

**Eduardo Bastianetto**

**INFECÇÃO POR *Eimeria* spp. EM BÚFALOS JOVENS E AVALIAÇÃO DE  
ESQUEMAS TERAPÊUTICOS METAFILÁTICOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Romário Cerqueira Leite

Belo Horizonte  
Escola de Veterinária - UFMG  
2010

B3261i Bastianetto, Eduardo, 1979 –  
Infecção por *Eimeria sp.* em búfalos jovens e avaliação de esquemas  
terapêuticos metafiláticos / Eduardo Bastianetto – 2010.  
57 p. :il.  
Orientador: Romário Cerqueira Leite  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de  
Veterinária  
Inclui bibliografia

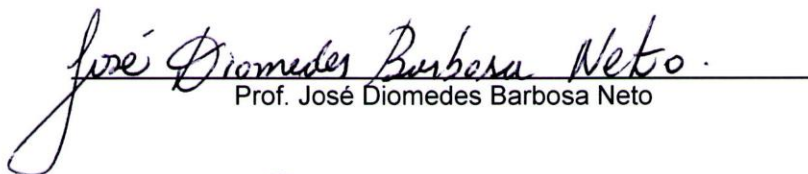
1. Búfalo – Doenças – Tratamento – Teses. 2. *Eimeria* – Teses.  
3. Medicamentos – Administração – Teses. 4. Epidemiologia – Teses.  
I. Leite, Romário Cerqueira Leite. II Universidade Federal de Minas Gerais,  
Escola de Veterinária. III Título.

CDD – 636.208 96

Tese defendida e aprovada em 26 de fevereiro de 2010, pela Comissão Examinadora constituída por:



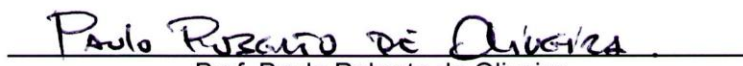
Prof. Romário Cerqueira Leite  
Orientador



Prof. José Diomedes Barbosa Neto



Prof. Luiz da Silva Vieira



Prof. Paulo Roberto de Oliveira



Prof. Mucio Flávio Barbosa Ribeiro



## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a minha família, a minha querida noiva Patrícia e aos bons amigos que sempre acompanham meus sonhos.

Carinhosamente dedico este trabalho também aos professores da Escola de Veterinária da UFMG Romário Cerqueira Leite, Rômulo Cerqueira Leite e Denise Aparecida Andrade de Oliveira, que ao longo dos últimos 12 anos respeitaram e apoiaram as atividades de pesquisa com búfalos, as quais realizo com muito amor e dedicação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos funcionários e proprietários da fazenda Bom Destino pela oportunidade de executar as atividades experimentais e gentil acolhimento, aos colegas e funcionários do Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UFMG, aos Professores Elias Jorge Facury Filho e Jose Oswaldo Costa que compuseram meu comitê científico, aos Professores Carolina Maria Viana de Freitas, José Diomedes Barbosa Neto, Luiz da Silva Vieira, Paulo Roberto de Oliveira e Múcio Flávio Barbosa Ribeiro que, contribuíram para a formatação final da tese, e ao Professor Romário Cerqueira Leite pela orientação deste trabalho.

Agradeço o suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao INCT de Informação Genético-Sanitária da Pecuária Brasileira.

---

---

## EPIGRAFE

*“ ....Se considerarmos a rusticidade, a extraordinária capacidade de transformar alimentos pobres em carne, leite e gordura, a longevidade, a prolificidade, vamos chegar a conclusão de ser o búfalo um fenômeno da natureza.”*

Milton Barba de Oliveira  
Búfalo Gado do Futuro, 2002

---

## SUMÁRIO

---

<b>RESUMO</b> .....	<b>11</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>11</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>12</b>
2.1 Aspectos Gerais .....	12
2.2 Digestão e absorção de alimento no intestino delgado .....	13
2.3 Coccídios.....	14
2.4 Infecção dos animais por <i>Eimeria SP</i> .....	15
2.5 Eimeriose em búfalos.....	16
2.6 Resposta imunológica contra coccídios .....	19
2.7 Medicamentos com ação anticoccídia .....	20
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
3.1 Objetivo geral .....	22
3.2 Objetivos específicos .....	22
<b>4.0 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>22</b>
4.1 Localização.....	22
4.2 Descrição do manejo dos animais .....	22
4.3 Dados meteorológicos.....	23
4.4 Testes experimentais .....	23
4.5 Exames coprológicos .....	24
4.6 Identificação das espécies de <i>Eimeria SP</i> .....	24
4.7 Fontes de infecção dos bezerros .....	24
4.8 Necropsia e histopatologia .....	24
4.9 Estudo da frequência de <i>Eimeria sp.</i> – etapa .....	25
4.10 Estudo da eficácia do tratamento dos animais .....	26
4.11 Estudo da eficácia de decoquinato - etapa 3 .....	27
4.12 Análise estatística .....	27
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
5.1 Diagnóstico de oocistos de <i>Eimeria sp.</i> - etapa 1 .....	28
5.2 Espécies de <i>Eimeria</i> identificadas - etapa 1 .....	30
5.3 Necropsias e histopatologia .....	32
5.4 Resultados e discussão – etapa 2 .....	34
5.5 Identificação das espécies de <i>Eimeria sp.</i> na etapa 2.....	44
5.6 Resultados e discussão – etapa 3 .....	49
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>51</b>
<b>7. CONCLUSÕES</b> .....	<b>53</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>54</b>

---

**LISTA DE FIGURAS**

---

Figura 1	Corte histológico de seção intestinal da região ilíaca com vilos destruídos (círculo) e diversos estágios evolutivos de <i>Eimeria</i> sp (setas). (aumento 100 X).....	32
Figura 2.	Macrogamonte de <i>Eimeria</i> sp. (indicado pela seta menor) e oocisto de <i>Eimeria bareillyi</i> em fase final de formação no interior do vilos (indicado pela seta maior). (aumento 400 X).....	33
Figura 3	Oocisto esporulado de <i>Eimeria bareillyi</i> (aumento 2000X).....	33

---

**LISTA DE TABELAS**

---

Tabela 1	Número médio de oocistos de <i>Eimeria</i> sp. por grama de fezes em função da idade dos animais, número de animais analisados e a frequência de animais positivos por idade, em 72 bezerros bubalinos, com idade entre o 1º e 123º dia de vida, naturalmente infectados, criados no município de Oliveira, Minas Gerais, 2007 .....	29
Tabela 2	Quantidade de oocistos de <i>Eimeria</i> sp. por grama de material coletado, através da lavagem do teto e úbere das búfalas, previamente ao contato da boca do bezerro e em amostras de solução de água e matéria orgânica acumulada em fresta, após chuva no pavimento do bezerreiro de propriedade localizada no município de Oliveira - MG no ano de 2007 ...	30
Tabela 3	Frequência média de espécies de <i>Eimeria</i> diagnosticadas em pool de fezes de bezerros bubalinos criados no município de Oliveira - MG no ano de 2007, de acordo, com a faixa etária .....	31
Tabela 4	Contagem média do número de oocistos de <i>Eimeria</i> sp. por grama de fezes em função da idade dos animais, número de animais analisados e a frequência de animais positivos por idade, em 18 bezerros bubalinos, com idade entre o 2º e 55º dia de vida, naturalmente infectados, criados no município de Oliveira, Minas Gerais, 2008.....	34
Tabela 5	Contagem média do número de oocistos de <i>Eimeria</i> sp. por grama de fezes em função do tratamento, da idade dos animais, número de animais avaliados e a frequência de animais positivos para cada idade, em 11 bezerros bubalinos naturalmente infectados do 1º ao 68º dia de vida, tratados com sulfaquinoxalina sódica (25mg/kg PC), via oral, durante dois dias em idade média de 7,9±1,44 dias, criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008 .....	36
Tabela 6	Contagem média do número de oocistos de <i>Eimeria</i> sp. por grama de fezes em função do tratamento, da idade dos animais, número de animais avaliados e a frequência de animais positivos para cada idade em 10 bezerros bubalinos, naturalmente infectados do 1º ao 64º dia de vida, tratados com toltrazuril (15 mg/Kg PC), via oral, em idade média de 8,3±2,1 dias, criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008 .....	38



