies vegetais mais comuns observam-se a braúna (*Schinopsis brasiliensis*), juazeiro (*Ziziphus joazeiro*), marmeleiro (*Croton alagoensis*), mandacaru (*Cereus jamacaru*), jurema-preta (*Mimosa hostilis*), xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) e facheiro (*Pilosocereus pachycladus*) (IDEMA, 2007).

A principal atividade da fazenda São Vicente é a ovinocultura de corte, dispondo de uma área total de 1.042 hectares para criação no regime extensivo ou semi-intensivo, variável conforme época do ano e também disponibilidade de pastagens. No primeiro semestre de 2008, o rebanho era de aproximadamente 1.500 animais, sendo 1.300 matrizes, 200 marrans, ambas mestiças Santa Inês, e 16 reprodutores (05 Dopper e 11 Santa Inês).

O rebanho é vacinado contra clostridioses e raiva uma vez por ano. A vermifugação é feita no início do período chuvoso, ou quando os animais apresentam sinais relacionados à infecção verminosa, e também antes da entrada no confinamento.

A fazenda faz uso de coccidiostático (salinomicina) adicionado ao sal mineral, porém essa prática fica restrita aos períodos de estiagem, já que os cochos distribuídos nas pastagens não são cobertos.

Na fazenda, semeiam capim Buffel (*Cenchrus ciliaris*) e plantam a palma forrageira, tais como palma “miúda ou doce” (*Nopalea cochenillifera* (L.)S.D), “palma gigante ou graúda” (*Opuntia ficus-indica* Mill.), milho e leucena (*Leucaena*

leucocephala) que juntamente com vagem da algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw) DC.), espécie vegetal arbórea abundante no local, constituem o volumoso produzido no local para alimentação dos animais em confinamento.

5.2 MANEJO DOS ANIMAIS NA PROPRIEDADE

As matrizes são divididas em lotes de 200 animais e cada lote é identificado por uma cor de colar com placas metálicas numeradas presas ao pescoço.

Na propriedade adota-se o regime de monta contínua. O diagnóstico de gestação é feito através da observação dos sinais de prenhes realizado pelos tratadores e periodicamente ocorre separação das ovelhas reconhecidas como prenhas do resto do rebanho. As ovelhas amojadas ficam num pasto com ampla cobertura vegetal onde permanecem até o parto, sendo realizadas duas inspeções diárias para verificação de algum nascimento e, assim, realiza-se a cura do umbigo do cordeiro com tintura de iodo. A identificação e data do parto, assim como o sexo e escore corporal (P, M e G) do borrego são registrados nos arquivos da fazenda.

Os cordeiros permanecem junto com as mães até atingirem o peso médio de 15 kg, que ocorre geralmente entre dois e três meses de idade, quando então são desmamados e seguem para o confinamento.

Em 22 de março de 2008, um grupo de 60 fêmeas prenhas, foi separado do rebanho e alocado num novo pasto. Esse pasto no ano anterior ao experimento já havia sido utilizado como área de pastejo para um rebanho de cerca de 200 ovinos adultos. O pasto dispunha de cochos com sal mineral e pequenos bebedouros. Devido ao considerável afastamento do curral principal, nesse pasto foi construído um pequeno cercado de 100 m² (FIG. 2) desprovidos de cocho de comida e água, chão de terra batida e pouco sombreamento, no qual as fêmeas e os cordeiros eram recolhidos no final da tarde e soltos no início da manhã para pastejo. Desse rebanho nasceram os 27 animais utilizados no experimento que foi finalizado no dia 06 de agosto de 2008.



FIGURA 2: Cercado para recolhimento dos animais e realização das coletas ao entardecer, Fazenda São Vicente, Lajes, RN.

Na propriedade é estabelecido que os cordeiros que atingem o peso de aproximadamente 15 kg, pesados em balança, geralmente alcançados com idades entre 2 e 3 meses, são transferidos para o confinamento.

Os animais confinados recebem volumoso constituído de feno de capim buffel, vagem da algaroba, leucena e palha do milho. Água e sal mineral *ad libitum* e, duas vezes ao dia, um concentrado específico para engorda de ovinos comprado comercialmente (186g/animal) . Também são suplementados com uma mistura de sal grosso e melaço de cana de açúcar.

Durante o experimento, não foi administrado coccidiostático para os animais.



FIGURA 3: Animais em confinamento (área:14x10m), Fazenda São Vicente, Lajes, RN.

5.3 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados 27 cordeiros machos da raça mestiça Santa Inês, nascidos de parto simples ou duplo, acompanhados desde o nascimento até o terceiro mês de idade. Os animais foram identificados por placas metálicas numeradas penduradas no pescoço por meio de colares feitos de arame recoberto com tubo plástico.

Obedecendo ao manejo estabelecido na fazenda, no dia 10 de julho de 2008, doze animais do grupo experimental ao atingirem uma média de 15 kg, com idades entre oito e 11 semanas, foram transferidos para o confinamento (FIG. 3). Estes cordeiros e os quinze restantes que permaneceram no campo foram acompanhados semanalmente até o término do experimento.

5.4 COLETA DE MATERIAL

Para o monitoramento das infecções por *Eimeria*, *Cryptosporidium* e *Giardia*, coletas individuais de fezes foram realizadas em dias intercalados a partir do 2º até o 15º dia de vida, quando então as coletas passaram a ser semanais seguindo assim até a idade de 12 semanas do cordeiro.

Na coleta da amostra fecal foi utilizado um saco plástico fixado à região perineal do cordeiro (Silva, 2006). O coletor plástico dispunha de um orifício no qual era inserida a cauda do cordeiro e barbantes amarrados em cada extremidade do saco faziam a amarração no corpo do animal de forma alternada entre dorso e ventre (FIG. 4). Desse modo obtinham-se fezes sem contaminação ambiental e não limitava quaisquer movimentos do animal. O saco foi colocado por volta das 17:00h e retirado no início da manhã do dia seguinte cerca de 5:00h.

Os coletores com material fecal eram identificados e guardados a 4°C até o processamento da amostra.



FIGURA 4: Coleta de material fecal de cordeiros com auxílio do saco coletor fixado a região perianal, Fazenda São Vicente, Lajes, RN.

As amostras fecais receberam um escore padrão de acordo com a sua consistência, segundo Berriatua et al. (1994), que foram:

- Escore 1 (peletes) para sÍbalas firmes e bem formadas;
- Escore 2 (semi-peletes), sÍbalas amolecidas e agrupadas uma as outras;
- Escore 3 (pastoso);
- Escore 4 (semi-diarréia), fezes semi-fluidas;
- Escore 5 (diarréia), fezes fluidas de aparência aquosa.

5.5 EXAMES LABORATORIAIS

5.5.1 Processamento das amostras fecais

Durante todo período experimental, foram coletadas 456 amostras fecais individuais. Inicialmente, as amostras foram processadas pela técnica de centrifugo-flutuação em solução saturada de sacarose (Menezes e Lopes, 1995) e examinadas em microscópio no aumento de 100X. As amostras positivas para oocistos de *Eimeria* foram também avaliadas quantitativamente pelo método de contagem de oocistos por grama de fezes (OOPG) de acordo a técnica de Gordon e Whitlock (1939) descrita por Ueno e Gonçalves (1997).

5.5.2 Identificação das espécies de *Eimeria* spp.

As amostras fecais positivas no OOPG foram colocadas para esporular em solução aquosa de bicromato de potássio 2,5% (p/v) diretamente nas placas de petri permanecendo neste por sete dias, em temperatura ambiente (McKenna, 1972; Duszynski; Wiiber, 1997; Vieira et al., 1999). Após esse período, as amostras foram individualmente acondicionadas em frascos coletores devidamente identificados até a realização da identificação dos oocistos esporulados das espécies de *Eimeria*.

Os oocistos esporulados foram separados da mistura fecal e bicromato de potássio, utilizando a técnica de centrífugo-flutuação por solução de açúcar de Sheather modificado (Duszynski e Wiiber, 1997). Nas amostras que não se conseguiu recuperar oocistos na primeira centrífugo-flutuação, realizou-se mais duas operações adicionais.

Adotando-se a metodologia de McKenna (1972), foi feita identificação de 100 oocistos selecionados aleatoriamente no exame de microscopia óptica utilizando as objetivas de 40X e 100X, obtendo a porcentagem de cada espécie na amostra. Pesquisa adicional foi realizada à procura de alguma outra espécie em menor número. Foram identificados todos os oocistos em amostras contendo número de oocistos inferior a 100.

O número de OOPG por espécie foi calculado da contagem total de OOPG com base na porcentagem de diferentes espécies em cada amostra.

A identificação das espécies foi baseada nas características morfológicas como tamanho, forma, cor, presença ou ausência de capus micropilar e micrópila, textura da parede externa, forma dos esporocistos, presença ou não de resíduo dos esporocistos e suas características, corpo de Stieda e morfométricas dos oocistos

esporulados (comprimento e largura do oocisto e esporocistos), segundo parâmetros de Levine (1961), Vercruyssen (1982), Amarante e Barbosa (1992), Vieira et al.(1999), Hanssum et al. (2007). Os oocistos foram fotografados com câmera digital (DP 11), acoplada ao microscópico Olympus BX 40, utilizando a objetiva de 100X.

5.5.3 Diagnóstico de *Cryptosporidium* spp.

O diagnóstico de *Cryptosporidium* spp. foi realizado pela pesquisa de oocistos nos esfregaços fecais de amostras do nascimento até a quarta semana de vida.

Com o sedimento obtido pela técnica de sedimentação em formol-éter (ver página 51) foi feito o esfregaço fecal em lâmina de vidro, prosseguindo-se a técnica de coloração de Zielh-Neelsen modificado (ZNM) como descrito abaixo:

- Fazer o esfregaço fecal e deixar secar naturalmente;
- Fixar com metanol P. A. por 2 minutos;
- Retirar o excesso de metanol;
- Cobrir a lâmina com carbol-fucsina (1g de Fucsina básica, 90mL de fenol 5%, 10mL de álcool absoluto) por 20 minutos;
- Lavar a lâmina em água corrente para retirar o corante primário;
- Diferenciação é feita pelo H₂SO₄ a 5% por 30 segundos e repetida quando permanecerem resíduos fortes de fucsina;
- Lavar a lâmina em água corrente;
- Cobrir a lâmina com verde malaquita 0,5% por 2 minutos;
- Lavar a lâmina em água corrente, retirando o excesso do corante e deixar secar completamente;
- Observar a lâmina ao microscópio (aumento de 1000X).

Seguindo os parâmetros descritos por Castro-Hermida et al. (2002), o número de oocistos eliminados foram avaliados semi-quantitativamente de acordo com a média do número de oocistos contados em 20 campos microscópicos (aumento 1000X) selecionados aleatoriamente e atribuído os seguintes escores:

- Negativas (quando nenhum oocisto for detectado após o exame de no mínimo 100 campos microscópico (1000X);
- 1 (≤ 1 oocisto por campo);
- 2 (2-5 oocistos por campo);

- 3 (6-10 oocistos por campo);
- 4 (maior que 10 oocistos por campo).

5.5.4 Diagnóstico de *Giardia duodenalis*

As amostras de fezes da 1^a a 12^a semanas de vida dos cordeiros foram examinadas quanto à presença de cistos de *Giardia* pela técnica de concentração por sedimentação em formol-éter, que consiste nos seguintes passos:

- Pesar de 2g de fezes e diluir em aproximadamente 10 mL de formalina;
- Filtrar a suspensão fecal através de um tamis ;
- Colocar 5-6mL do filtrado fecal num tubo de 15mL;
- Acrescentar 5-6mL de éter P.A.;
- Homogeneizado e centrifugar por 10 minutos a 3500 rpm;
- Decantar o sobrenadante; com o sedimento remanescente, depositar uma gota deste numa lâmina e adicionar uma gota de lugol;
- Observar a lâmina ao microscópio óptico nos aumentos de 100 e 400X.

5.5.5 Imunoensaio enzimático (ELISA) para *Cryptosporidium* spp. e *G. duodenalis*.

Dois gramas de cada amostra fecal foi conservada em formol a 10% para realização do ELISA, através de kits comerciais (TechLab *Giardia* II e TechLab *Cryptosporidium* test), para diagnosticar *Cryptosporidium* spp. e *G. duodenalis*. As fezes conservadas e mantidas em temperatura ambiente foram processadas segundo instruções descritas pelo fabricante. Não foi realizada técnica de concentração prévia.

Como critério para seleção das amostras testadas pelo ELISA foi estabelecido que a partir das amostras positivas para *Giardia* pela técnica de concentração e para *Cryptosporidium* no esfregaço fecal far-se-ia um *screen* com ELISA em amostras de semanas anteriores as positivas e, dessa forma, poderia estimar qual idade que pode ocorrer infecções por esses agentes infecciosos no campo. Das 458 amostras colhidas foram selecionadas 67 amostras correspondentes as 8^a, 10^a e 12^a semanas para realização do ELISA para detecção de *Giardia* e 54 amostras das 3^a e 4^a semanas para diagnóstico de *Cryptosporidium*.

Um organograma da sessão de material e métodos (FIG. 5) está exposto na página 53.

5.6 DADOS METEOROLÓGICO

Na propriedade existe um pluviômetro, do qual foram obtidos dados diários da precipitação pluviométrica.

Um termo-higrômetro foi utilizado para registro semanal da temperatura e umidade. As leituras foram sempre verificadas no mesmo horário por volta das 8:30 h.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente foi realizada uma descrição das variáveis investigadas, com o objetivo de se caracterizar a amostra estudada. A correlação entre o número de oocistos por gramas de fezes e os respectivos escores das fezes foram avaliados através do coeficiente de correlação de Spearman, uma vez que estas medidas não seguiram uma distribuição de probabilidade normal.

Em todos os testes estatísticos, foi utilizado um nível de significância de 5%. As análises foram realizadas no software estatístico SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) versão 16.0. Os gráficos apresentados neste estudo foram construídos

Coleta de material

Dias alternados nos primeiros 15 dias de vida e semanalmente após esse período.

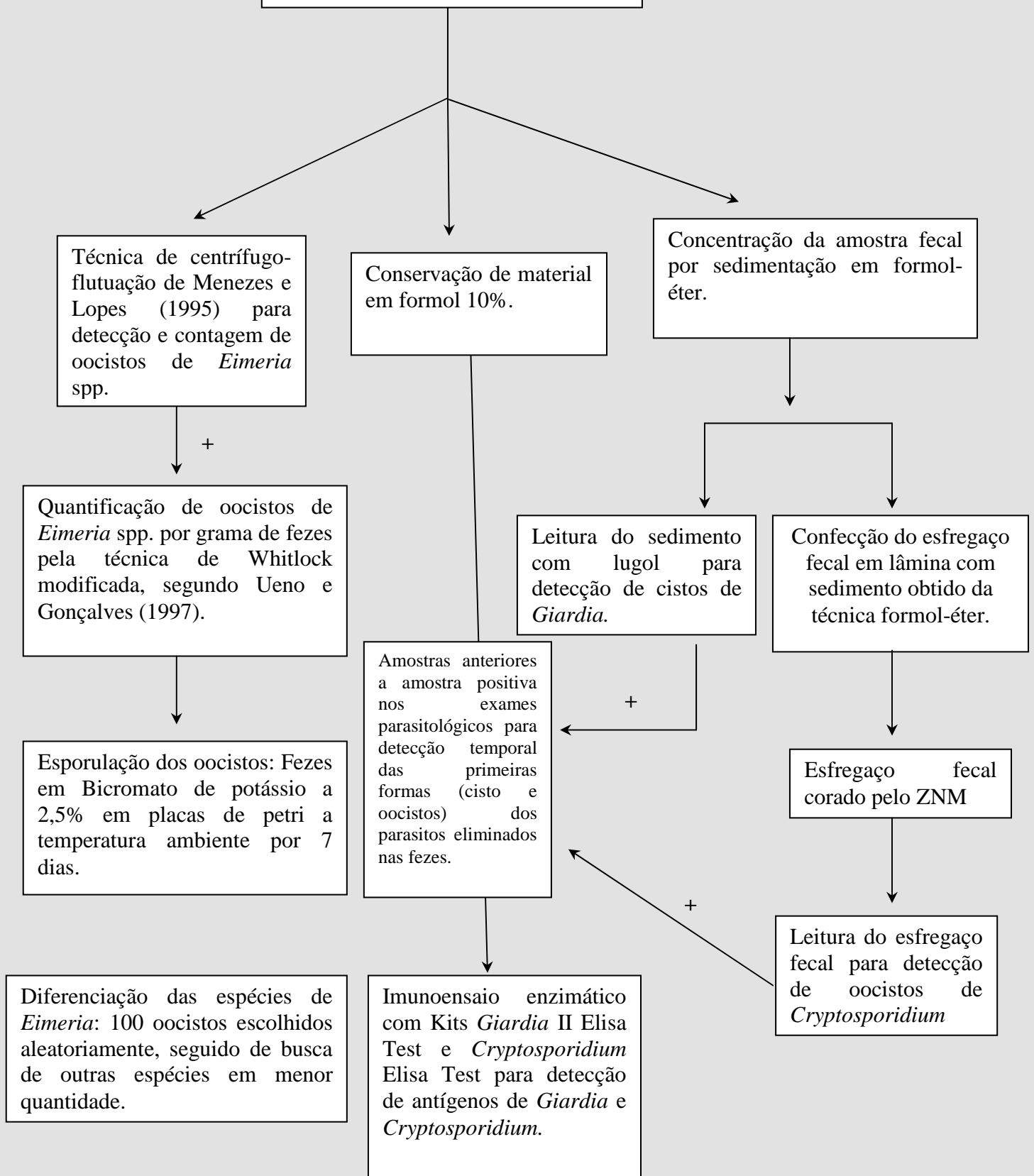


FIGURA 5: Organograma da sessão de material e métodos.

6 RESULTADOS

6.1 ESPÉCIES DE *Eimeria* IDENTIFICADAS EM CORDEIROS ATÉ A 12ª SEMANA DE VIDA.

Durante a fase experimental foram coletadas 456 amostras fecais, sendo detectados oocistos de *Eimeria* spp. em 201 amostras (44,1%). Destas amostras positivas foi realizada a identificação das espécies de *Eimeria* em 191 (95,0%) e em 10 amostras não foi possível a recuperação de oocistos após esporulação.

Oito espécies de *Eimeria* foram identificadas: *E. ahsata* (HONESS, 1942), *E. faurei* (MOUSS e MAROTEL, 1902), *E. ovina* (LEVINE e IVENS, 1970, sinónimo *E. bakuensis*, MUSAEV, 1970), *E. ovinoidalis* (MCDUGALD, 1979), *E. intricata* (SPIEGL, 1925), *E. granulosa* (CHRISTENSEN, 1938), *E. parva* (KOTLAN, MOSCY e VAJDA, 1929), *E. crandallis* (HONESS, 1942). Os dados morfométricos e fotos dos oocistos identificados no presente trabalho são apresentados na TAB. 2 e QUADRO 1, respectivamente. A frequência e predominância de cada espécie nas amostras fecais estão na TAB. 1.

TABELA 1: Frequência das espécies de *Eimeria* e sua predominância nas amostras fecais de cordeiros naturalmente infectados durante a primeira a 12ª semana de vida, Lajes – RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

Espécies	Frequência nos animais (n=27)		Frequência nas amostras (n=201)		Predominância (%)**
	Nº	%	Nº	%*	
<i>E. ahsata</i>	27	100	87	43,3	12,6
<i>E. crandallis</i>	27	100	132	65,7	20,4
<i>E. faurei</i>	24	88,9	59	29,4	8,9
<i>E. granulosa</i>	27	100	108	53,7	33,0
<i>E. intricata</i>	6	22,2	6	3,0	0
<i>E. ovina</i>	25	92,6	87	43,3	6,8
<i>E. ovinoidalis</i>	25	92,6	98	48,8	16,2
<i>E. parva</i>	27	100	110	54,7	2,1

* (nº amostra que contém a espécie/nºtotal de amostras positivas x 100);

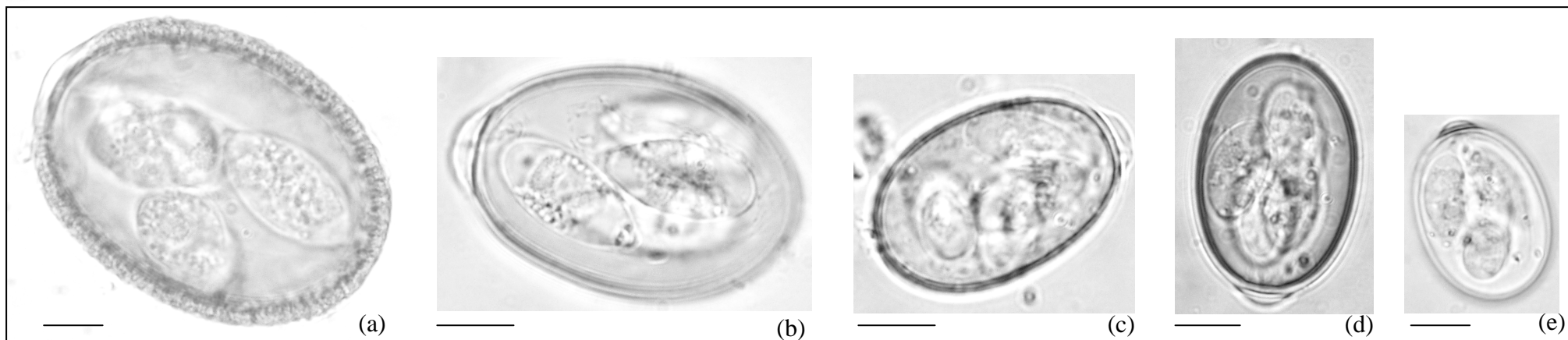
Nº total de amostras positivas = 201.

**% de amostras em que a espécie foi mais numerosa; n=191 amostras diferenciadas quanto à espécie

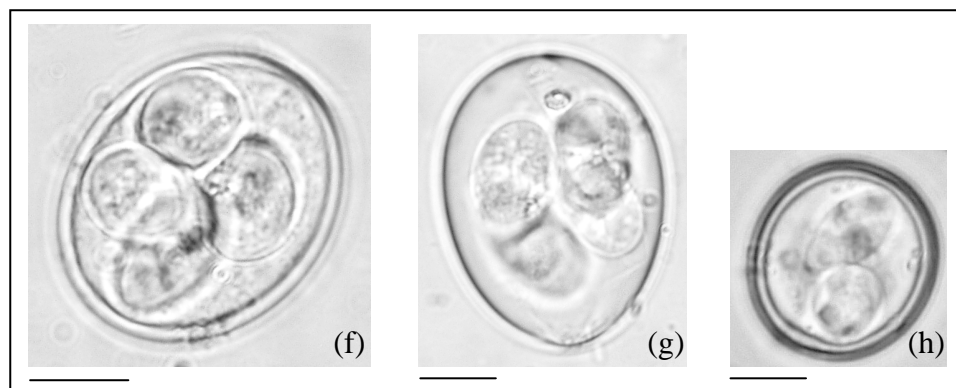
TABELA 2: Morfometria dos oocistos das espécies de *Eimeria* identificadas em cordeiros no município de Lajes, RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

Espécies	n° de medições	Oocisto			Esporocisto		
		comprimento (µm)	largura (µm)	índice morfométrico	comprimento (µm)	largura (µm)	índice morfométrico
<i>E. ahsata</i>	30	39,31 (34,08 - 44,304)	25,52 (23,86 - 27,26)	1,54 (1,25-1,86)	19,12 (17,04 - 20,45)	8,07 (7,95 - 9,09)	2,37 (1,57 - 2,13)
<i>E. crandallis</i>	30	25,45 (19,31 - 28,40)	19,61 (17,04 - 22,72)	1,30 (1,06 - 1,47)	12,23 (10,24 - 13,63)	6,63 (5,68 - 7,95)	1,85 (1,43 - 2,20)
<i>E. faurei</i>	30	32,40 (26,13 - 36,35)	23,44 (21,58 - 25,00)	1,38 (1,15 - 1,52)	15,40 (12,50 - 17,04)	8,48 (6,82 - 13,63)	1,84 (1,08 - 2,17)
<i>E. granulosa</i>	30	30,97 (26,13 - 35,22)	21,43 (19,31 - 22,72)	1,45 (1,30 - 1,72)	13,25 (11,36 - 14,77)	7,95 (6,82 - 9,09)	1,67 (1,43 - 2,00)
<i>E. intricata</i>	7	48,26 (43,17 - 52,26)	35,38 (32,94 - 38,62)	1,36 (1,21 - 1,53)	19,96 (18,18 - 20,45)	10,71 (10,22 - 11,36)	1,86 (1,78 - 2,00)
<i>E. ovina</i>	30	29,80 (27,26 - 34,08)	20,11 (18,18 - 21,58)	1,48 (1,31 - 1,76)	14,62 (12,50 - 15,90)	6,85 (6,82 - 7,95)	2,13 (1,67 - 2,33)
<i>E. ovinoidalis</i>	30	25,14 (22,72 - 28,40)	20,30 (18,18 - 21,58)	1,24 (1,16 - 1,39)	12,65 (11,36 - 14,77)	6,97 (6,82 - 7,97)	1,82 (1,57 - 2,17)
<i>E. parva</i>	30	19,39 (13,63 - 22,72)	17,00 (13,63 - 20,45)	1,14 (1,00 - 1,31)	10,41 (6,82 - 13,63)	5,68 (4,54 - 7,95)	1,83 (1,20 - 2,50)

Nota: Os oocistos foram medidos no aumento de 1000X.



Grupo de espécies de *Eimeria* com capus polar



Grupo de espécies de *Eimeria* desprovidas de capus polar

QUADRO 1: Fotos das espécies *Eimeria* de identificadas nas fezes de cordeiros naturalmente infectados, Lajes –RN, nascidos no período de março a agosto de 2008. (a) *E.intricata*; (b) *E. ahsata*; (c) *E. ovina*; (d) *E. granulosa* (e) *E. crandallis*; (f) *E. ovinoidalis*; (g) *E. faurei*; (h) *E. parva*. Barra = 8 μ m.

6.2 CINÉTICA DA ELIMINAÇÃO DE OOCISTOS DE *Eimeria* spp. EM CORDEIROS DA PRIMEIRA A 12ª SEMANA DE IDADE.

A média de OOPG de *Eimeria* spp. excretados pelos cordeiros da primeira à 12ª semana de vida estão apresentadas no GRAF. 1 e TAB. 3. Os animais começaram a eliminar oocisto nas fezes a partir da terceira semana de idade. Elevada eliminação de oocistos ocorreu entre a sexta e oitava semana, com pico de eliminação concentrado à sexta semana com média de 77.501,30 OOPG. Após o pico de eliminação, o OOPG caiu drasticamente à sétima semana (25.965,3 OOPG) e na oitava semana novamente elevou-se e desta vez a taxa de eliminação OOPG foi mais baixa (27.575), cerca de 36% menor em relação ao pico excretório. A partir da nona semana o número de oocistos eliminados apresentou queda gradual e progressiva até atingir o valor médio de 2.229,3 OOPG à décima segunda semana de vida.

Marcante variação individual no número de OOPG pôde ser observada durante todo período experimental, variando entre zero a 465.400 OOPG (TAB. 3).