Tabela 7	Contagem média do número de oocistos de <i>Eimeria</i> sp. por grama de fezes, em função do tratamento, da idade dos animais, número de animais avaliados e a frequência de animais positivos para cada idade, em 10 bezerros bubalinos, naturalmente infectados do 1º ao 48º dia de vida, tratados com toltrazuril (7,5mg/Kg PC), via oral, em idade 7,8±1,93 dias, criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008.....	40
Tabela 8	Contagem média do número de oocistos de <i>Eimeria</i> sp. por grama de fezes em função do tratamento, da idade dos animais, número de animais avaliados e a frequência de animais positivos, para cada idade em 10 bezerros bubalinos naturalmente infectados, do 1º ao 53º dia de vida tratados com amprólio (10,0 mg/kg PC), via oral, em idade de 7,4±0,91dias, criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008 .....	42
Tabela 9	Contagem média semanal do número de oocistos de <i>Eimeria</i> sp. por grama de fezes dos bezerros bubalinos naturalmente infectados por <i>Eimeria</i> sp., medicados e não medicados, integrantes de G1, G2, G3, G4 e G5, criados no município de Oliveira – Minas Gerais .....	44
Tabela 10	Frequência das espécies de <i>Eimeria</i> sp. presentes nas fezes de bezerros búfalos do 6º ao 61º dia de vida criados no município de Oliveira – MG expostos a infecção natural em 2008 .....	45
Tabela 11	Contagem média do número de oocistos de <i>Eimeria</i> sp. por grama de fezes de bezerros bubalinos, criados no município de Oliveira – MG, naturalmente infectados com idade média aproximada de 150 dias, tratados com decoquinato (0,5 mg /kg de PV) (G6) e não tratados (G7), 2008 .....	50
Tabela 12	Peso corporal médio de bezerros bubalinos, criados no município de Oliveira – MG, naturalmente infectados por <i>eimeria</i> SP,. com idade média aproximada de 150 dias, tratados com decoquinato (0,5 mg /kg de PV) (G6) e não tratados (G7), nos dias -14, 0 e 28, em relação ao início do tratamento, 2008.....	50
Tabela 13	Peso médio de bezerros bubalinos (Kg) criados no município de Oliveira – MG, naturalmente infectados por <i>Eiméria</i> sp., com idade média aproximada de 150 dias, medicados (G6A e G7A) e não medicados (G6B e G7B) na primeira semana de vida, tratados com decoquinato (0,5 mg /kg de PV) (G6) e não tratados (G7) nos dias -14 e 28, em relação ao início do tratamento, 2008. ....	50

---

#### LISTA DE GRÁFICOS

---

Gráfico 1	Contagem do número de OOPG de <i>Eimeria</i> sp. nas fezes de 72 bezerros, expostos à infecção natural, em 2007 durante 48 dias .....	30
Gráfico 2	Contagem do número de OOPG de <i>Eimeria</i> sp. nas fezes de 18 bezerros, expostos à infecção natural e não medicados durante 48 dias, criados no município de Oliveira - Minas Gerais, 2008.....	35

Gráfico 3	Varição na eliminação da contagem média do número de oocistos de <i>Eimeria sp.</i> por grama de fezes, em 11 bezerros bubalinos, naturalmente infectados do 1º ao 68º dia de vida, tratados com sulfaquinoxalina sódica na dosagem de 25mg/kg PC, administrado via oral, durante dois dias, em idade média de 7,9±1,44 dias (indicado pela seta), criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008 .....	37
Gráfico 4	Varição na eliminação da contagem média do número de oocistos de <i>Eimeria sp.</i> por grama de fezes, em 10 bezerros bubalinos, naturalmente infectados do 1º ao 64º dia de vida, tratados com dose única de toltrazuril (15 mg/Kg PC) via oral, em idade média de 8,3±2,1 dias (indicado pela seta), criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008.....	39
Gráfico 5	Varição da contagem média do número de oocistos de <i>Eimeria sp.</i> por grama de fezes, em de 10 bezerros bubalinos, naturalmente infectados do 1º ao 48º dia de vida, tratados com toltrazuril (7,5mg/Kg PC) via oral, em idade 7,8±1,93 dias (indicado pela seta), criados no município de Oliveira – Minas Gerais. ....	41
Gráfico 6	Varição da contagem média do número de oocistos de <i>Eimeria sp.</i> por grama de fezes e a frequência de animais positivos em 10 bezerros bubalinos ,naturalmente infectados do 1º ao 53º dia de vida, tratados com amprólio (10,0 mg/kg PC) via oral via oral, em idade de 7,4±0,91dias (indicado pela seta) criados, no município de Oliveira – Minas Gerais. ....	43
Gráfico 7	Varição da frequência das espécies de <i>Eimeria sp.</i> , identificadas nas fezes dos bezerros do 6º ao 61º dia de vida criados no município de Oliveira, MG naturalmente infectados no ano de 2008.....	47

---

## RESUMO

O impacto da infecção por parasitos em búfalos é reconhecido em todo o mundo, onde a eimeriose em animais jovens se destaca dentre os demais pela sua alta morbidade e mortalidade. Em decorrência das circunstâncias envolvidas no desenvolvimento da doença causada pela infecção de bezerros búfalos, por protozoários do gênero *Eimeria* sp., foram analisados os fatores predisponentes a esse tipo de infecção. Realizaram-se estudos epidemiológicos do curso da infecção por *Eimeria* sp. em animais expostos à infecção natural; análise das alterações clínicas nos animais parasitados; estudo do impacto da doença sobre a produtividade no rebanho bubalino e, também, verificação da eficiência da administração de sulfaquinoxalina sódica, amprólio, toltrazuril e decoquinato em bezerros para o controle da infecção. A eficácia dos tratamentos foi constatada através da comparação do número de oocistos de *Eimeria* sp., diagnosticados nas fezes dos animais que compuseram os grupos experimentais por intermédio do exame de fezes. A identificação das espécies de *Eimeria* sp presentes, através da análise de suas características morfológicas, permitiu comprovar a eficácia das drogas para cada espécie e, também, correlacionar as alterações clínicas observadas nos animais com as espécies presentes. Foram identificadas as espécies *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. cylindrica*, *E. bareillyi*, *E. zuernii*, *E. ellipsoidalis*, *E. subsferica* e *E. canadensis* infectando bezerros búfalos. As metodologias de controle analisadas foram eficientes para a redução da mortalidade dos animais. Houve diversidade nas respostas dos animais em relação às diferentes drogas avaliadas e, ainda, no grupo controle não medicado. O tratamento dos animais com toltrazuril, via oral, na dosagem única de 15 mg/kg de peso corporal ao sétimo dia de vida em bezerros bubalinos, expostos à infecção natural por *Eimeria* SP., apresentou melhor eficácia para o controle da infecção natural por *Eimeria* sp., em relação aos demais protocolos avaliados.