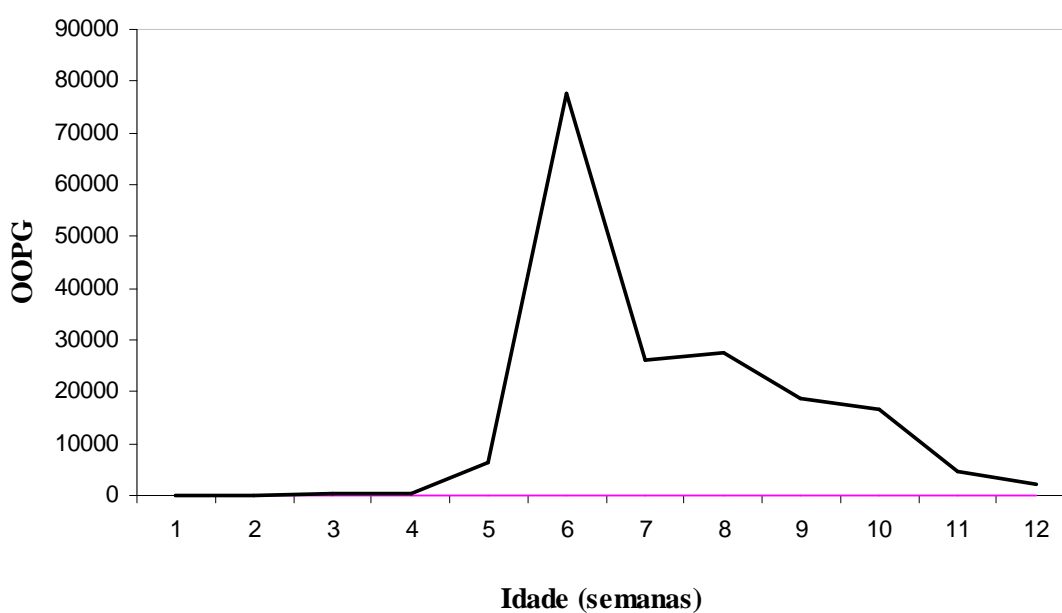
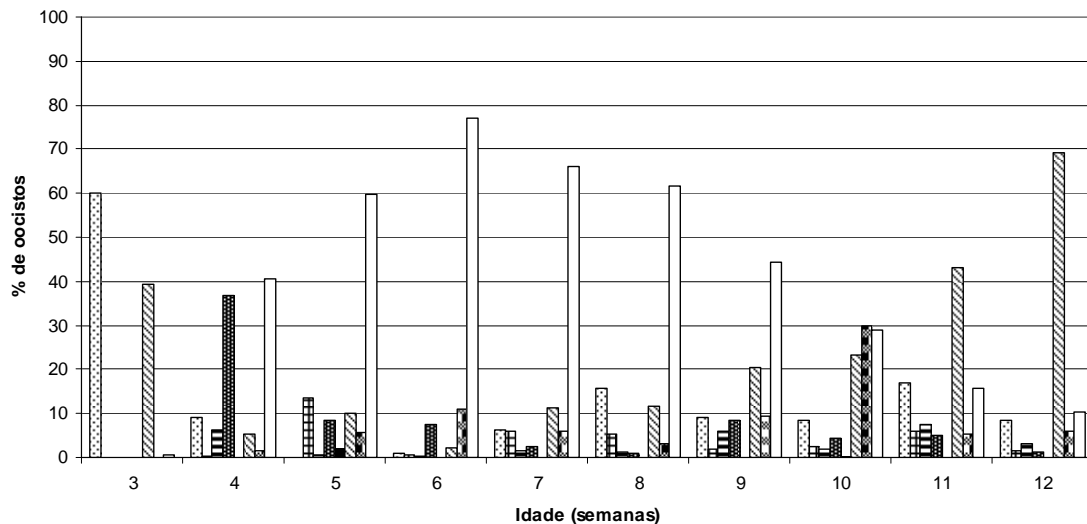


GRÁFICO 1: Média de OOPG de *Eimeria* spp. de cordeiros infectados naturalmente da primeira a décima segunda semana de idade, Lajes –RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.



▨ *E. ahsata* ▩ *E. faurei* ▪ *E. ovina* ▧ *E. ovinoidalis* ■ *E. intricata* ▩ *E. granulosa* ▨ *E. parva* □ *E. crandallis*

GRAFICO 2: Composição percentual da infecção natural por *Eimeria* spp. em cordeiros acompanhados do nascimento à décima segunda semana de idade Lajes –RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

Todos os animais experimentais eliminaram oocistos das espécies *E. ahsata*, *E. crandallis*, *E. granulosa* e *E. parva*. Dentre estas, a *E. crandallis* foi a mais frequentemente observada. *E. parva* foi a segunda espécie mais comum nesse estudo, seguida por *E. granulosa*, *E. ovinoidalis*, *E. ovina*, *E. ahsata* e *E. faurei*. A *E. intricata* apareceu somente em seis amostras e foi a menos prevalente (3,0%). Levando-se em consideração o total de amostras analisadas, *E. granulosa* predominou em 33,0% das amostras (63/191).

Oocistos da espécie *E. crandallis* apresentaram uma ampla variação morfológica, sendo observados oocistos deformados, sem capus micropilar ou somente com resíduo destes.

O número de cordeiros eliminando oocistos nas fezes, as médias de OOPG por espécie de *Eimeria* e valores máximos e mínimos semanais são apresentados na TAB. 3. À sexta semana quase todos os cordeiros eliminavam oocistos, somente um cordeiro apresentou oocistos nas fezes a partir da sétima semana de idade. A partir da décima semana já se observavam cordeiros com OOPG negativos ou com baixas contagem de OOPG.

A composição percentual das espécies de *Eimeria* em função da idade dos cordeiros em semanas está exposta no GRAF. 2. Os dados de predominância expostos neste gráfico diferem do resultado de predominância da TAB. 1 por levar em

consideração número inferido de oocistos excretados de cada espécie, enquanto que na TAB. 1, foi considerado-se o número de amostras em que a espécie foi mais numerosa.

E. ahsata juntamente com *E. granulosa*, predominaram na terceira semana de idade, início da eliminação de oocistos. Uma pequena porcentagem de *E. crandallis* pode ser vista nesta semana e a partir da quarta semana de idade dos animais esta espécie dominou numericamente a população de coccídios até a nona semana.

E. crandallis juntamente com *E. ovinoidalis* foram as espécies numericamente predominantes à quarta semana. *E. crandallis* predominou da quinta à nona semana de vida, sendo 77,1% dos oocistos excretados foram dessa espécie à sexta semana. *E. parva* dominou temporariamente a população de oocistos na décima semana de vida com diferença 1% de *E. crandallis*. A proporção de *E. granulosa* aumentou gradualmente com o avançar idade dos cordeiros e à décima primeira semana de vida passou a predominar até o final do experimento.

TABELA 3: Porcentagem de cordeiros eliminando oocistos de *Eimeria* (a), média de OOPG da 1ª a 12ª semana (b) e valores máximos e mínimos de OOPG, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

	Idade (semanas)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Nº de cordeiros examinados	27	27	24	27	27	27	26	24	26	22	23	21
OOPG min.-máx	0	0	0 - 2700	0 - 5000	0 - 102500	0 - 465400	100 - 332800	1200 - 267200	400 - 208900	0 - 204000	0 - 34500	0 - 12300
	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b
Todas espécies (geral)	0/0	0/0	17/188	56/466	85/6390	93/77501	100/25965	100/27575	100/18685	96/16750	95/4674	86/2229
	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b	a(%) / b
<i>E. ahsata</i>	0/0	0/0	4/113	11/042	0/0	30/1505	54/1627	58/4349	58/1732	55/1407	52/797	38/193
<i>E. faurei</i>	0/0	0/0	0/0	11/002	19/860	11/487	38/1517	46/1499	27/366	27/417	39/284	29/33
<i>E. ovina</i>	0/0	0/0	0/0	15/29	22/31	30/391	35/437	54/371	54/1143	50/322	57/354	43/75
<i>E. ovinoidalis</i>	0/0	0/0	0/0	26/168	48/541	56/10173	50/659	46/298	39/1601	55/734	52/241	24/27
<i>E. intricata</i>	0/0	0/0	0/0	0/0	4/143	0/0	4/0017	4/0019	8/008	4/0060	0/0	0/0
<i>E. granulosa</i>	0/0	0/0	8/074	11/024	22/634	41/1438	58/2956	58/3197	69/3817	63/3783	65/2008	52/1535
<i>E. parva</i>	0/0	0/0	0/0	11/007	33/359	70/8120	46/1574	79/879	73/1747	55/4881	48/249	33/132
<i>E. crandallis</i>	0/0	0/0	4/001	7/186	41/3821	78/55388	69/16978	67/16963	77/8270	77/4710	78/742	52/233

6.3 CINÉTICA DA ELIMINAÇÃO DE OOCISTOS POR ESPÉCIE DE *Eimeria* EM CORDEIROS ATÉ 12ª SEMANA DE VIDA

A cinética da eliminação de oocistos de cada espécie esta representada na TAB. 3 e GRAF. 3. A eliminação da maioria das espécies de *Eimeria* caracterizou-se por um ou duas elevações na contagem de oocistos. A contagem de OOPG aumentou rapidamente até valores máximos seguidos de diminuição abrupta subsequente, com exceção da *E. granulosa* que apresentou elevação crescente e gradual no OOPG até atingir o valor de média máxima à nona semana. Em alguns casos ocorreu sobreposição nos picos de eliminação de diferentes espécies, como no caso dos primeiros picos de *E. crandallis*, *E. ovinoidalis* e *E. parva* à sexta semana; *E. intricata* e *E. parva* num segundo pico à décima semana; *E. granulosa* e *E. ovina* à nona semana. *E. faurei* fez um primeiro pico à quinta semana juntamente com *E. intricata* e um segundo à sétima semana. *E. ahsata* apresentou um único pico de eliminação ocorrendo tardiamente à oitava semana. Na maioria dos casos, as médias de eliminação de oocistos tenderam a ser menores no segundo pico do qual se seguiu uma queda gradual e contínua com certa tendência a estabilização em baixas contagens de OOPG.

No pico da eliminação coccidial, ocorrido na sexta semana, um cordeiro chegou a eliminar cerca de 350.000 oocistos de *E. crandallis*. *E. ovinoidalis* apresentou a segunda maior contagem de oocisto e também contribuiu para o pico da infecção à sexta semana. À oitava semana (segunda maior média de OOPG), *E. ahsata* juntamente com *E. crandallis* foram as espécies majoritárias. Observa-se que *E. crandallis* seguiu mesmo padrão observado na curva de média de excreções total de oocistos OOPG.

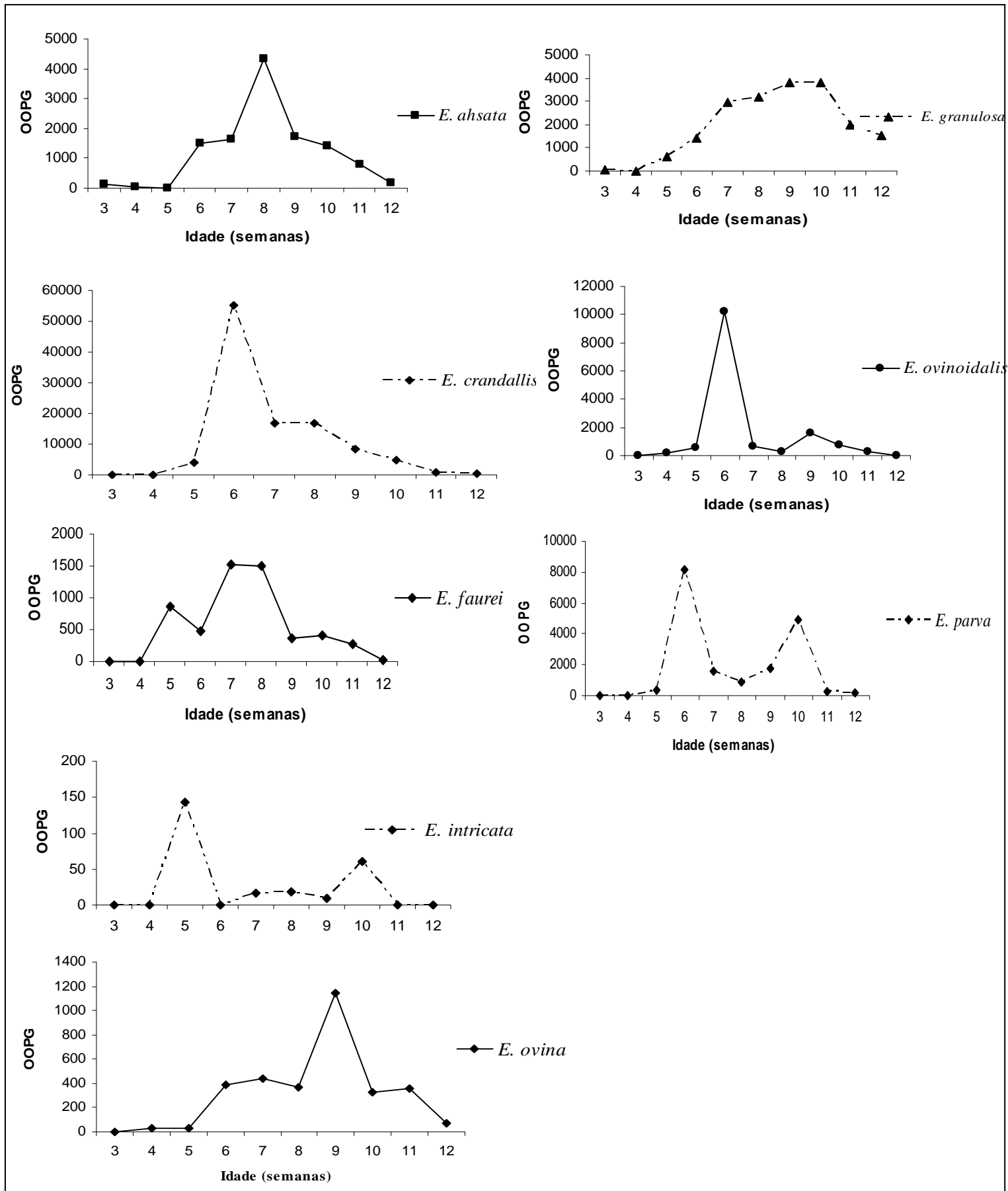


GRÁFICO 3: Distribuição das média de oocistos por grama de fezes por espécie de *Eimeria* em cordeiros infectados naturalmente até a 12ª semana de idade, Lajes –RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

Nota: Inferência do n° de oocistos excretados= % da espécie x OOPG absoluto

Y= *E. ahsata*; *E. faurei*, *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. intricata*, *E. granulosa*, *E. parva*, *E. crandallis*

6.4 INFECÇÕES MISTAS POR ESPÉCIES DE *Eimeria*

A maioria das amostras fecais apresentou infecções mistas, sendo que 12,0% delas (23/191) tinham duas espécies e 71,2% das amostras (136/191) possuíam três ou mais espécies diferentes. Das 191 amostras fecais em que foram identificadas as espécies de *Eimeria*, apenas 32 (16,8%) apresentavam infecção pura. Destas, 11 amostras estavam com *E. ovinoidalis*, sete com *E. crandallii*, seis com *E. granulosa*, três com *E. faurei*, três com *E. ahsata*, uma com *E. parva* e uma com *E. ovina*. Nenhuma amostra apresentou oito espécie desse coccídio (GRAF. 4).

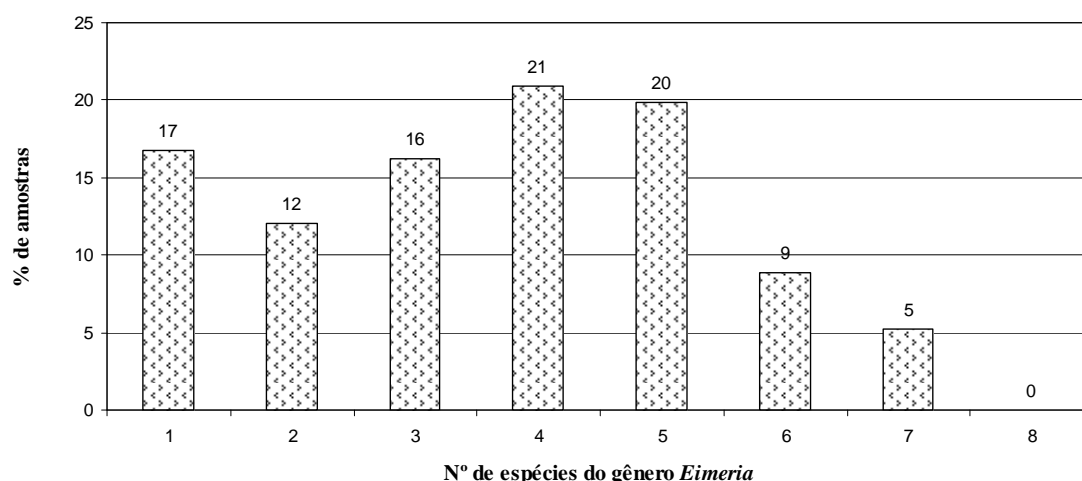


GRÁFICO 4: Número de espécie de *Eimeria* identificadas nas amostras fecais individuais de cordeiros naturalmente infectados, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

Dados relacionados a infecções mistas desse protozoário relacionados com a idade dos animais estão expostos no GRAF. 5. Todos os cordeiros apresentaram infecções mistas, chegando a ter pouco mais de 30% das amostras com seis espécies à décima semana de idade de cordeiros. No início da eliminação de oocistos foram detectadas amostras com duas espécies, aumentando o número de espécies nas semanas seguintes.

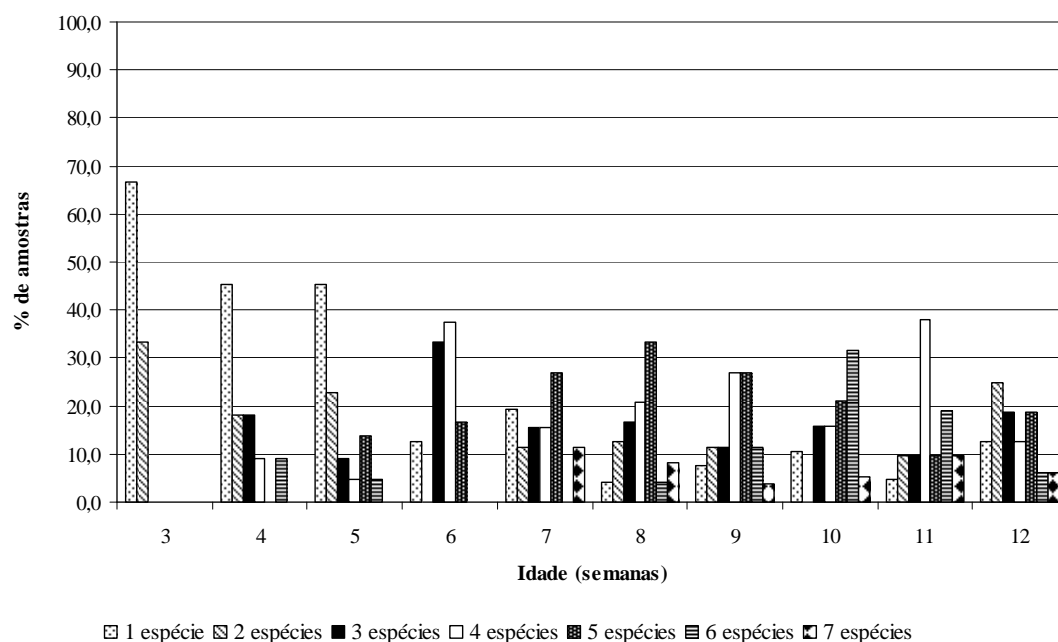


GRÁFICO 5: Número de espécies de *Eimeria* em amostras fecais individuais de cordeiros em função da idade (semanas) dos animais, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

6.5 CONSISTÊNCIA FECAL

Durante o período experimental foram coletadas 456 amostras fecais que apresentaram aspectos variados, sendo observado todos os escores fecais, desde sítalas firmes e bem formadas até fezes fluidas com aparência aquosa (GRAF. 6).

Do total de amostras coletadas, 85 foram coletadas na primeira semana de idade e 124 na segunda semana e as 247 restantes foram coletadas da terceira a décima segunda semana de idade dos cordeiros. Na primeira semana de vida, 51% (43) das amostras apresentaram consistência pastosa e em 48% (41) as sítalas estavam amolecidas e agrupadas umas as outras. Nesta semana somente uma amostra (1%) apresentou consistência aquosa (escore 5). Na segunda semana de idade ainda predominaram fezes com consistência pastosa (47%) e a partir da terceira semana de idade os peletes (escore 1) foram predominantes. Não houve correlação entre o OOPG e consistência fecal ($r= 0,089$; $p> 0,05$).

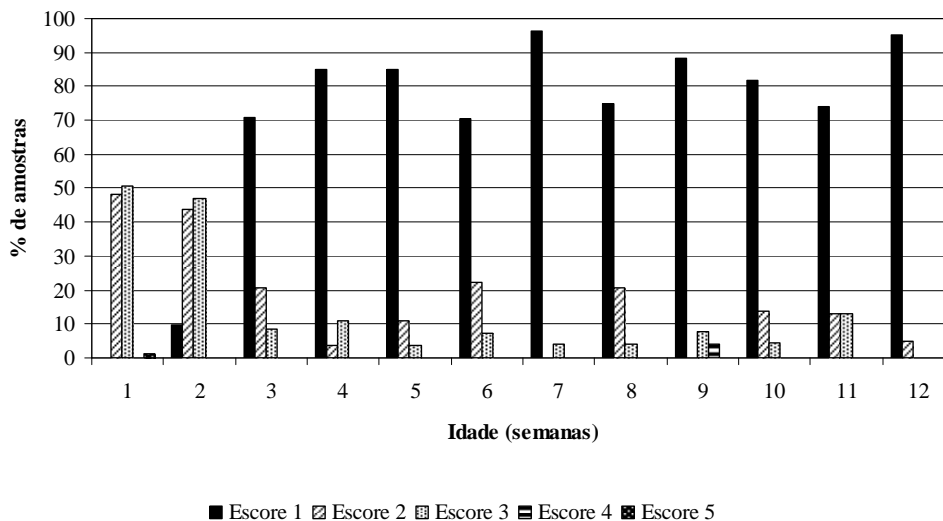


GRAFICO 6: Frequência dos escores fecais da primeira a décima segunda semana de vida, Lajes –RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

Nota: Escore 1 (peletes) para sítalas firmes e bem formadas; escore 2 (semi-peletes), sítalas amolecidas e agrupadas uma as outras; escore 3 (pastoso); escore 4 (semi-diarréia), fezes quase fluidas; escore 5 (diarréia), fezes fluidas de aparência aquosa.

A frequência geral de escores observados durante todo período experimental está exposta no GRAF 7. De todas as 456 amostras avaliadas 47,1% (215/456) constituiu-se de sítalas firmes e bem formadas (escore 1). O segundo mais observado foi o escore 2 com 26,8% (122/456), que apareceu mais frequentemente nas primeiras duas semana de vida após o nascimento e, depois desse período, passou a ser menos freqüente e com certa intermitência (GRAF. 6). Os outros três escores (3, 4 e 5) foram observados em 119 amostras qualificadas (26,1%).

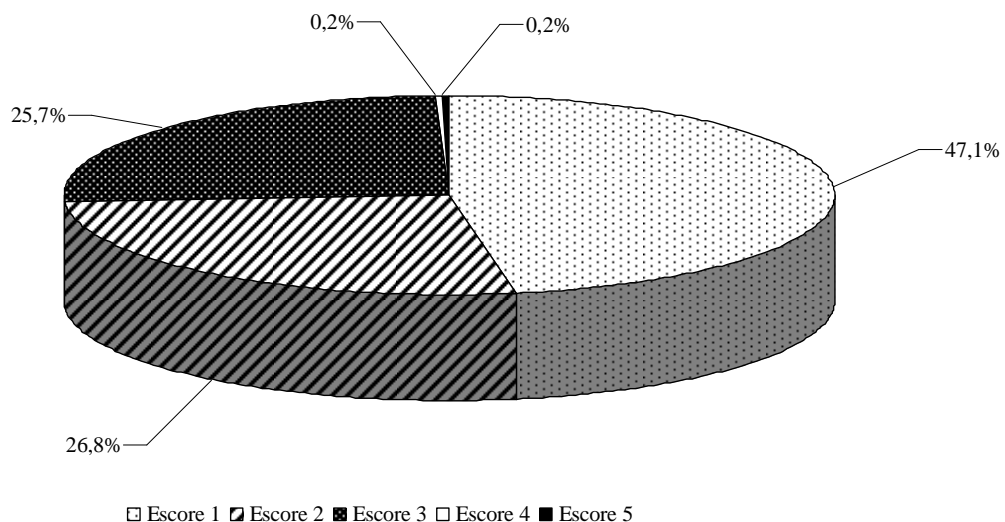


GRÁFICO 7: Frequência geral de escores de fezes de cordeiros infectados todo período de experimentação, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

Nota: Escore 1 (peletes) para sÍbalas firmes e bem formadas; escore 2 (semi-peletes), sÍbalas amolecidas e agrupadas uma as outras; escore 3 (pastoso); escore 4 (semi-diarréia), fezes quase fluidas; escore 5 (diarréia), fezes fluidas de aparência aquosa.

6.6 INFECÇÃO POR *Cryptosporidium* spp. NOS CORDEIROS

Os resultados dos exames coprológicos (esfregaço fecal corado pelo ZNM e ELISA) para *Cryptosporidium* spp. estão sumarizados na TAB. 4. Pela técnica de ZNM, oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram detectados nas fezes de 7,4% dos animais experimentais (2/27), sendo um cordeiro à terceira semana de idade e outro na quarta semana. A ELISA apresentou reação falso negativo nas fezes do animal colhida na terceira semana. Quanto a semiquantificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. foi observado somente o escore 1 (≤ 1 oocisto por campo) no ZNM em todas as amostras positivas (FIG. 6). Nenhum dos animais infectados apresentou diarreia. Co-infecção por *Eimeria* spp. e *Cryptosporidium* spp. foi detectada no animal infectado à 4ª semana de vida.

TABELA 4: Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em amostras fecais de cordeiros naturalmente infectados até a quarta semana de vida avaliadas pelo exame de esfregaços fecais corados pelo Ziehl Neelsen Modificado (ZNM) e ensaio imunoenzimático (ELISA), Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

Idade (semanas)	Nº de amostras examinadas	Nº de amostras fecais com <i>Cryptosporidium</i>			Ocorrência (%)
		ZNM	ELISA	ZNM e ELISA	
< 2	209	0 ^a	nt ^b	- ^c	- ^c
3	24	1	0	0	4,2
4	27	1	1	1	3,7

Nota: 0^a = nenhuma amostra positiva; nt^b = não testado; -^c = não calculado

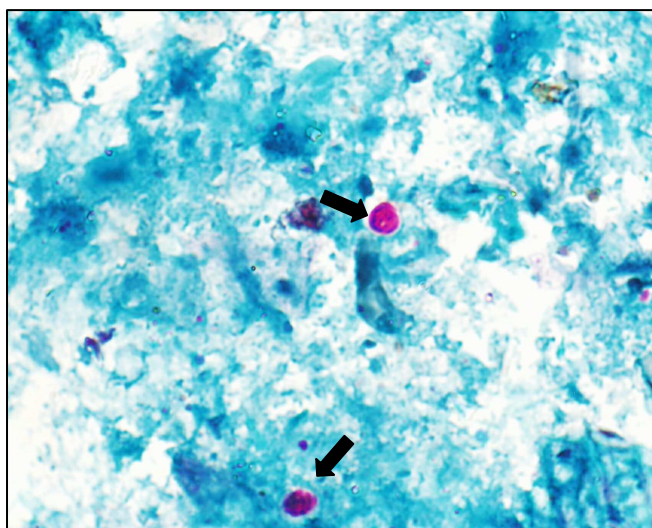


FIGURA 6: Oocistos de *Cryptosporidium* spp. (coloração ZNM), aumento de 1000X, Lajes-RN.