Palavras-chave: Ruminantes, Búfalo, *Eimeria* sp, Epidemiologia, Clínica, Controle

## ABSTRACT

Buffalo (*Bubalus bubalis*) breeding is nowadays a growing activity in several continents not only for its best fitting to tropical conditions but also for its milk and meat production demands. Physiological features of the bubaline species combined with handling practices in use to raise cattle propitiate young animal infection by parasites of gender *Eimeria*. The impact of the infection by parasites on buffaloes is acknowledged worldwide wherever eimeriosis in young animals is prominent for its high morbidity and mortality. For the analysis of the circumstances involved in the development of the disease caused by the protozoan genus *Eimeria* infection of buffalo calves, predisposition factors to this kind of disease were assessed. Epidemiological studies of the infection course by *Eimeria* sp. in animals exposed to the natural infection, the analysis of the clinical alterations in infected animals, the efficacy of the administration of sulfaquinoxaline sodium, amprolium, toltrazuril and decoquinate in calves for infection control, besides the analysis of the disease impact on the productivity of the bubaline cattle were made. The efficacy of treatments was assessed through the comparison of the number of *Eimeria* sp. oocysts diagnosed in the feces examination of the animals composing the experimental groups. The identification of the *Eimeria* species found by the analysis of its morphological characteristics verified both the efficacy of the drugs for each species and allowed to establish a mutual relation of the clinical alterations observed in animals with the existing species. The analyzed control methodologies were efficient for the animal mortality decrease, and different responses were assessed both in the relation animals / evaluated drugs, and in the control group, not medicated. The treatment of bubaline calves with oral toltrazuril in single dosage of 15mg/kg of body weight on the seventh day of life when the animals had been exposed to the natural infection by *Eimeria* sp. Proved increased efficiency for the control of the natural infection by *Eimeria* sp as compared to the other assessed protocols.

Key words: Ruminant. Water buffalo. *Eimeria* sp.. Epidemiology. Clinic. Control.

## 1 INTRODUÇÃO

O búfalo (*Bubalus bubalis*) é considerado uma das espécies domesticáveis de maior docilidade, sendo uma excelente opção para pequenos e grandes pecuaristas. A espécie bubalina é capaz de produzir carne, leite e tração com notáveis qualidades que a diferencia das demais espécies quanto aos produtos similares até então conhecidos. A população bubalina cresce em muitos países, também, em função de sua boa adaptabilidade às condições climáticas das áreas tropicais e subtropicais. Isso se deve à maior resistência às infecções parasitárias, especialmente por carrapatos da espécie *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*, a intoxicações por plantas tóxicas, ao desenvolvimento de patologias comumente observadas em bovinos, com infecções no trato reprodutivo da fêmea e na glândula mamária.

Existe a tendência de utilizar nos rebanhos bubalinos práticas de trabalho fundamentadas em conhecimento desenvolvido para a espécie bovina, dada a aparente semelhança entre ambas. As diferenças existentes, no entanto, entre as espécies são evidenciadas com a tecnificação da bubalinocultura e aumento da produtividade animal, pois as soluções empregadas nos sistemas de produção, para a espécie bovina, podem não surtir o mesmo efeito com bubalinos. O aumento da produtividade normalmente introduz ou favorece o aparecimento de patologias decorrentes das alterações de manejo; como aumento da densidade animal, alimentação com maiores proporções de carboidratos não estruturais e confinamento dos animais em produção.

Com o crescente interesse nacional pela criação dessa espécie, o problema das diarreias de bubalinos jovens tem sido referido com grande frequência nos meios de criação e, dentre os diagnósticos realizados, reporta-se à ocorrência da coccidiose como causa primária de casos e surtos da enfermidade.

No Brasil, ainda que se observe um crescente número de artigos referentes à bubalinocultura, são poucos os trabalhos relativos à sanidade de búfalos, e os referentes ao estudo das coccidioses restringem-se a citações em livros que

abordam a criação de búfalos como um todo.

Para atender à demanda sobre esse problema que afeta criadores e técnicos envolvidos com a bubalinocultura, foi desenhado um modelo experimental para o estudo da infecção natural por *Eimerias* sp. em bezerros bubalinos, no tocante à eficácia de tratamentos para essa doença.

Foram realizadas a análise epidemiológica do desenvolvimento da infecção e doença em animais expostos à infecção natural por *Eimeria* sp., a avaliação das possíveis fontes de infecção em animais, a análise das condições ambientais e de manejo relevantes para o estabelecimento da doença no rebanho, correspondentes ao estudo das alterações clínicas e patológicas nos animais infectados, não medicados, e também nos animais infectados e medicados com diferentes drogas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos Gerais

O búfalo é uma espécie animal originária do continente Asiático, com localização geográfica entre os paralelos 2° Sul e 31° Norte e da linha equatorial, abrangendo zonas Tropical e Temperada (Zicarelli, 2001). Por consequência de sua origem, os búfalos se adaptam bem a todas as condições climáticas e geológicas típicas dessas regiões.

A carne de búfalo possui características nutricionais ímpares, como os teores de proteína de alto valor biológico, presença de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais e pelos aspectos sensoriais desejáveis (Oliveira, 2005).

Amaral et al. (2005) estudaram a composição do leite da búfala em rebanhos da região do Alto Paranaíba, Minas Gerais e demonstraram a superioridade da quantidade de sólidos totais do leite da búfala em relação ao leite da vaca. Por consequência da maior concentração de sólidos totais no leite da búfala, o seu rendimento industrial, em derivados lácteos, é maior em relação ao leite da espécie bovina, o que permite a indústria pagar mais pelo leite da búfala (Teixeira et al., 2005).

O búfalo é considerado um animal de triplo propósito por estar adaptado à produção de leite, de carne e trabalho. Ranjhan (2007) considera o búfalo um animal de relevância sócioeconômica na Ásia, dada a sua inserção nos sistemas de produção de alimento em áreas pobres, garantindo segurança alimentar e estabilidade econômica.

A maioria dos búfalos é criada em área tropical, ambiente caracterizado por apresentar períodos secos e chuvosos bem delimitados. Nessas condições ambientais, os búfalos desenvolvem-se melhor que os bovinos em função da maior capacidade de aclimação, resistência às intempéries ambientais, adaptação em ambientes pantanosos e, principalmente, por possuir maior capacidade de digerir forragens com mais teor de fibra bruta. É importante fornecer aos búfalos condições ambientais semelhantes a aquelas em que essa espécie foi selecionada, com sombra e água em abundância, sendo necessária a presença de água e sombra em criatórios bubalinos, para permitir que o búfalo se desenvolva bem e expresse seu potencial produtivo.

A temperatura ambiental e a incidência direta da radiação solar influenciam na capacidade de ingestão e digestão de alimentos através de alterações no metabolismo ruminal. A inibição da motilidade ruminal causa um aumento do pH ruminal, dos ácidos graxos voláteis totais, a diminuição da concentração de amônia e da quantidade de proteína microbiana. Zicarelli et al. (2001) demonstraram a variação nos índices reprodutivos de dois grupos de búfalos, com e sem acesso à água para banho, criados no mesmo ambiente, onde o grupo que tinha acesso à água apresentou um percentual de prenhes 16,8% maior e um intervalo entre partos e concepção 36 dias menor em relação ao grupo que não tinha acesso à água. Nesse tipo de ambiente com altas umidade e temperatura, rico em oxigênio, os oocistos de *Eimeria* esporulam e se tornam infectantes no período de 1 a 15 dias (Levine; Ivens, 1973).

Apesar da reconhecida relevância da bubalinocultura na produção de alimento para a população humana, fazem-se necessários o estudo e o desenvolvimento de tecnologia de produção corretos para a espécie bubalina. Atualmente, grande parte das técnicas utilizadas para a produção nos rebanhos bubalinos deriva de experiências desenvolvidas para a espécie bovina sem a correta adaptação para os bubalinos. Existem ainda lacunas no conhecimento que limitam a produtividade dos búfalos nos mais diversos ambientes onde ele se encontra, de forma que são poucas as situações em que eles podem manifestar seu potencial produtivo e atender de forma ampla ao objetivo do produtor.

## **2.2 Digestão e absorção de alimento no intestino delgado**

A digestão é o processo de quebra de nutrientes complexos que compõem os alimentos após sua ingestão em moléculas simples. A absorção é o processo de transporte das moléculas simples através do epitélio intestinal. Os dois processos resultam de diferentes eventos bioquímicos que ocorrem no interior do trato gastrointestinal. O intestino delgado é onde ocorrem os processos finais da digestão, a secreção de enzimas digestivas e muco e, também, a absorção dos nutrientes por diversas vias. O processo de renovação da mucosa intestinal acontece com grande rapidez e se dá pela intensa atividade mitótica das células da porção basal das glândulas que inicialmente são bastante indiferenciadas e se especializam durante o movimento de migração em direção à extremidade do vilão. No intestino a absorção de nutrientes; ocorre através de processos fisiológicos complexos como a difusão por meio da membrana, a diferença na composição do líquido intra e extracelular, a polaridade elétrica por meio das membranas celulares, a função das bombas de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> e dos canais iônicos seletivos (Herd, 2004).

As principais estruturas presentes no intestino delgado (ID) que podem perder sua função nos processos infecciosos por *Eimerias sp.* são as glândulas intestinais ou

de Lieberkuhn, as células “M”, que permitem o contato de antígenos da luz do íleo com linfócitos que migram para os nódulos linfáticos e linfonodos e, também, as células especializadas, produtoras de hormônios polipeptídeos, secretoras de enzimas, necessárias para o bom funcionamento do processo digestivo, como a secretina e colecistoquinina (Junqueira, 1995).

O termo diarreia refere-se a um aumento do volume de água decorrente de quantidade de água ingerida e aquela secretada pelo intestino. O processo diarréico pode ocorrer pela má absorção, o processo

de absorção é insuficiente para recuperar quantidade necessária de água secretada e ocorre por consequência de perdas epiteliais do trato gastrointestinal que podem decorrer de infecções virais, bacterianas ou por protozoários. No processo de diarreia secretora, o volume de secreção aumenta e supera a capacidade absorptiva, tendo nesse caso a presença de enterotoxinas produzidas por alguns tipos de bactérias, que alteram o mecanismo secretor normal na cripta das vilosidades. A absorção acoplada de sódio e cloreto, a troca de cloreto e bicarbonato e a absorção de potássio e bicarbonato, acontecem, principalmente, na região ílica e cólon do trato gastrointestinal (Herdt, 2004), locais de maior concentração dos protozoários do gênero *Eimeria* quando parasitam ruminantes (Levine; Ives, 1973).

A capacidade de absorção de imunoglobulinas pelo tecido gastrointestinal de bezerros búfalos é menor em relação ao observado em bovinos, sendo de até 5 horas após o nascimento e 3,5 horas após a ingestão do colostro. Essa menor proteção passiva, adquirida por meio da ingestão do colostro que ocorre nos bezerros bubalinos, pode ser a causa da maior incidência de infecção nos búfalos recém-nascidos em relação a bovinos de mesma idade (Parveen; Ahuja, 1998). O trato gastrointestinal do búfalo mede 40 metros e o tempo total necessário para a passagem do alimento varia de 4 a 5 dias e o tempo para a passagem do abomaso ao ânus é de 26 a 35 horas (Ranjhan, 1992).

## 2.3 Coccídios

Dentre os processos infecciosos conhecidos que acometem os bubalinos, as parasitoses destacam-se como grupo de doenças responsáveis pela maior taxa de mortalidade de animais. São poucas as informações sanitárias disponíveis para a espécie em discussão e, dentre elas, são poucos os estudos que abordam objetivamente o problema decorrente das parasitoses que afetam os búfalos. Dos estudos já realizados, verifica-se que as principais doenças parasitárias que acometem os búfalos são a ascaridiose, paracooperiose e coccidiose (Bhatia, 1992). Biswal (1948) classificou a coccidiose como a segunda doença mais importante em bubalinos. Kpahra e Singh (1986) afirmam que as coccidioses são responsáveis por altas taxas de mortalidade em bezerros dessa espécie.

Dos coccídios parasitas do trato gastrointestinal de ruminantes, destacam-se os gêneros *Eimeria* sp. (Schneider, 1875) (Apicomplexa: Eimeriidae) e *Cryptosporidium* sp. (Tyzzer, 1907) (Apicomplexa: Cryptosporididae).

A partir da década de 1970, o *Cryptosporidium* sp. vem apresentando destaque crescente como agente etiológico de infecções envolvendo, principalmente, os sistemas digestório e respiratório de várias espécies. Em um estudo realizado por Feitosa e colaboradores (2008), com o objetivo de avaliar a importância de *Cryptosporidium* sp. nos processos diarréicos em bezerros da espécie bovina, foi encontrado que a excreção de oocistos de *Cryptosporidium* sp. em fezes ocorreu até o 18º dia de idade com maior incidência (72,7%) nos animais com sete dias de idade.

Na Itália, Cacciò et al. (2007) demonstraram a presença de *C. parvum* em episódios de diarreia em búfalos com idade inferior a 15 dias de idade, representando bezerros de 64,3% com base nas propriedades estudadas.

Apesar de existirem relatos do diagnóstico de *Cryptosporidium* sp. nas fezes de bubalinos, os coccídios do gênero *Eimeria* são responsabilizados com maior frequência pelos quadros de enterite parasitária que ocorrem em bezerros bubalinos com idade inferior a oito semanas (BATHIA, 1992; DUBEY, 2008).

O parasito do gênero *Eimeria* pertence ao Filo Apicomplexa (Levine; Ives, 1973), Classe Esporozoasida (Leukart, 1879), Subclasse Coccidiasina (Leukart, 1879), Ordem Eucoccidiorida (Léger; Doboscq, 1910), Subordem Eimeriorina (Léger, 1911), Família Eimeriidae (MINCHIN, 1903), Gênero *Eimeria* (Schneider, 1881). Mais de 900 espécies desse protozoário podem ser encontradas parasitando répteis, anfíbios, pássaros e mamíferos. Existe uma especificidade parasitária entre esse parasito e o hospedeiro. Um indivíduo pode estar parasitado por mais de uma espécie de *Eimeria* sp., mas, raramente, uma espécie de *Eimeria* sp. parasita mais de uma espécie animal. A infecção por uma espécie de *Eimeria*, em hospedeiros de famílias diferentes, nunca acontece (Kogut, 1993).

Os animais domésticos podem apresentar mais de uma espécie de *Eimeria* sp. Das várias espécies de *Eimeria* sp. que podem ser diagnosticadas, a patogenicidade varia dentre elas, podendo ser de alta, média ou nula para uma determinada espécie animal. A maioria das espécies é extremamente específica e completa seu ciclo em um único hospedeiro, como a *E. bareillyi* em búfalos (Bhatia, 1992).

Vários estudos foram desenvolvidos com o objetivo de compreender a incapacidade de determinadas espécies de *Eimeria* estabelecerem infecção em indivíduos de espécie animal diferente. Considerando que os fatores imunológicos, genéticos e nutricionais estão envolvidos nesse processo, a pesquisa dos determinantes para a especificidade da infecção estimula o desenvolvimento de novos estudos. É necessário que sejam criadas alternativas de controle da eimeriose diferentes das utilizadas atualmente. As espécies do

gênero *Eimeria* apresentam também especificidade pelo tipo celular, tecido e órgão (Fernando, 1993).

#### **2.4 Infecção dos animais por *Eimeria* sp.**

Para o estabelecimento de uma grave infecção por *Eimeria* sp., é necessário que ocorra a ingestão de oocistos infectantes de uma espécie de *Eimeria* adaptada e patogênica para a espécie animal infectada (Gregory, 1993).

O processo que torna o oocisto infectante é chamado de esporulação. A esporulação ocorre em ambiente aeróbio através da formação dos esporocistos e esporozoítos, no interior dos oocistos, a partir dos esporontes. Essas células se dividem para formar quatro esporoblastos que darão origem ao esporocisto. Dois esporozoítos se desenvolvem de cada esporocisto. Em condições aeróbicas e de temperatura ideal (20 a 30°C), esse processo ocorre em 1 a 6 dias. A etapa do ciclo da *Eimeria* que sucede dentro do hospedeiro, pode concluir-se de 10 a 25 dias e seu ciclo completo de 20 a 30 dias (Levine; Ives, 1973).