6.7 INFECÇÃO POR *Giardia duodenalis* NOS CORDEIROS

A eliminação de cisto de *Giardia duodenalis* foi detectada pela primeira vez em um cordeiro à 10ª semana após o nascimento, que apresentou positividade somente na microscopia. À 11ª semana de vida, mais dois novos cordeiros apresentavam a infecção e na 12ª semana mais três animais eliminavam cistos do protozoário nas fezes, além dos três infectados anteriormente, totalizando 06 animais excretando cistos de *Giardia* até a 12ª semana de idade. A incidência cumulativa na 10ª, 11ª e 12ª semanas foi de 4,5%, 13,0% e 33,3%, respectivamente. A ocorrência foi de 22,2%. O teste do ELISA apresentou resultado falso negativo no exame do cordeiro na 10ª semana, e em outro animal na 12ª (TAB. 5).

A maior ocorrência de infecção por *G. duodenalis* foi verificada entre os cordeiros que foram levados para o período de confinamento. Dos 12 animais confinados, 04 apresentaram a infecção (33,3%), enquanto que dos 15 que permaneceram no campo 02 (1,3%) eliminaram cistos do parasito. Cistos de *Giardia* foram detectados pela primeira vez em 02 animais (nº 77/72) na 2ª semanas pós-confinamento (TAB. 5).

Somente dois animais que permaneceram no campo apresentaram a infecção durante o período experimental (TAB. 5).

Exames adicionais nos demais animais confinados (dado não demonstrado), e acima de 12 semanas de idade, mostraram que todos os demais cordeiros do grupo (08/12) também apresentaram infecção por *G. duodenalis*.

Nenhum animal que excretou cisto de *G. duodenalis* apresentou diarreia.

TABELA 5: Detecção de infecção natural por *Giardia duodenalis* em cordeiros pelo exame de fezes por microscopia e ensaio imunoenzimático do nascimento até a décima segunda semana de vida, Lajes-RN, nascidos no período de março a agosto de 2008.

Idade (Semanas)	n° de animais examinados	n° de animais positivos			Negativos	Incidência acumulada(%)
		Microscopia (formol -éter)	ELISA	ELISA e microscopia		
< 2	27	neg	nt	-	-	-
3	24	neg	nt	-	-	-
4	27	neg	nt	-	-	-
5	27	neg	nt	-	-	-
6	27	neg	nt	-	-	-
7	27	neg	nt	-	-	-
8	23	neg	neg	neg	23	-
9	26	neg	nt	-	-	-
10	22	1*	neg	neg	21	4,5
11	23	3**	nt	-	-	13,0
12	21	6***	5	5	15	33,3

Nota: *Cordeiro 77 na 2ª semana de confinamento; ** 02 cordeiros na 3ª semana de confinamento (Animais 64, 77) e 01 que permaneceu no campo (Animal 130); ***03 animais 4ª semana de confinamento (Animais 42, 64, 77); Cordeiro 72 na 2ª semana de confinamento e 02 no campo (Animais 130 e 135).

nt(não testado); neg (negativo); - (não calculado)

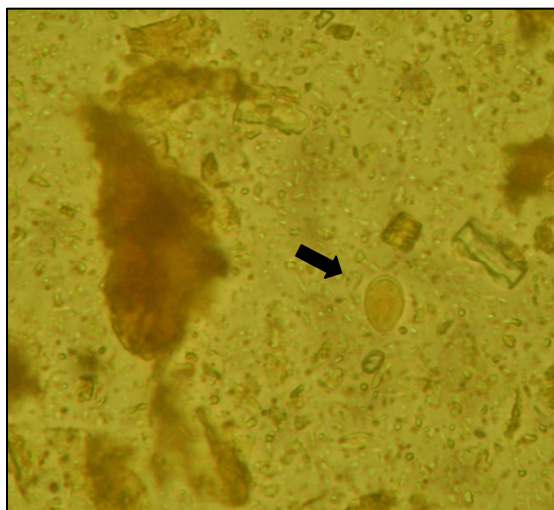


FIGURA 7: Cisto de *G. duodenalis* (sedimento fecal da técnica do formol-éter acrescido de lugol fraco), aumento de 400X, Lajes-RN, detectado em amostra de cordeiros nascidos no período de março a agosto de 2008.

6.8 DADOS METEOROLÓGICOS

Os dados climatológicos da fazenda São Vicente estão na TAB. 6. Durante o período experimental as chuvas foram freqüentes e com maior volume nos meses de março e abril de 2008, com pluviosidade de 197 e 212 mm, respectivamente. No mês de março as chuvas concentraram-se nos últimos 11 dias do mês que coincidiram com os dez primeiros dias de coleta de campo. Neste período choveu o equivalente a 46,2% (91 mm) da pluviosidade total nesse mês.

A maior pluviosidade mensal ocorreu no mês de abril. As chuvas foram mais espaçadas, porém volumosas, ao longo do mês. Foi registrada uma pluviosidade de 80 mm no dia 02 de abril, o maior volume em todo tempo de estudo.

Com relação a temperatura, esta variou entre 24 e 39 °C (Moda=29; Média=30,6) e a umidade relativa do ar entre < 37% a 100% (Moda=72; Média=66,4).

TABELA 6: Média mensal da pluviosidade, temperatura e umidade relativa do ar em Lajes-RN, no período de março a junho de 2008.

MÊS	PLUVIOSIDADE MÉDIA (mm)	PLUVIOSIDADE TOTAL MENSAL (mm)	TEMPERATURA MÉDIA MENSAL (°C)	UMIDADE MÉDIA MENSAL (%)
MARÇO	6,4	197,0	31,9	62
ABRIL	7,1	212,0	30,5	72
MAIO	1,5	48,0	31,4	66
JUNHO	1,9	57,0	29,3	64
JUNHO	0,8	26,0	28	74

Nota: No mês de agosto, os dados de temperatura e umidade não foram coletados. Os trabalhos nesse mês ficaram restritos a única e última coleta na primeira semana (finalização das coletas).

7 DISCUSSÃO

7.1 ESPÉCIES DE *Eimeria* IDENTIFICADAS EM CORDEIROS ATÉ A 12ª SEMANA DE VIDA.

No nordeste brasileiro, os trabalhos com eimerídeos são raros. Ahid et al. (2006) evidenciaram a presença de *Eimeria* spp. em rebanhos de caprinos e ovinos no município de Mossoró-RN. Descreveram que esse protozoário está associado à perdas econômicas na região, porém não fizeram a identificação das espécies de *Eimeria*.

Neste estudo, oito espécies de *Eimeria* foram identificadas: *E. ahsata*, *E. faurei*, *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. intricata*, *E. granulosa*, *E. parva*, *E. crandallis*. Esta última foi numericamente predominante em quase todo período experimental (da 5ª à 9ª semanas de idade) e principal espécie no pico da infecção coccidial à sexta semana. Em termos do total de amostras analisadas, *E. granulosa* predominou em 33,0% das amostras (63/191), ficando em segundo lugar *E. crandallis* com 20,4 % (39/191). Levando-se em consideração a frequência das espécies tendo como denominador o número de amostras com OOPG positivo, verificou-se em ordem decrescente: *E. crandallis* (65,7%), *E. parva* (54,7%), *E. granulosa* (53,7%), *E. ovinoidalis* (48,8%), *E. ahsata* e *E. ovina* (43,3%), *E. faurei* (29,0%), *E. intricata* (3,0%).

Santana et al. (1983) encontraram seis espécies das oito espécies de *Eimeria* em ovinos procedentes de municípios do interior do Estado da Bahia, porém não identificou *E. crandallis* e *E. granulosa* na BA.

No Estado do Ceará, Vieira et al. (1999) registraram a ocorrência de nove espécies de *Eimeria*, sendo as oito encontradas no presente experimento, mais a *E. caprovina*, que neste estudo foi observada em baixos níveis de eliminação, reforçando o fato de não ter sido encontrada no RN.

Estudo no Rio Grande do Sul por Santiago e Costa (1975) e posteriormente por Silva et al. (1987/1988) identificaram além das oito espécies encontradas no presente estudo, verifica-se que a *E. punctata* e *E. pallida* que não foi encontrada no RN, enquanto a *E. granulosa*, não foi detectada no Estado do Rio Grande do Sul.

Em São Paulo, na localidade de Botucatu, Amarante e Barbosa (1992), *E. faurei* e *E. granulosa* identificadas na presente investigação, não foram observadas em cordeiros criados em São Paulo. Enquanto que *E. pallida* e *E. weybridgensis* não foram identificadas no RN.

Na microrregião Serrana do Rio de Janeiro foram identificadas 10 espécies do gênero *Eimeria* em ovinos até com 180 dias de idade por ordem de prevalência: *E. ovinoidalis* (27,01%), *E. crandallis* (20,81%), *E. parva* (19,87%), *E. bakuensis* com 13,56%, *E. pallida* (12,04%), *E. intricata* (3,07%), *E. faurei* (2,16%), *E. caprovina* (0,83%), *E. granulosa* (0,33%) e *E. ahsata* (0,33%) (Menezes et al., 2001). Dentre estas, somente a *E. pallida* e *E. caprovina* não foram detectadas no presente estudo no RN.

Ainda na região sudeste, município de São João da Ponte, norte de Minas Gerais foram detectadas todas as espécies encontradas na presente investigação mais a *E. pallida*, *E. caprovina* e *E. punctata*, não foram encontradas no presente estudo (Silva, 2006).

As diferenças entre as espécies de *Eimeria* e sua prevalência dependem de diferentes fatores como ambiente (clima; vegetação; umidade; fatores químicos e físicos que influenciam na esporulação, tempo de sobrevivência e infectividade dos oocistos; etc.), características do parasito (potencial reprodutivo intrínseco da espécie em hospedeiro, cepa, etc.), características do hospedeiro (idade, estado imunológico, raça, etc.), manejo (alimentação, desmame, condições sanitárias, etc.) e outros fatores agregados como doenças concomitantes e fatores de estresse (Fayer, 1980; Gouet et al., 1984; Catchpole; Harris, 1989; Foreyt, 1990).

A presença de oocistos de *E. crandallis* com ampla diversidade morfológica, deformados, sem ou com resíduos de capus micropilar e por vezes não esporulados foi observada frequentemente em amostras contendo altas contagens de oocistos dessa espécie. Catchpole et al. (1975) descreveram diversidade morfológicas em amostras com infecção maciça por *E. crandallis* e *E. weybrigensis* e relacionaram este fato a dois fatores: fim do período de patência da infecção, momento que o número de oocisto diminui, e ao efeito do mecanismo imunológico dos cordeiros.

7.2 CINÉTICA DA ELIMINAÇÃO DE OOCISTOS DE *Eimeria* spp. EM CORDEIROS ATÉ 12ª SEMANA DE VIDA

No presente trabalho a eliminação de oocistos iniciou na terceira semana de idade, atingindo o pico de eliminação na sexta semana, quando atingiu em média 77.501,30 OOPG. Na sétima semana ocorreu queda do OOPG, sendo observada nova elevação na oitava semana seguida de declínio contínuo e gradual nas semanas seguintes. Esses resultados assemelham com os obtidos por Vieira et al. (1999) em Sobral-CE e por Silva (2006) em Minas Gerais, diferindo apenas na intensidade do OOPG.

Eliminação mais precoce de oocisto foi constatada por Amarante e Barbosa (1992), em São Paulo, que detectaram oocisto nas fezes de cordeiros na segunda semana de idade.

A eliminação de oocistos em 17% dos cordeiros na terceira semana de idade, observada neste estudo, sugere que a infecção foi adquirida nos primeiros dias de vida. Nesta situação, a provável fonte de infecção é o contato do recém nascido com úbere e tetas de suas mães contaminados com oocistos infectantes presentes no ambiente, ou eventual ingestão de terra ou outros materiais contaminados como observado por Pout (1973) e Silva (2006). Deve-se ressaltar que a área de pastejo dos cordeiro e suas mães foi anteriormente ocupada por um grupo de aproximadamente 200 animais no ano anterior ao experimento. Sabe-se que os oocistos são estruturas resistentes que, em condições favoráveis, podem permanecer infectantes por vários meses no meio ambiente (Fayer, 1980; Foreyt, 1990; Lima, 2004). Helle e Hilali (1973) observaram que o número médio de oocistos de *Eimeria* spp. excretados por cordeiros em pastagens anteriormente utilizadas foi maior que por cordeiros em pastagens novas, fato que refletiu no nível de infecção em cordeiros susceptíveis.

O pico de eliminação de oocistos que ocorreu na sexta semana é consistente com a infecção adquirida por volta da terceira semana de idade o que concorda com achados de Manson, 1977 e Silva, 2006, quando os cordeiros já iniciaram o pastejo. O número de cordeiros que excretavam oocistos (56% na quarta e 85% na quinta semana) aumentou progressivamente, e acredita-se que estes passaram a ser a fonte principal de contaminação para o ambiente.

A redução da eliminação de oocistos observada após o pico de eliminação também foi descrito em outros trabalhos. Esta redução pode estar relacionada com o desenvolvimento da resistência à uma exposição inicial e conseqüente redução da população susceptível conforme Pout et al. (1966), Helle e Hilali (1973) e Chapman (1974).

A marcante variação individual relativa ao OOPG também é condizente com outros trabalhos (Pout et al., 1966; Manson, 1977). Esta variabilidade é atribuída a diferença na susceptibilidade do hospedeiro; a dose infectante; aos contínuos desafios de oocistos; ao estado sanitário e plano nutricional do cordeiro; e a variação individual de encistamento das espécies de coccídios no hospedeiro. Outras fontes de variabilidade podem ser os métodos de manejo e as condições climáticas.

Ao estudar a influência do sistema de produção na taxa de eliminação de oocistos de *Eimeria*, Gauly et al. (2004) verificaram que as altas excreções de oocistos em animais criados no sistema extensivo está relacionado ao não oferecimento de concentrado. Nessa situação ocorre maior ingestão de volumoso expondo os animais a ingerir mais materiais contaminados com oocistos.

7.3 CINÉTICA DA ELIMINAÇÃO DE OOCISTOS, POR ESPÉCIE DE *Eimeria*, EM CORDEIROS ATÉ 12ª SEMANA DE VIDA

A associação direta entre o percentagem crescente de cordeiros infectados com o aumento da idade, observado nesse experimento, concorda com as investigações de Pout et al. (1966) e Pout (1973). Pout (1973) observou pouca infecção patente na segunda e terceira semana de vida, e à oitava semana quase todos os cordeiros eliminavam oocistos nas fezes.