Após a ingestão do oocisto infectante, acontece a ruptura da parede do oocisto e a liberação dos esporocistos no trato gastrintestinal. No intestino delgado ocorre a ativação e a liberação dos esporozoítos mediante estímulos ocorridos no estômago, por ação da tripsina e, no duodeno, por ação dos sais biliares. A presença de inibidores da ação da tripsina no colostro (Fabgliari, 2006) pode interferir na infecção de bezerros recém-nascidos após a ingestão de oocistos infectantes de *Eimeria* sp., por impedirem a ação da tripsina na ruptura das membranas do oocisto de *Eimeria*.

Os esporozoítos penetram na célula intestinal passando pela borda estriada, migram até a lâmina própria onde são englobados por macrófagos e transportados por eles até as glândulas de Lieberkuhn. Após chegarem à glândula, os esporozoítos deixam os macrófagos e penetram nas células epiteliais do intestino. Dentro da

célula epitelial glandular, cada esporozoíto desenvolve um esquizonte de primeira geração por meio da multiplicação assexuada, chamada de esquizogonia, dando origem a milhares de merozoítos de primeira geração. Os merozoítos de primeira geração rompem a célula parasitada e entram em nova célula do hospedeiro iniciando novo processo de esquizogonia para a produção de merozoítos de segunda geração, em quantidade menor em relação ao número de merozoítos de primeira geração produzidos.

Após a última esquizogonia, o merozoíto de segunda ou terceira geração penetra em uma nova célula iniciando a fase sexuada do ciclo, chamada de gametogonia. Alguns merozoítos dão origem a gametas femininos (macrogameta) e outros a gametas masculinos (microgametócito).

Em cada microgametócito são produzidos microgametas biflagelados que evadem do microgametócito e fertilizam o macrogameta. O zigoto é resultante da fusão do microgametócito com o macrogameta. O zigoto é envolvido por uma membrana cística formada a partir dos grânulos eosinofílicos, dando origem ao oocisto jovem, que rompe a célula e deixa o organismo animal através das fezes. Os oocistos são produzidos e eliminados durante um determinado período, em função da não penetração de todos os esporozoítos, simultaneamente, no organismo animal. Quando não ocorre uma nova infecção, essa doença é autolimitante, pois o processo de multiplicação assexuada não ocorre de forma ininterrupta. (Levine; Ives, 1973). Após esse período, a célula parasitada rompe-se, liberando o oocisto imaturo na luz intestinal, que sai nas fezes, na forma de oocisto imaturo. O período pré-patente (PPP) varia de 2 a 3 semanas.

Parasitas do gênero *Eimeria* apresentam uma estrutura típica. Cada oocisto é composto de quatro esporocistos, cada qual com dois esporozoítos. Estruturas compostas por resto de material utilizado na formação dos esporocistos e esporozoítos, chamadas grânulo polar e resíduo, não podem ser observadas no oocisto e no

esporocisto. O esporocisto tem formato oval e pode apresentar uma estrutura na porção terminal chamada de corpo de Stieda. O esporozoíto apresenta forma semelhante a uma salsicha (Levine; Ivens, 1973).

## 2.5 Eimeriose em búfalos

Não se conhecem suficientemente os efeitos parasitários desses protozoários na bubalinocultura brasileira. Os sistemas de criação aqui implantados incluem aspectos ambientais e infraestrutura de manejo favorável aos parasitos. Esses sistemas, por suas características, criam condições propícias para o desenvolvimento e a perpetuação das espécies de *Eimerias*, já identificadas nos bubalinos do país, pois são constituídos de ambientes úmidos e ricos em matéria orgânica, favoráveis às formas de vida livre dos parasitos nos locais de permanência dos animais. Em decorrência desses fatores, tem sido observada em diversos criatórios a morte de animais jovens, causada por infecções agudas por *Eimerias*, adquiridas logo após o nascimento ou nos primeiros dias de vida.

O final do período chuvoso e invernal são as épocas mais favoráveis para a infecção dos animais por coccídios (Bathia, 1992). Magdoub et al. (1999) demonstraram a influência das condições climáticas na prevalência de infecções por helmintos, *Fasciola gigantica* e *Eimeria* sp. em búfalos. Foi encontrada uma alta correlação entre a época do ano e infecção nos animais, quando estes apresentavam maiores taxas de infecção no verão. A búfala encontra condições favoráveis para manifestar suas atividades reprodutivas durante os meses de outono e início do inverno, o que determina uma concentração de parto nos meses de fevereiro e março, na região sudeste do Brasil (Baruselli, 2005). Por consequência dessa característica reprodutiva, tem-se o nascimento dos bezerros na época de maior facilidade para a transmissão de *Eimeria* sp. do ambiente para os animais (Bathia, 1992; Magdoub, et al. 1999). Em função da alta demanda de derivados lácteos do leite de búfala nos meses de novembro, dezembro e janeiro e a acentuada redução na oferta por



consequência da estacionalidade reprodutiva (Baruselli, 2005), é uma prática comum manter o bezerros com idade superior à de desmama no curral. A presença de animais mais velhos, portadores de *Eimeria* no curral de manejo dos bezerros, facilita a manutenção do ambiente contaminado.

Agrawal e Singh (2006) pesquisaram a viabilidade de oocistos de *Eimeria* que parasitam búfalos em diferentes condições físicas e químicas. Comprovaram a dificuldade para higienização ambiental com o propósito de eliminar oocistos de *Eimeria* sp. presentes, ao certificarem a eficácia para a desinfecção ambiental através da limpeza, com água a 100° Celsius, com solução de Fenol em concentração de 1% ou 2%, por um período mínimo de contato dos oocistos com a solução de 15 minutos ou em concentração de 0,5%, durante um período mínimo de contato de uma hora. A Formalina, em concentração de até 5%, não apresentou eficácia para a inativação dos oocistos de *Eimeria* sp. As espécies *Eimeria alabamensis*, *E. alburnensis*, *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. brasiliensis*, *E. bukidonensis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis* e *E. zurnii* foram descritas em bubalinos. Dentre as espécies de *Eimeria* que acometem búfalos e bovinos, duas são particularmente mais patogênicas: *E. bovis* e *E. zuernii* (Ferreira et al., 2002). Com exceção da *Eimeria bareillyi*, todas as outras espécies são comuns em bovinos e bubalinos (Bhatia, 1992). A tentativa de infecção experimental com *E. bareillyi*, em bovinos, falhou (Sanyal, 1985).

A *E. bareillyi* (Gill et al., 1963) é um parasito exclusivo de bubalinos com aparente alta patogenicidade e ciclo de desenvolvimento rápido, dada a precocidade de seu diagnóstico nas fezes dos animais. Apresenta morfologia piriforme típica, dimensões do oocisto 26-35 x 19-25  $\mu$ , dimensões do esporocisto 18 x 8  $\mu$ , micrópila bastante evidente, corpo de Stieda e resíduo. (Figura 3) (Bastianetto et al., 2008). O período pré-patente da *E. bareillyi* é de 14 a 15 dias (Sanyal et al., 1985).

Cabral (1987) (dados não publicados) diagnosticou as espécies *E. auburnensis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis* e *E. zurnii* em bubalinos. As espécies *E. ellipsoidalis*, *E. zuernii* e *E. wyomingensis* foram as mais frequentes, sendo diagnosticadas durante todo o ano. A *E. ellipsoidalis*, que predominou quanto à infecção coccídia em cinco meses do estudo, permaneceu com altos índices nos meses de janeiro e fevereiro. *E. zurnii* foi a espécie mais predominante durante quatro meses do ano e a *E. wyomingensis* não predominou em nenhuma ocasião. As espécies *E. canadensis* e *E. subspherica* não foram encontradas no período de setembro a dezembro. A espécie *E. subspherica* demonstrou índice de frequência mais alto no mês de março e esses índices apresentaram flutuações nos meses restantes. As faixas etárias com maior prevalência de *Eimeria* foram de 4–6 meses e 10-12 meses.

Rebouças et al. (1990) descreveram a prevalência de infecção por *Eimeria* sp. igual a 36,4% em bezerros com idade entre o 15° dia de vida e os 12 meses. Foram identificadas oito espécies de *Eimeria* parasitando os animais, *E. zuernii*, *E. bovis*, *E. ellipsoidalis*, *E. cylindrica*, *E. subspherica*, *E. canadensis*, *E. auburnensis* e *E. bukidonensis*, sendo as espécies *E. zuernii* (10%) e *E. bovis* (8,3%) as que apresentaram maior prevalência em relação às demais.