O perfil de flutuações na eliminação de oocistos das espécies *Eimeria* spp. caracterizado por um ou dois momentos de valores máximos seguidos de diminuição abrupta subsequente como também a sobreposição dos picos concordam com diversos trabalhos (Helle e Hilali, 1973; Vieira et al., 1999; Silva, 2006).

O predomínio da *E. crandallis* no pico da infecção foram observados nos trabalhos de Helle e Hilali (1973) e Silva (2006) e reflete uma infecção adquirida por volta da terceira semana de vida, levando-se em consideração o período pré-patente entre 13 a 32 dias (Levine, 1985; Silva, 2006). Vieira et al. (1999) registraram que no primeiro pico da eliminação de oocistos, a *E. crandallis* foi uma das espécies que mais produziram oocistos. Este resultado indica que esta espécie deve estar associada com as doenças clínicas que possam ser observados em cordeiros com 2 a 3 semanas após o início do pastejo. *E. ovinoidalis* e *E. crandallis* apresentaram pico de eliminação à sexta semana. Sabe-se que a *E. ovinoidalis* é considerada uma das espécies mais patogênicas em ovinos (McDougald, 1979;

Gregory et al., 1989) e, em combinação com *E. crandallis*, pode ser altamente patogênica para cordeiros (Gregory et al., 1989).

Nesse estudo, a mais alta eliminação de oocisto de *E. intricata* ocorreu na quinta semana de idade, concordando com os dados de Amarante e Barbosa (1992). Entretanto, discorda de Viera et al. (1999), que evidenciaram o aparecimento de *E. intricata* somente após a nona semana, e sugerem sua preferência para ovinos com mais idade.

7.4 INFECÇÕES MISTAS POR ESPÉCIES DE *EIMERIA*

Todos os cordeiros, ao longo do período experimental, tiveram infecções mistas, sendo que das 191 amostras com OOPG positivo, 159 (83%) tinham pelo menos duas espécies; 105 (55%) das amostras possuíam três ou mais espécies diferentes, que com o avançar da idade passaram a ser mais frequentes. Infecções adquiridas no campo geralmente são mistas demonstrando a exposição do animal a diversas espécies existente no meio ambiente a qual os cordeiros estão expostos (Gregory et al., 1980).

É muito comum a presença de várias espécies de *Eimeria* infectando cordeiros, seja criados sobre condições de exploração intensiva (Taylor et al., 1973; Berriatua et al., 1994; Reeg et al., 2005), semi-intensiva (Silva, 2006) ou extensiva (Pout et al., 1966; Helle e Hilali, 1973; Chapman, 1974; Manson, 1977; Amarante e Barbosa, 1992; Vieira et al., 1999; Kaya, 2004).

7.5 CONSISTÊNCIA FECAL

A distribuição de fezes escore 2 (semi-peletes) e escore 3 (pastosa), visto predominantemente nas duas primeiras semanas de idade dos cordeiros pode ser considerada dentro da normalidade devido o processo de endurecimento das fezes para formação das sítalas (Silva, 2006; Yakhchali e Golami, 2008) ligada a imaturidade do sistema digestivo nas primeiras duas semanas de vida do cordeiro. O único caso de diarreia (escore 5) em amostra de um cordeiro na primeira semana de vida foi atribuída ao aleitamento artificial do animal com leite de vaca.

Durante o período experimental, o escore fecal 1 foi predominante (47,1%) e concordam com os resultados de Silva (2006).

Não se observou correlação entre consistência das fezes com OOPG, apesar da elevação do número de fezes amolecidas com sibalas agrupadas coincidentemente nas semanas em que os cordeiros apresentaram altas contagens oocistos de *Eimeria*. A não associação ou correlação entre altas contagens de oocistos e perda na formação das sibalas também foi visto por Pout (1966) e Manson (1977).

7.6 INFECÇÃO POR *Cryptosporidium* NOS CORDEIROS

Não foram encontradas publicações sobre infecções por esse parasito em ovinos no Rio Grande do Norte.

Os resultados deste estudo demonstraram que a infecção por *Cryptosporidium* spp. ocorreu somente em 7,4% dos animais experimentais (2/27), detectados à terceira e quarta semanas após o nascimento. A criptosporidiose tem sido descrita em ovinos confinados com taxas de infecção variando entre 18 a 100% (Xiao et al., 1993; Xiao et al., 1994; Olson et al., 1997; Majewska et al., 2000), porém em ovinos criados extensivamente apresenta baixa frequência.

Neste experimento, fica evidente a presença desse parasito em cordeiros na região. Pesquisas adicionais são necessárias para se conhecer sobre a epidemiologia desse protozoário em rebanhos ovinos do estado bem como o impacto econômico na ovinocultura, já que se trata do quinto maior rebanho da região nordeste (IBGE, 2007). No presente estudo, além de encontrar baixa frequência da infecção a taxa de eliminação também foi baixa. Similar observação foi relatada por Tembue et al. (2006) no município de Ibimirim, Pernambuco, que identificaram *Cryptosporidium* spp. em 3,7% dos animais estudados.

Estes resultados contrastam com os achados de Green et al. (2004) que registraram frequência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em 34,8% de cordeiros de dois a quatro meses de idade, da raça Santa Inês, criados a pasto no Estado de São Paulo.

Quanto aos métodos de diagnóstico utilizado, foi constatado que o ELISA produziu um resultado falso negativo em amostra de fezes com resultado positivo no ZNM. Roberts et al. (1990) verificaram que a utilização de testes imunoenzimáticos para o diagnóstico da Criptosporidiose bovina pode ser menos sensível que ZNM e IFA, especialmente quando o número de oocistos é pequeno. Neste experimento os animais excretaram poucos oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes.

No contexto do semi-árido nordestino que geralmente utiliza o sistema extensivo com baixo grau de tecnificação na criação de rebanhos ovinos, levando-se em conta a baixa infecção por esse agente parasitário observados neste e em outros trabalhos (Silva et al., 1990; Tembue et al., 2006), apesar de ser uma técnica muito laboriosa, o ZNM pode constituir uma boa opção e de baixo custo na detecção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em ovinos da região.

Dados na literatura têm evidenciado a transmissão zoonótica do genótipo bovino de *C. parvum* veiculados pela água e por contato direto com animais nas fazendas (McLauchlin et al., 2000; Mallon et al., 2003). Assim como neste e em outros estudos (Olson et al., 1997; Fréсан et al. 2004; Green et al., 2004; Tembue et al., 2006; Castro-Hermida et al., 2007), a utilização do critério morfológico para identificar oocistos e expressão de resultados como *Cryptosporidium* spp. ou *C. parvum*, são de pouca utilidade para determinação do potencial zoonótico considerando a diversidade genética das espécies (Monis e Thompson, 2003; Hunter e Thompson, 2005). Aplicação de ferramentas moleculares como estudos de genotipagem podem ser realizados nos animais e estendido para os tratadores diretos dos animais da região.

7.7 INFECÇÃO POR *Giardia* NOS CORDEIROS

Neste estudo, os animais que excretaram cistos de *G. duodenalis* apresentaram idade acima de 10 semanas. Este resultado difere dos encontrados por Buret et al. (1990), Taylor et al. (1993) e Xiao et al. (1994) que descrevem a eliminação de cistos de *G. duodenalis* em cordeiros com 2 a 5 semanas de idade.

Animais confinados adquirem mais facilmente a infecção que os animais livres no pasto (Ruest et al., 1998), e isto foi observado pela maior ocorrência da infecção nos cordeiros confinados que nos animais que permaneceram no campo. A maior densidade de cordeiros por área e a presença de cordeiros excretando cistos que contaminam o ambiente fecham rapidamente o ciclo de transmissão do parasito no confinamento, seja por contato direto ou por contaminação ambiental do local.

Neste estudo, o resultado de prevalência de *Giardia* spp. (22,2%) foi superior ao observado por Majewska et al. (1998) na Polônia (1,3%), porém inferior ao encontrado por Vargas et al. (1994) no município de Cidade Gaúcha no Paraná (68%) em ovinos da categoria

igual ou inferior a dois meses de idade e por Taylor et al. (1993) com prevalência de 68,6% em 86 cordeiros criados a pasto.

Dentre os animais que excretavam cistos do protozoário, todos apresentaram fezes normais. Fezes com consistência anormal não tem sido frequentemente relatado em infecções naturais por *Giardia* spp. em cordeiros (Xiao et al., 1994; Taylor et al., 1993; Buret et al., 1990), embora existam relatos de casos de diarreia associada a giardíase em cordeiros (Kiorpes et al. 1987; Aloisio et al., 2006).

Os resultados falso-negativos no ELISA em amostras com microscopia positiva para detecção de *G. duodenalis* pode ter ocorrido pela diluição dos poucos cistos presentes num volume de suspensão fecal em formalina, já que as amostras fecais não foram concentradas antes do ensaio imunoenzimático. As fezes foram insuficientes para concentração fecal e reavaliação das amostras pelo ELISA.

O ELISA tem mostrado ser um método sensível e específico para detecção de antígenos fecais de *Giardia* spp. em amostras humanas (Scheffler e Van Etta, 1994; Garcia e Shimizu, 1997) e de bezerros (Geurden et al., 2004), porém em amostras com poucos cistos pode apresentar negatividade no ensaio imunoenzimático, mesmo depois de aplicação de técnicas de concentração das fezes (Scheffler e Van Etta, 1994). Olson et al. (1993) avaliou o ELISA como pouco confiável para detecção do parasito em fezes de ovinos.

8 CONCLUSÃO

O presente trabalho trata-se da primeira descrição das espécies de *Eimeria* que ocorre em criação de ovinos no Rio Grande do Norte, bem como a cinética de infecção por esse parasito em cordeiros infectados naturalmente em condições de criação extensiva.

Mediante os resultados obtidos no estudo das infecções naturais por parasitos do gênero *Eimeria*, *Giardia* e *Cryptosporidium* num criatório de ovinos da região semi-árida do Estado do Rio Grande do Norte, em cordeiros nascidos no período de março a agosto de 2008, pode-se concluir que:

- As condições ambientais locais favorecem à esporulação *Eimeria* spp. e viabilidade de oocistos de *Eimeria* spp. e *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp.
- Os cordeiros se infectam por *Eimeria* spp. iniciam a eliminação de oocisto de *Eimeria* spp. à terceira semana de idade e à sétima semana de idade todos os animais apresentam a infecção patente.
- Na cinética da infecção natural por *Eimeria* spp. verifica-se uma curva de eliminação de oocistos caracterizada por elevação contínua de oocistos excretados seguido de um pico da infecção coccidial à sexta semana de idade e, posterior queda na eliminação de oocistos.
- Os cordeiros estão expostos continuamente a oocistos infectantes de *E. ahsata*, *E. faurei*, *E. ovina*, *E. ovinoidalis*, *E. intricata*, *E. granulosa*, *E. parva*, *E. crandallis*;
- A espécie de *Eimeria* que ocorre com maior frequência é a *E. crandallis*, sendo numericamente predominante, principalmente no pico da infecção por eimeriídeos. Esta espécie deve ser considerada caso ocorram casos clínicos no local.
- *G. duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. estão presentes no local.
- A ocorrência de infecção por *G. duodenalis* nos cordeiros confinados é superior aos criados extensivamente.

REFERÊNCIAS

- ADAM, R. D. The biology of *Giardia* spp. **Microbiol. Rev.**, v.55, p.706-732, 1991.
- AHID, S. M. M.; SUASSUNA, A. C. D., SOARES, H. S.; PEREIRA, R. H. M. A.; LIMA, V. X. M.; SOUZA, Z. A. A. Epidemiologia das endoparasitoses em caprinos e ovinos na região semi-árida do Rio Grande do Norte. **Revista da FAPERN**, v.1, n.4, p.17-20, 2006.
- AHMED, M. I.; UMOH, J. U.; BRISIBE, F. Risk factors of ovine and caprine coccidiosis in an arid zone of Nigeria. **Indian Vet. Med. J.**, v.16, p. 274-278, 1992
- ALOISIO, F.; FILIPPINI, G.; ANTENUCCI, P.; LEPRI, E.; PEZZOTTE, G.; CACCIÒ, S. M.; POZIO, E. Severe weight loss in lambs infected with *Giardia duodenalis* assemblage B. **Vet. Parasitol.**, v.142, p.154-158, 2006.
- ALONSO-FRESÁN, M. U.; VÁZQUEZ-CHAGOYÁN, J .C.; VELÁZQUEZ-ORDOÑEZ, V.; PESCADOR-SALAS, N.; SALTIJERAL-OAXACA, J. Sheep management and cryptosporidiosis in central México. **Trop. Anim. Health Prod.**, 2008. Disponível em: <<http://www.springerlink.com.w10036.dotlib.com.br/content/15772k7x56148455/fulltext.html>> acesso em: 15 de fev. 2009.
- AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A. Species of coccidia in São Paulo State, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 41, n.3-4, p. 189-193, 1992.
- ANGUS, K.W.; APPELYARD, W.T.; MENZIES, J.D.; CAMPBELL, I.; SHERWOOD, D. An outbreak of diarrhoea associated with cryptosporidiosis in naturally reared lambs. **Vet. Rec.**, v. 110, p. 129-130, 1982.
- ARSLAN, M. Ö; UMUR, S.; KARA, M. The prevalence of coccidian species in sheep in Kars province of Turkey. **Trop. Anim. Health Prod.**, v.31, p. 161-165, 1999.