Cringoli et al. (1995) encontraram prevalência de *Eimeria* de 100% nos animais da propriedade que eram criados em estábulos; 70,5%, quando os animais eram criados em estábulos abertos com acesso à área externa e 53,3%, quando os animais eram criados em estábulos abertos com acesso ao pasto. Em todos os sistemas de criação, foram observadas as seguintes prevalências para cada categoria animal: bezerros (53,3%), novilhos (as) (15,6%) e adultos (11,5%). No ano de 1996, Cringoli et al. (1996) examinaram 1.184 amostras de fezes de búfalos de várias idades pertencentes a 130 rebanhos na Itália, quando encontraram 86,1 % das

propriedades positivas com maior frequência para as espécies *E. bareillyi*, *E. zuernii*, *E. bovis*, *E. auburnensis*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspsherica* e *E. pellita*.

Ribeiro et al. (2000) encontraram uma prevalência de 100% de *Eimeria* parasitando búfalos com idade entre 3 e 45 dias de vida criados no Vale do Ribeira, São Paulo. Foi diagnosticada a maior incidência de *Eimeria* em animais com 3 semanas de idade. A prevalência da eimeriose é influenciada pelas condições climáticas e qualidade das técnicas de manejo utilizadas na propriedade (Bhatia, 1992).

Noronha (2009) avaliou o parasitismo por *Eimeria* sp. em bezerros bubalinos criados a pasto no estado do Mato Grosso.

Os primeiros oocistos de *Eimeria* sp. foram diagnosticados em fezes de bezerros com idade do 6º ao 29º dia de vida, e a concentração da eliminação de oocistos ocorreu no período compreendido entre o 188º ao 292º dias. As espécies mais prevalentes foram a *E. cylindrica* e *E. ellipsoidalis*, diagnosticadas até o 133º dia nos animais. A infecção dos bezerros ocorreu com maior frequência nas estações chuvosas dos meses de setembro e janeiro.

Durante estudo para o diagnóstico de ovos de helmintos nas fezes de bezerros búfalo da raça Jafarabadi, Bastianetto (2006) (dados não publicados) diagnosticou oocistos de *Eimeria* sp. a partir do oitavo dia de vida, com maior concentração de oocistos, no segundo mês de vida. Não foi diagnosticada a presença de oocistos de *Eimeria* sp. em animais com idade superior aos 160 dias. Relata, ainda, dois episódios de mortalidade de cinco e treze búfalos jovens em uma mesma propriedade, ocorridos, respectivamente, na primavera de 2004 e 2005.

Nalbantoglu et al. (2008) diagnosticaram na Turquia um alto percentual (75% n = 104) de bezerros bubalinos parasitados pelas espécies *E. ankarensis*, *E. bareillyi*, *E. zuernii*, *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. alabamensis*, *E. cylindrica*, *E. canadensis*,

*E. brasiliensis*. Foi descrito também o diagnóstico de *Isospora* spp. em 46,2 % das amostras de fezes coletadas.

Dubey et al. (2008) descrevem um episódio de mortalidade de bezerros, com três semanas de idade, criados nos Países Baixos, os quais vieram a óbito 1 ou 2 dias, após o diagnóstico de diarreia pelo proprietário, onde foi comprovada a causa mortis por infecção pela *E. baireillyi*.

A infecção de bezerros búfalos por *Eimeria* sp. é também responsável pela alteração no equilíbrio de elementos minerais reconhecidamente importantes para o desenvolvimento saudável dos animais, como o Zn, Cu, Fe e Se. Os bezerros parasitados apresentam uma grande concentração de radicais livres e depleção do sistema antioxidante, o que causa destruição de tecidos saudáveis, estresse e aumento da incidência de doenças concomitantes como as helmintoses (Ahmed, 2007).

Bastianetto et al. (2009) comprovaram que animais infectados por *Eimeria* sp. apresentam menores teores séricos de potássio em relação a animais não infectados. A perda de potássio normalmente está associada às lesões gastrintestinais e causa redução do líquido intracelular, altera o potencial de membrana e interferem na ação de enzimas intracelulares, dependentes de potássio, como as sintetase, oxiredutase, dehydrogenase, transferase e kinases.

## **2.6 Resposta imunológica contra coccídios**

As infecções parasitárias apresentam -se de forma crônica em função também da fraca resposta imune, inata contra esse tipo de microorganismo e da capacidade que os parasitos apresentam de evadir-se da resposta imune específica que atua sobre eles. Parasitos de vertebrados apresentam a capacidade de evadir-se da ação do sistema de complemento. Os protozoários

desenvolvem-se no interior das células do hospedeiro parasitado; no caso das *Eimerias* as vilosidades intestinais e o tipo de resposta imune mais adequada envolvem a ativação de citocinas derivadas das células T CD4+. Respostas imunes, específicas a parasitos, podem causar injúrias permanentes ao tecido lesado do hospedeiro em função da formação de fibrose, em substituição ao tecido original (Scott, 2002).

São poucos os trabalhos que avaliaram o desenvolvimento da resposta imunológica dos búfalos à infecção pelas várias espécies de *Eimeria* que parasitam búfalos. Com exceção da *E. bareillyi*, as demais espécies parasitas de búfalos parasitam também bovinos, fato determinante para que fossem utilizados os conhecimentos desenvolvidos sobre a infecção por *Eimeria sp.* na espécie bovina, como ferramenta de interpretação, análise e discussão dos resultados encontrados neste trabalho.

Após uma primo-infecção por *Eimeria sp.*, os animais podem estar protegidos e não apresentar manifestações clínicas da doença nas reinfecções. A intensidade da resposta imune desenvolvida depende da dose infectante inicial a que o indivíduo foi exposto, sendo necessário um contato com uma considerável quantidade de oocistos infectantes. A manutenção do status imune contra as diversas espécies de *Eimeria* está correlacionada com uma constante exposição dos animais ao agente (Dauguschies, 2005).

Sanyal et al.(1985) descreveram a reação de hipersensibilidade à inoculação intradérmica de antígeno de *E. bareillyi* e a inibição da migração de leucócitos nos dias 21 e 28 pós-infecção, comprovando a participação da resposta imune celular, também, na infecção por *Eimeria sp.* em búfalos.

Em bovinos, para a *E. bovis*, a ingestão de 50.000 a 100.000 oocistos infectantes induz o desenvolvimento de uma resposta imune ideal para o controle da reinfecção. A imunidade desenvolve-se rapidamente estando os animais protegidos após 14 dias

da imunização, persistindo em grau moderado por dois a três meses em bezerros jovens. A resposta imune desenvolve-se na mucosa do intestino delgado e grosso, sendo mais importante no grosso; a reação imunológica reduz o número, mas não o intervalo dos vários estágios de desenvolvimento do ciclo. A administração de 110 oocistos infectantes diariamente, durante 11 dias, causa uma doença de grau leve e estimula o desenvolvimento de resposta imune a desafios maiores e a produção de anticorpos específicos que podem ser inicialmente detectados no soro sanguíneo do 7º ao 17º dia, pós-infecção (PI), permanecendo por vários meses (Levine; Ives, 1973).

Após a penetração dos esporozoítos na célula intestinal, esses entram em contato com líquidos intersticiais, expondo-se aos mecanismos de defesa do organismo animal, que, para o controle da infecção, utilizam células especializadas para realizar a fagocitose de agentes reconhecidos como estranhos pelo organismo, como os macrófagos e células dendríticas. A ação do PMN é o principal mecanismo de defesa, a partir do qual inicialmente é realizada a liberação de radicais oxidativos e produção de citocinas. As citocinas são moléculas específicas que atraem células ao local da infecção dando início à resposta adquirida. (Behrendt et al., 2008).

Nas infecções por *E. bovis* em bovinos, após a sinalização das PMN, mediante reconhecimento da infecção, ocorre a produção de imunomediadores para a ativação de macrófagos. A observação do acúmulo adicional de macrófagos no tecido intestinal de bezerros, desafiados experimentalmente, através da infecção artificial por *Eimeria*, concomitantemente com opsonização de esporozoíto, enfatiza a importância dos macrófagos no processo infeccioso (Taubert, et al. 2009). Em relação ao monócito, animais parasitados por *E. bovis* apresentam um crescimento da participação desse tipo celular na defesa do organismo com incremento da atividade fagocítica e oxidativa nos momentos em que a *E. bovis* está nos estágios extracelulares

(Behrendt et al., 2008). Na reação contra infecção por *E. bovis*, o monócito produz interferon gama e fator de necrose tumoral (TNF) que atraem células natural killer (NK) e ativam resposta imune adaptativa (Taubert et al. 2009).

A presença de anticorpos (Ac) específicos contra coccídios reflete a presença de infecção no animal, mas não confere proteção. Na resposta humoral à infecção por *Eimeria*, as células NK produzem interferon gama que estimulam a produção de imunoglobulina tipo 2 (IgG2), sendo essa imunoglobulina o principal Ac detectado. Anticorpos de origem colostrar, particularmente subfrações de IgG1, IgG2 e IgGM, são transferidos aos bezerros e podem ser detectados no soro dos animais doentes (Dauguschies, 2005).

Para que ocorram o desenvolvimento e a manutenção de mecanismos específicos de imunidade adaptativa, é necessário um estímulo frequente do agente sobre o organismo animal. A rápida identificação dos epítomos pelas células B e T é necessária para a seleção de células T apropriadas que irão organizar a resposta imunológica (Scott, 2002).

## **2.7 Medicamentos com ação anticoccídia**

A demanda por medicamentos com ação coccidicidas e coccidiostáticas, em sistemas de produção de ruminantes, é crescente dada a necessidade do aumento da taxa de lotação (número de animais/ha) dentro do sistema produtivo.

A coccidiose bovina vem merecendo atenção principalmente após a década de 60, época em que foram introduzidas a terapia e prevenção a partir de drogas desenvolvidas para a avicultura (McDougald, 1988). Apesar da alta prevalência dessa doença em bubalinos, os conhecimentos sobre a profilaxia, por meio de medicamentos coccidiostáticos, e o tratamento terapêutico são limitados e desatualizados. A literatura recente consultada não descreve a posologia de

medicamentos com ação coccidicida para bubalinos.

São diversas e variadas as bases medicamentosas utilizadas no tratamento das coccidioses de aves, suínos e bovinos. Sanyal et al. (1985), avaliando a eficácia de sulfadimidina, amprólio, halofuginona e cloroquinona fosfato no controle de *E. bareillyi*, verificaram a maior eficácia de sulfadimidina e amprólio, eficácia média para halofuginona e a droga cloroquinona fosfato foi ineficiente no controle da infecção. De acordo com Rozza et al (2007), a monensina é tóxica para búfalos sendo sua menor dosagem única, capaz de causar a morte desses animais, igual a 5,0 mg/kg.

### **Amprólio**

O amprólio hidrocloreto é uma droga com estrutura análoga à tiamina (vitamina B1), que apresenta ação coccidiostática. Utiliza, como mecanismo de ação, a inibição por competição com a tiamina nos merontes de primeira geração, bloqueando a diferenciação das células germinativas em merozoíto. Pode também suprimir os estágios sexuais e inibir a esporulação do oocisto. Em bovinos, o amprólio pode ser utilizado via oral, durante cinco dias, na dosagem de 10mg/kg de peso corporal, para o tratamento da infecção por *E. bovis* e *E. zuernii* e de 5mg/kg de peso corporal para a profilaxia durante 21 dias (Plumb, 2005).

### **Sulfaquinoxalina**

A sulfaquinoxalina pertence ao grupo das sulfonamidas, que são substâncias derivadas do aminobenzenosulfonamida. É um análogo estrutural do ácido p-aminobenzoico (PABA), substância necessária para a síntese de ácido fólico que, em sua forma reduzida, ácido tetraidrofólico, é fundamental para a síntese do ácidos desoxirribunucleico (DNA) e ácidos ribunucleico (RNA) bacterianos. As sulfas atuam como um antimetabólito, pois inibem a formação de um metabólito necessário para a multiplicação bacteriana. As sulfas têm ação sobre os organismos

incapazes de utilizar diretamente o ácido fólico da dieta, como bactérias e protozoários. Sobre as bactérias, em dosagens terapêuticas, a sulfaquinoxalina atua como bacteriostática e, em dosagens maiores, tem ação bactericida (Górniak, 1996).

Estudos realizados em aves comprovaram o efeito máximo das sulfonamidas no segundo estágio de merogonia, apresentaram ação máxima no quarto dia pós-infecção e boa capacidade de controlar a infecção quando administradas até o 3º dia. Em aves, o fato de as sulfas apresentarem ação máxima sobre o meronte secundário, permite o desenvolvimento de resposta imune eficiente dado o estímulo imunológico que ocorre no momento da penetração do esporozoítio na célula epitelial, sua multiplicação e formação do meronte primário. Estudos realizados com bovinos comprovaram a maior eficiência quando administradas do 13º ao 17º dia de infecção (Roberson, 1977).

#### Toltrazuril

O toltrazuril atua sobre todos os estágios intracelulares de desenvolvimento da *Eimeria*, os quais incluem os merontes, microgametas e macrogametas, sem interferir no tecido celular do hospedeiro. O toltrazuril atua sobre a mitocôndria, organela celular responsável pelo metabolismo respiratório dos coccídios, podendo ser utilizado no tratamento do animal em fases avançadas da infecção. Harder (1989) sugere que o mecanismo de ação primário do toltrazuril ocorre sobre a respiração celular, mas atua também de forma secundária sobre duas enzimas envolvidas na síntese de pirimidina.

Mundt (2003) comprovou a eficiência da ação preventiva do toltrazuril (15 mg/kg PC via oral) para o controle de *Eimeria bovis*, através de infecção experimental em bezerro bovino.

O tratamento preventivo e terapêutico da coccidiose com toltrazuril, em bezerros a pasto, é eficiente e apresenta alta segurança para os animais em tratamento

metafilático ou terapêutico da coccidiose por *E. alabamensis*. Os animais tratados apresentam um ganho de peso superior aos animais do grupo testemunha, não tratado, e os animais submetidos ao tratamento preventivo apresentaram um ganho de peso superior àqueles submetidos ao tratamento terapêutico Epe et al. (2005).

#### Decoquinato

O decoquinato (ethyl 6-decyloxy-7-ethoxy+hydroxyqui-noline-3-carboxylate) é um medicamento coccidiostático que interfere no transporte de elétrons do sistema citocromo mitocondrial sobre o esporozoítio. Interfere no desenvolvimento do esporozoítio após a entrada na célula intestinal do hospedeiro (Plumb, 2005). Em aves, Williams (1997) demonstrou a ação coccidiostática sobre esporozoítos e merozoítos e efeito coccidicida sobre o esquizonte primário. O decoquinato é uma droga com alta margem de segurança, podendo ser administrado nas dosagens de 6,25 mg/kg PC por quatro meses, 20 mg/kg PC, em dose única, ou 10 mg/kg PC durante cinco dias de acordo com Ferreira (2002). Segundo Plumb (2005), a dosagem profilática com decoquinato é de 0,5 mg/kg PC por período mínimo de 28 dias. Aparentemente não existe possibilidade de seleção de espécies de *Eimeria sp.* resistentes ao decoquinato.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

- Analisar a influência das práticas de manejo em um rebanho de búfalo para a produção de leite na infecção de bezerros por *Eimeria sp.* e avaliar a eficácia de tratamentos metafiláticos.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a dinâmica populacional da infecção por *Eimeria sp.* em bezerros búfalos do nascimento até o quarto mês de vida.
- Identificar as espécies de *Eimeria sp.* presentes na infecção.
- Avaliar a eficiência do tratamento metafilático, utilizando sulfaquinoxalina sódica, amprólio e toltrazuril, em bezerros bubalinos infectados por *Eimeria sp.*
- Analisar o efeito residual dos tratamentos sobre a intensidade de retorno da doença nos animais.
- Estudar a eficácia e segurança do decoquinato para o controle da eimeriose e também para o incremento no ganho de peso de búfalos tratados no momento da desmama.