- BARKER I. K., CARBONELL P. L. *Cryptosporidium agni* spp. n. from lambs and *Cryptosporidium bovis* spp. n. from a calf with observations on the oocyst. **Z. Parasitenkd.**, v.44, p.289-298, 1974.
- BARUTZKI, D.; MARQUARDT, S.; GOTHE, R. *Eimeria* infections of sheep in northwest Germany. **Vet. Parasitol.**, v.37, p.79-82, 1990.
- BERRIATUA, E.; GREEN, L. E.; MORGAN, K. L. A descriptive epidemiological study of coccidiosis in early lambing housed flocks. **Vet. Parasitol.**, v.54, 337-351, 1994.
- BOMFIM, T. C. B.; HUBER, F.; GOMES, R. S.; ALVES, L. L. Natural infection by *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties. **Vet. Parasitol.**, v.134, p.9-13, 2005.
- BURET, A.; DENHOLLANDER, N.; WALLIS, P. M.; BEFUS, D.; OLSON, M. E. Zoonotic potencial of giardiasis in domestic ruminants. **J. Infect. Dis.**, v.162, p.231-237, 1990.
- CACCIÒ, S. M.; THOMPSON, R. C. A.; MCLAUHLIN, J.; SMITH, H. V. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. **Trends Parasitol.**, v.21, n.9, p.430-437, 2005.
- CASTRO-HERMIDA, J. A.; ALMEIDA, A.; GONZÁLEZ-WARLETA, M.; COSTA, J. M. C.; RUMBO-LORENZO, C.; MEZO, M. Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in healthy adult domestic ruminants. **Parasitol. Res.**, v. 101, n.5, p. 1443-1448, 2007a.
- CASTRO-HERMIDA, J. A.; GONZÁLEZ-WARLETA, M.; MEZO, M. Natural infection by *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in sheep and goats in Galicia (NW Spain). **Small Rum. Res.**, v. 72, 96-100, 2007b.
- CASTRO-HERMIDA, J. A.; GONZÁLEZ-LOSADA, Y. A.; MEZO-MENÉNDEZ, M.; ARES-MAZÁS, E. A study of cryptosporidiosis in cohort of neonatal calves. **Vet. Parasitol.**, v.106, p. 11-17, 2002.

CATCHPOLE, J.; HARRIS, T. J. Interaction between coccidian and *Nematodirus battus* in lambs on pasture. **Vet. Rec.**, v. 124, p. 603-605, 1989.

CATCHPOLE, J.; NORTON, C. C.; JOYNER, L. P. The occurrence of *Eimeria weybridgensis* and other species of coccidian in lambs in England and Wales. **Br. Vet. J.**, v.131, p.392-401, 1975.

CAUSAPÉ, A. C.; QUÍLEZ, J.; SÁNCHEZ-ACEDO, C.; DEL CACHO, E.; LÓPEZ-BERNARD, F. Prevalence and analysis of potencial risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeastern Spain). **Vet. Parasitol.**, v.104, p.287-298, 2002.

CHAPMAN, H. D. Immunity of lambs to coccidian. **Res. Vet. Sci.**, v.16, p.7-11, 1974.

CLARK, D. R.; SEARS, C.L. The pathogenesis of Cryptosporidiosis. **Parasitol. Today**, v.12, n.6, p.221-225, 1996.

DE GRAAF, D. C.; VANOPDENBOSCH, E.; ORTEGA-MORA, L. M.; ABBASSI, H.; PEETERS, J.E. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. **Int. J. Parasitol.**, v.29, p.1269-1287, 1999.

DÍAZ, V.; CAMPOS, M; LOZANO, J.; MAÑAS, I; GONZÁLEZ, J. Aspects of animal giardiasis in Granada province (southern Spain). **Vet. Parasitol.**, v. 64, p.171-176, 1996.

DUSZYNSKI, D. W.; WIIBER, P. G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. **J. Parasitol.**, v.83, p.333-336, 1997.

FAYER, R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidian. **Vet. Parasitol.** v.6, p.75-103, 1980.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S.J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **Int. J. Parasitol.**, v.30, p.1305-1322, 2000.

FAYER, R.; SANTIN, M; XIAO, L. *Cryptosporidium bovis* spp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). **J. Parasitol.**, v.91, p.624-629, 2005.

FITZGERALD, P. R. The economic impact of coccidiosis in domestic animals. **Adv. Vet. Sci. Comp. Med.**, v.24, p.121-143, 1980.

FOREYT, W. J. Coccidiosis and Cryptosporidiosis in sheep and goats. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v.6, p.655 – 670, 1990.

FRESÁN, M. U. A.; OAXOCA, J. S.; VELÁZQUEZ ORDOÑEZ, V. *Cryptosporidium spp.* prevalence in lambs and ewes from the northern region in the State of Mexico. **International Society for Animal Hygiene**, 2004. Disponível em : < <http://www.isah-soc.org/documents/2004/Fresan.pdf>> Acesso em: 05 mar. 2009.

GARCIA, L. S. BRUCKNER, D. A.; BREWER, T. C.; SHIMIZU, R. Y. Techniques for the recovery and indentification of *Cryptosporidium* oocyst from stool specimens. **J. Clin. Microbiol.**, v.18, p.185-190, 1983.

GARCIA, L. S.; SHIMIZU, R. Y. Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. **J. Clin. Microbiol.**, v.35, p.1526–1529, 1997.

GARCIA, L. S.; SHIMIZU, R. Y.; NOVAK, S.; CARROL, M.; CHAN, F. Commercial assay for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens by rapid solid-phase qualitative immunochromatography. **J. Clin. Microbiol.**, v.41, p.209–212, 2003.

GAULY, M.; REEG, J.; BAUER, C.; ERHARDT, G. Influence of production system in lambs on the *Eimeria* oocyst output and weight gain. **Small Rum. Res.**, v.55, p.159-167, 2004.

GEURDEN, T.; CLAEREBOUT, E.; VERCRUYSSSE, J.; BERKVEN, D. Estimation of diagnostic test characteristics and prevalence of *Giardia duodenalis* in dairy calves in Belgium using a Bayesian approach. **Int. J. Parasitol.**, v. 34, p.1121-1127, 2004.

GEURDEN, T.; VERCRUYSSSE, J.; CLAEREBOUT, E. Is *Giardia* significant pathogen in production animals? **Exp. Parasitol.**, 2009, doi:10.1016/j.exppara.2009.03.001.

GIANGASPERO, A.; GIANGASPERO, A.; PAOLETTI, B.; IORIO, R.; TRAVERSA, D. Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* from sheep in central Italy. **Parasitol. Res.**, v.96, p. 32-37, 2005.

GOMA, F. Y., GEURDEN, T.; SIWILA, J.; PHIRI, I. G. K.; GABRIEL, S.; CLAEREBOU, E.; VERCRUYSSSE, J. The prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in small ruminants in Zambia. **Small Rum. Res.**, v.72, p.77-80, 2007.

GOUET, P., YVORE, P.; NACIRI, M.; CONTREPOIS, M. Influence of digestive microflora on parasite development and the pathogenic effect of *Eimeria ovinoidalis* in the axenic, gnotoxenic and conventional lambs. **Res. Vet. Sci.**, v.36, p.21-23, 1984.

GRACZYK, T. K.; GRIMES, B. H.; KNIGHT, R.; SILVA, A. J.; PIENIAZEK, N. J.; VEAL, D. A. Detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* carried by synanthropic flies by combined fluorescent in situ hybridization and a monoclonal antibody. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.68, n.2, p. 228-232, 2003.

GREEN, R.; AMARANTE, F. T.; MASCARINI, L. M. The seasonal distribution of *Cryptosporidium* oocyst in sheep raiser in the state of São Paulo. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.13, n.3, p.125-127, 2004.

GREGORY, M. W.; JOYNER, L. P.; CATCHPOLE, J.; NORTON, C. C. Ovine coccidiosis in England and Wales 1978-1979. **Vet. Rec.**, v.106, p.461-462, 1980.

GREGORY, M. W.; CATCHPOLE, J.; NOLAN, A.; HERBERT, N. Ovine coccidiosis: studies on the pathogenicity of *Eimeria ovinoidalis* and *E. crandallis* in conventionally-reared lambs, including possible effects of passive immunity. **Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.**, v. 96, n.6, p. 287-292, 1989.

GREGORY, M. W.; CATCHPOLE, J. Ovine coccidiosis: The pathology of *Eimeria crandallis* infection. **Int. J. Parasitol.**, v.20, n. 7, p. 849-860, 1990.

HASSUM, I. C.; MENEZES, R. C. A. A. Infecção natural por espécies do gênero *Eimeria* em pequenos ruminantes criados em dois municípios do Estado do Rio de Janeiro. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.14, n.3, p.95-100, 2005.

HASSUM, I. C.; VALLADARES, G. S.; DE MENEZES, R. C. A. A. Diferenciação das espécies de *Eimeria* parasita de ovinos pelo uso da regressão linear e algoritmos morfológicos. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 16, n. 2, p.97-104, 2007.

HELLE, O.; HILALI, M. Differentiation of *Eimeria* species infecting sheep during the grazing season on permanent and new pasture under Norwegian condition. **Acta Vet. Scand**, v.14, p.57-68, 1973.

HIDALGO-ARGÜELO, M. R.; CORDERO DEL CAMPILLO, M. Epizootiologia de La coccidiosis ovina por *Eimeria intricata* em la província de León (Espanha). **Rev. Ibér. Parasitol.**, v.47, n.4, p.325-333, 1987.

HIDALGO-ARGÜELO, M. R.; CORDERO DEL CAMPILLO, M. Epizootiology of *Eimeria ahsata* coccidiosis on León (Spain). **Vet. Parasitol.**, v.27, p.183-191, 1988.

HOLLAND, R. E. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. **Clin. Microbiol. Vet. Assoc.**, v.3, p.345-375, 1990.

HUNTER, P. R.; THOMPSON, R. C. A. The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. **Int. J. Parasitol.**, v.35, p.1181-1190, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pecuária 2007**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=rn&tema=pecuaria2007>> Acesso em: 05 mar. 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pecuária 2007**. Disponível em: < <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&o=22&i=P&c=325>> Acesso em: 30 mar. 2009.

INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E MEIO AMBIENTE DO RIO GRANDE DO NORTE – IDEMA. Localização geográfica, altitude dos municípios e distância rodoviária das capitais às sedes municipais, segundo os município. In: INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E MEIO AMBIENTE DO RIO GRANDE DO NORTE – IDEMA. **Anuário Estatístico do Rio Grande do Norte 2007**. Disponível em: <<http://www.idema.rn.gov.br/anuario2007/Em%20pdf/1.1.2.pdf>>. Acesso em: 14 ago. 2007.

JOHNSTON, S. P.; BALLARD, M. M.; BEACH, M. J.; CAUSER, L.; WILKINS, P. P. Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. **J. Clin. Microbiol.**, v.41, p.623–626, 2003.

KAYA, G. Prevalence of *Eimeria* species in lambs in Antakya Province. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.**, v. 28, p. 687-692, 2004.

KIROPES, A. L.; KIRKPATRICK, C. E.; BOWMAN, D. D. Isolation of *Giardia* from a Llama and from Sheep. **Can. J. Vet. Res.**, v. 51, p.277-280, 1987.

KOUDELA, B.; VÍTOVEC, J. Experimental giardiasis in goat kids. **Vet. Parasitol.**, v.74, p. 9-18, 1998.

LEITE, E. R. **Ovinocaprinocultura no Nordeste – organização e crescimento**. Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br/artigo14.htm>>. Acesso em: set. 2007.

LEVINE, N. D. **Protozoan parasites of domestic animals and of man**. 2. ed. Minneapolis: Burgess, 1961. 412p.

LEVINE, N. D. **Veterinary Protozoology**. 1. ed. Ames: Iowa State University. 1985. p. 130-163.

LIMA, J. D. *Eimeria caprovina* spp. n. from the domestic goat *Capra hircus*, from the USA. **J. Protozool.**, v. 27, n.2, p.153-154, 1980.

LIMA, J. D. Eimeriose de caprinos. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1991, 16p. Seminário apresentado para Concurso de Professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UFMG. Digitado. Não publicado.

LIMA, J. D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.13, supl.1, 2004. p. 9-13.

LINDSAY, D. S.; UPTON, S. J.; OWENS, D. S., MORGAN, U. M.; MEAD, J. R.; BLAGBURN, B. L. *Cryptosporidium andersoni* n. spp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos Taurus*. **J. Eukaryot Microbiol.**, v.47, n.1, p.91-95, 2000.

LONG, P. L.; JOYNER, L.P. Problems in the indentification of species of *Eimeria*. **J. Protozool.**, v.31, n.4, p.535-541, 1984.

MCKENNA, P. B. The identity and prevalence of coccidia species in sheep and cattle in New Zealand. **N. Z. Vet. J.**, v.20, n.12, p.225-228, 1972.

MAINGI, N. MUNYUA, W. K. The prevalence and intensity of infection with *Eimeria* species in sheep in Nyandarua district of Kenya. **Vet. Res. Communic.**, v.18, p.19-25, 1994.

MAJEWSKA, A. C.; WERNER, A.; SULIMA, PAWEL; LUTY, T. Prevalence of *Cryptosporidium* in sheep and goats bred on five farms in west-central region of Poland. **Vet. Parasitol.**, v.89, p. 269-275, 2000.

MAJEWSKA, A. C.; KASPRZAK, W.; WERNER, A. Prevalence of *Giardia* infection in livestock and the possibility of zoonotic transmission. **Acta Parasitol.**, v.43, n.1, p.1-3, 1998.

MALLON, M.; MACLEOD, A.; WASTLING, J.; SMITH, H. REILLY, B.; TAIT, A. Population strutures and the role of genetic exchange in the zoonotic pathogen *Cryptosporidium parvum*. **J. Mol. Evol.**, v.56, p. 407-417, 2003.

MANSON, P. Naturally acquired coccidia infection in lambs in Otago. **N. Z. Vet. J.**, v.23, p. 30-33, 1977.

MCDOUGALD, L. R. Attempted Cross-transmission of Coccidia between sheep and goats and description of *Eimeria ovinoidalis* spp. n. **J. Protozool.**, v.26, n.1, p.109-113, 1979.

MCLAUCHLIN, J.; AMAR, C.; PEDRAZA-DIAZ, S.; NICHOLS, G. L. Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. in the United Kingdom: results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1,705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. **J. Clin. Microbiol.**, v. 38, p. 3984-3990, 2000.

MENEZES, R. C. A. A.; LOPES, C. W. G. Epizootiologia da *Eimeria arloingi* em caprinos na microrregião serrana fluminense, Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Univ. Ser. Ciênc. da vida**, v. 17, n. 2, p.5-12, 1995.

MENEZES, R. C. A. A.; PAIVA, R. V.; HASSUM, I. C. Prevalência das espécies do gênero *Eimeria* em ovinos da raça Santa Inês em um criatório na microrregião serrana, do Estado do Rio de Janeiro: Dados Preliminares. **Ciênc. Vet. Tróp.**, v.4, n.2-3, p.268-273, 2001.

MICHAEL, E.; PROBERT, A. J. Histopathological observations on some coccidial lesions in natural infections of sheep. **Res. Vet. Sci.**, v.2, p.441-446, 1970.

MONIS, P. T.; ANDREWS, R. S.; MAYRHOFER, G.; EY, P. L. Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. **Infect. Genet. Evol.**, v.3, p.29-38, 2003.

MONIS, P. T.; THOMPSON, R. C. A. *Cryptosporidium* and *Giardia*-zoonoses: fact or fiction? **Infect. Genet. Evol.**, v. 3, p.233-244, 2003.

MUWALLA, M.M.; ABO-SHEHADA, M.N. Influence of planes of nutrition on natural coccidial infections in Awassi lambs. **Indian J. Anim. Sci.**, v.61, n.6, p.632-634, 1991.

O'CALLAGHAN, M. G.; O'DONOGHUE, P. J.; MOORE, E. Coccidia in sheep in south Australia. **Vet. Parasitol.**, v.24, p.175-183, 1987.

O'DONOGHUE, P. J. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. **Int. J. Parasitol.**, v.24, n.2, p.139-195, 1995.

OLSON, M. E.; MCALLISTER, T. A.; DESELLIERS, L.; MORCK, D. W.; CHENG, K. J.; BURET, A. G.; CERI, H. Effects of giardiasis on production in a domestic ruminant (lamb) model. **Am. J. Vet. Res.**, v.56, n.11, p.1470-1474, 1995.

OLSON, M. E.; THORLAKSON, C. L.; DESELLIERS, L.; MORCK, D. W.; MCALLISTER, T. A. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. **Vet. Parasitol.**, v. 68, p.375-381, 1997.

OLSON, M. E.; GOH, J.; PHILLIPS, M.; GUSELLE, N.; MCALLISTER, T. A. *Giardia* Cyst and *Cryptosporidium* Oocyst Survival in Water, Soil, and Cattle Feces. **J. Environ. Qual.**, v.28, n.6, 1999

ORTEGA-MORA, L. M.; WRIGHT, S. E. Age-Related resistance in ovine cryptosporidiosis: patterns of infection and humoral immune response. **Infect. Immun.**, v.62, n.11, p.5003-5009, 1994.

ORTEGA-MORA, L. M.; REQUEJO-FERNÁNDEZ, J. A.; PILAR-IZQUIERDO, M.; PEREIRA-BUENO, J. Role of adult sheep in transmissão of infection by *Cryptosporidium parvum* to lambs: confirmation of periparturiente rise. **Int. J. Parasitol.**, v.29, p.1261-1268, 1999.

PINHEIRO, R. R.; ALVES, F. S. F.; ANDRIOLI, A. Importância do diagnóstico precoce de doenças em pequenos ruminantes. Sobral: **Embrapa Caprinos**, 2002, 27p.

POUT, D. D. Coccidiosis in lambs. **Vet. Rec.**, v.77, n.30, p.887-888, 1965.

POUT, D. D. Coccidiosis of lambs. I. Observation on the naturally acquired infection. **Br. Vet. J.**, v.129, n.6, p.555-567, 1973.

POUT, D. D. Coccidiosis of sheep: A review. **Vet. Rec.**, v. 98, p.340-341, 1976.

POUT, D. D.; OSTLER, D. C.; JOYNER, L. P.; NORTON, C. C. The coccidial population in clinically normal sheep. **Vet. Rec.**, v.78, n.13, p.455-460, 1966.

POUT, D. D.; NORTON, C. C.; CATCHPOLE, J. Coccidiosis of lambs. II. The production of oocyst burdens in laboratory animals. **Br. Vet. J.**, v.129, n.6, p.568-582, 1973.

POUT, D. D.; CATCHPOLE, J. Coccidiosis of lambs. V. The clinical response to long term infection with a mixture of different species of coccidian. **Br. Vet. J.**, v.130, n.4, p.388-399, 1974.

PROBERT, A. J.; MICHAEL, E. The prevalence of coccidia in faecal samples from sheep in North Wales. **Res. Vet. Sci.**, v.2, p.402-403, 1970.

RADHA, G.; HARIKRISHNAN, T. J. Haematobiochemical changes in natural and experimental ovine coccidiosis. **Cheiron**, v.32, n.3-4, p.84-85, 2003.

RAMIREZ, N. E.; WARD, L. A.; SREEVATSAN, S. A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. **Microb Infect**, v.6, p.773-785, 2004.

REEG, K. J.; GAULY, M.; BAUER, C.; MERTENS, C.; ERHARDT, G.; ZAHNER, H. Coccidial infections in housed lambs: oocyst excretion, antibody levels and genetic influences on the infection. **Vet. Parasitol.**, v.127, p.209-219, 2005.

REGINSSON, K.; RICHTER, S. Coccidia of genus *Eimeria* in sheep in Iceland. **Iceland Agricultural Science**, v.11, p.99-106, 1997.

RIO GRANDE DO NORTE. Secretaria do Planejamento e das Finanças. Instituto de Desenvolvimento Econômico e Meio Ambiente do Rio Grande do Norte – IDEMA. **Perfil do seu município: Lajes**. v. 08. p.1-23, 2005. Disponível em: <<http://www.idema.rn.gov.br/perfil/Lajes/Lajes.doc>>. Acesso em: 14 ago. 2007.

ROBERT, B.; GINTER, A.; ANTOINE, H.; COLLARD, A.; COPPE, P. Diagnosis of bovine cryptosporidiosis by an enzyme linked immunosorbent assay. **Vet. Parasitol.**, v.37, n.1, p.1-8 1990.

ROBERTSON, L. J.; CAMPBELL, A. T.; SMITH, H. V. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocyst under various environmental pressures. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.58, n.11, p.3494-3500, 1992.

ROMANIUK, K.; MICHALSKI, M.; SOKOL, R.; SZELAGIEWICZ, M. Influence of *Eimeria* spp. and roundworms on the level of some haematological and biochemical indices in the blood of lamb. **Med. Wet.**, v.49, n.6, 1993.

ROSS, D. B. Successful treatment of coccidiosis in lambs. **Vet. Rec.**, v. 83, p.189-190, 1968.

RUEST, N., FAUBERT, G. M., COUTURE, Y. Prevalence and geographical distribution of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in dairy farms in Quebec. **Can. Vet. J.**, v.39, p.697-700, 1998.

SANTANA, A. F.; NETO, E. B.; ALVES, M. T. B; BERNSEE, M. Eimeriídeos de ovino no Estado da Bahia. **Arq. Esc. Med. Vet. Univ. Fed. Bahia**, v.8, n. 1, p.50-58, 1983.

SANTIAGO, M. A. M.; COSTA, U. C. As espécies de *Eimeria* parasitas dos ovinos no Rio Grande do Sul. **Rev. Med. Vet.**, v.10, n.3, p. 221-225, 1975.

SANTÍN, M.; TROUT, M. J.; FAYER, R. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* species and genotypes in sheep in Maryland. **Vet. Parasitol.**, v.146, p.17-24, 2007.

SCOTT, K. G.; LOGAN, M. R.; KLAMMER, G. M.; TEOH, D. A.; BURET, A. G. Jejunal brush border microvillous alterations in *Giardia* muris-infected mice: role of T lymphocytes and interleukin-6. **Infect. Immun.**, v. 68, p.3412-3418, 2000.

SCOTT, K. G., MEDDINGS, J. B., KIRK, D. R., LEES-MILLER, S. P., BURET, A. G. Intestinal infection with *Giardia* spp. reduces epithelial barrier function in a myosin light chain kinase-dependent fashion. **Gastroenterol.**, v.123, p.1179-1190, 2002.

SEVINÇ, F.; USLU, E.; DERİNBAY, Ö. The prevalence of *Cryptosporidium parvum* in lambs around Konya. **Turk. J. Vet. Anim. Sci.**, v. 29, p.1191-1194, 2005.

SCHEFFLER, E. H.; VAN ETTA, L. L. Evaluation of rapid commercial enzyme immunoassay for detection of *Giardia lamblia* in formalin-preserved stool specimens. **J. Clin. Microbiol.**, v.32, n.7, p.1807-1808, 1994.

SILVA, N. R. S.; MILLER, J. E. Survey of *Eimeria* spp. oocysts in feces from Louisiana State University ewes. **Vet. Parasitol.**, v.40, p.147-150, 1991.

SILVA, N. R. S.; ARAÚJO, F. A. P.; CHAPLIN, E. L. Eimeriídeos de ovinos constatados no município de Porto Alegre. **Arq. Fac. Vet., UFRGS**, n.15-16, p.41-45, 1987/1988.

SILVA, T. P. G. **Dinâmica das infecções naturais por *Eimeria* spp. em cordeiros da raça Santa Inês criados em sistema semi-intensivo no norte de Minas Gerais e seu controle através da administração de toltrazuril.** 2006. 82p. (Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

SILVA, N. R. S.; FALCI, V. S. N.; AZEVEDO, J. S. C. CHAPLIN, E. L.; ARAÚJO, F. A. P. *Cryptosporidium parvum* em ovinos no município de Guaíba, RS. **Arq. Fac. Vet., UFRGS**, Porto Alegre, v.18, p.69-72, 1990.

SIMPLÍCIO, A. A.; WANDER, A. E.; LEITE, E. R.; LOPES, E. A. Caprino-ovinocultura de corte como alternativa para a geração de emprego e renda. Sobral: **Embrapa Caprinos**, 44p., 2003.

SNODGRASS, D. R.; ANGUS, K. W.; GRAY, E. W. Experimental cryptosporidiosis in germfree lambs. **J. Comp. Path.**, v.94, p.141-152, 1984.

TAYLOR, M. A.; CATCHPOLE, J.; MARSHALL, R. N.; GREEN, J. Giardiasis in lamb at pasture. **Vet. Rec.**, v. 133, p.131-133, 1993.

TAYLOR, S. M.; O'HAGAN, J.; MCCRACKEN, A.; MCFERRAN, J. B.; PURCELL, D. A. Diarrhoea in intensively-reared lambs. **Vet. Rec.** v. 93, p.461-464, 1973.

TEMBUE, A. A. M.; ALVES, L. C.; BORGES, J. C. G.; FAUSTINO, A. G.; MACHADO, E. L.C. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em ovinos no município de Ibimirim, estado de Pernambuco. **Ciênc. Vet. Trop.**, Recife-PE, v. 9, n. 1, p.41 – 43, 2006.

TENDER, A. M.; BARTA, J. R.; BEVERIDGE, I.; DUSZYNSKI, D. W.; MEHLHORN, H.; MORRISON, D. A.; THOMPSON, R. C. A.; CONRAD, P. A. The conceptual basis for a new classification of the coccidian. **Int. J. Parasitol.**, v.32, p.595 - 616, 2002.

THOMPSON, R. C. A.; HOPKINS, R. M.; HOMAN, W. L. Nomenclature and genetic grouping of *Giardia* infecting mammals. **Parasitol. Today**, v.16, p.210-213, 2000.

TZIPORI, S.; WARD, H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. **Microb. Infec.**, v.4, p.1047-1058, 2002.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes.** 2ª ed. Tokyo: Japan International Cooperation Agency, 1997. 166 p.

VARGAS, L.; FERREIRA, C. S.; CARVALHEIRAS, M. S. Prevalência de *Giardia* em ovinos de Cidade Gaúcha – Paraná – Brasil. **Rev. Unimar**, v.16, n.2, p.289-296, 1994.

VASCONCELOS, V. R.; VIEIRA, L. S. **A Evolução da Caprino-Ovinocultura Brasileira** Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br/artigo8.htm>>. Acesso em: set. 2007.

VASILKOVÁ, Z.; KRUPICER, I.; LEGÁTH, J.; KOVALKOVICOVÁ, N.; PET'KO, B. Coccidiosis of small ruminants in various regions of Slovakia. **Acta Parasitol.**, v.49, n.4, p.272-275, 2004.

VERCRUYSSSE, J. The coccidian of sheep and goat in Senegal. **Vet. Parasitol.**, v.10, p.297-306, 1982.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C.; XIMENES, L. J. F. Infection with *Eimeria* species in hair sheep reared in Sobral, Ceará State, Brazil. **Rev. Méd. Vét.**, v.150, n.6, p.547-550, 1999.

VIEIRA, L. S. Endoparasitoses gastrintestinais em caprinos e ovinos. Sobral: **Embrapa Caprinos**, 32p., 2005.

WOLFE, M. S. Giardiasis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.5, n.1, p.93-100, 1992.

XIAO, L. *Giardia* infection in farm animals. **Parasitol. Today**, v. 10, p. 436-438, 1994.

XIAO, L.; HERD, R. P.; RINGS, D. M. Diagnosis of *Cryptosporidium* on sheep farm with neonates diarrhea by immunofluorescence assays. **Vet. Parasitol.**, v.47, p.17-23, 1993.

XIAO, L.; HERD, R. P.; MCCLURE, K. E. Periparturient rise in the excretion of *Giardia* spp. cyst and *Cryptosporidium parvum* oocysts as a source of infection for lambs. **J. Parasitol.**, v.80, p.55-59, 1994.

YAKHCHALI, M.; GOLAMI, E. *Eimeria* infection (Coccidia: Eimeriidae) in sheep of different age groups in Sanandaj city, Iran. **Veterinarski Arhiv**, v.78, n.1, p.57-64, 2008.

ZIMMERMAN, S. K.; NEEDHAM, C. A. Comparison of conventional stool concentration and preserved-smear methods with Merifluor *Cryptosporidium/Giardia* Direct Immunofluorescence Assay and ProSpecT *Giardia* EZ Microplate Assay for the detection of *Giardia lamblia*. **J. Clin. Microbiol.**; v. 33, p.1942–1943, 1995.