### 4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1 Localização

O estudo foi realizado em uma propriedade em Morro do Ferro, distrito da cidade de Oliveira, localizada na região do Campo das Vertentes do Estado de Minas Gerais, distante 185 km de Belo Horizonte (Latitude 20°47'38.16" S – Longitude 44°34'26.30" O).

#### 4.2 Descrição do manejo dos animais

Com o objetivo de contextualizar as condições de manejo dos bezerros na propriedade com os resultados encontrados, serão apresentados abaixo detalhes do

sistema de produção considerados relevantes para o estabelecimento da infecção, conforme as peculiaridades da espécie bubalina, associadas às condições ambientais já apresentadas na revisão de literatura.

A propriedade pertence a um grupo tradicionalmente produtor de leite de vaca e de seus derivados que migrou para a produção e industrialização do leite de búfala. O processo de mudança do sistema de produção de leite da espécie bovina para a bubalina ocorreu gradualmente, e as tradicionais práticas de manejo, adotadas com os bovinos da raça holandesa, foram também utilizadas com os bubalinos. Com o aumento do número de animais da espécie bubalina, começaram a ser identificados na propriedade "problemas" ainda não vistos nessa espécie. Dentre eles, destacou-se o aumento do número de bezerros jovens que, poucos dias após o nascimento, apresentavam fraqueza e diarreia que eventualmente evoluíam para óbito.

No ano de 2003 foi levantada a hipótese de a eimeriose estar envolvida nos quadros clínicos de diarreia, observados nos bezerros, após o diagnóstico de 1.500.000 oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes, através de exame de OOPG, realizado no laboratório de endoectoparasitoses da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais. Após ser apresentado o resultado aos proprietários, eles manifestaram interesse em resolver o problema, e, para isso, disponibilizaram a estrutura necessária para estudo da doença.

Durante o estudo, foi visto que, após o nascimento, os bezerros permaneciam com suas mães no pasto por doze horas e depois eram levados ao curral. Posteriormente, os bezerros acompanhavam suas mães a um pasto, localizado próximo ao curral, onde permaneciam até o segundo dia de vida. Após esse período, os bezerros permaneciam durante a noite e o intervalo entre as ordenhas, em um bezerreiro anexo ao curral, localizado acima da sala de ordenha, com piso pavimentado por pedra

de superfície irregular e declividade superior próxima a 30°. O espaço total do bezerreiro era dividido em duas partes com área de 36,37m<sup>2</sup> e 53,17m<sup>2</sup>, separadas por uma cerca de madeira e um cocho de água, que servia aos dois espaços. Posteriormente à ordenha das búfalas, os bezerros seguiam para uma área situada à frente do curral onde ingeriam o leite residual, eram apartados e conduzidos novamente ao bezerreiro.

No ano de 2007 as búfalas eram ordenhadas manualmente; a primeira ordenha tinha início às 05h30min e a segunda às 14h00min. A limpeza dos tetos, realizada eventualmente após uma primeira mamada dos bezerros.

No ano de 2008 foi instalado sistema para a ordenha mecânica das búfalas; a primeira ordenha tinha início às 08h00min e a segunda às 14h00min. Para facilitar a retirada de sujeira do úbere e teto das búfalas, foi criado um sistema de banho em uma piscina tipo corredor com volume de água suficiente para a imersão de todo o aparato mamário. Após passarem pela piscina, as búfalas permaneciam em uma sala pré-ordenha durante tempo suficiente para a secagem. A água dessa piscina tinha origem em um poço raso e era trocada diariamente.

Durante todo o período em que o trabalho foi realizado, as búfalas recebiam suplementação alimentar em cocheiras anexas ao curral, localizadas abaixo da sala de ordenha e próximas ao bezerreiro. O piso onde ficavam as cocheiras era de calçamento de granito, irregular e de difícil limpeza, o que favorecia a contaminação dos tetos com resíduo de esterco. As búfalas tinham acesso a uma área sombreada onde passa um córrego e, nos horários mais quentes, elas permaneciam deitadas para ruminar com maior conforto térmico, o que também facilitava a contaminação dos tetos.

#### 4.3 Dados meteorológicos

Os dados meteorológicos referentes à estação meteorológica de Oliveira/MG

(Latitude 20°41'S – Longitude 44°49'O) foram obtidos junto ao INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). Foram disponibilizados os dados da temperatura diária máxima e mínima e a pluviosidade média, diária, no período de 01/01/2007 a 31/11/2008.

No período de realização da etapa 1, a temperatura média máxima foi de 28,6°C e a média mínima de 18,2°C, a pluviosidade média foi de 4,0 milímetros (mm) por dia, com volume total acumulado de 416 mm. No período em que foi realizada a etapa 2, a temperatura média máxima foi de 25,0°C e a média mínima de 12,6°C, a pluviosidade média foi de 0,2 mm por dia com volume total acumulado de 25,49 mm. A temperatura média máxima foi de 25,5°C e a média mínima de 16,9°C; a pluviosidade média foi de 5,8 mm por dia com volume total acumulado de 110,67 mm na etapa 3.

#### 4.4 Testes experimentais

A fase experimental foi realizada em três etapas com os propósitos de:

Etapa 1 - acompanhar a evolução da eimeriose em animais naturalmente expostos e infectados por oocistos de *Eimeria* sp., identificar as espécies presentes e as manifestações clínicas dos animais afetados.

Etapa 2 - avaliar a eficácia do tratamento metafilático dos animais por meio da análise da redução do número de oocistos de *Eimeria* sp., presentes nas fezes, da identificação das espécies de *Eimeria* sp. diagnosticadas antes e após os tratamentos e do estudo das manifestações clínicas dos animais.

Etapa 3 - avaliar a eficácia da inclusão de decoquinato na dieta dos animais para a redução da infecção por *Eimeria* sp. e seu impacto no incremento do peso vivo dos animais.

A etapa 1 foi realizada no período de 16 de janeiro de 2007 a 30 de abril do mesmo ano. As etapas 2 e 3 foram realizadas no ano de 2008, respectivamente, nos períodos de 05 de maio a 04 de setembro e de 11 de novembro a 23 de dezembro.

#### 4.5 Exames coprológicos

As contagens do número de oocistos por grama de fezes (OOPG), nas amostras de fezes coletadas em todas as etapas experimentais, foram realizadas utilizando a técnica de Gordon e Whitlock (1939), modificada por Whitlock (1948) e descrita por Ueno e Gonçalves (1998) em amostras individuais de fezes, coletadas diretamente da ampola retal dos animais.

Para a observação das características e contagem dos oocistos foi utilizado um microscópio ótico marca OLYMPUS CBB com lente ocular e objetiva de 10 aumentos para o exame de contagem de oocistos em Câmara McMaster.

No momento da coleta de fezes, foram anotadas em ficha própria as observações relativas à consistência fecal, onde essas foram classificadas em aquosa, mole, mole com a presença de muco e mole com a presença de sangue. A consistência das fezes foi analisada confrontando-se a curva de eliminação de oocistos nas fezes e as espécies presentes no momento da observação.

#### 4.6 Identificação das espécies de *Eimeria* sp.

Para a identificação das espécies de *Eimeria*, envolvidas em cada episódio, foram formadas amostras a partir de um pool de fezes positivas de animais com idade próxima e não superior a 5 dias; entre eles, a etapa 1 e a etapa 2, com amostras individuais. Solução de Bicromato de Sódio a 2,5% foi adicionada às amostras para constituir uma solução objetivando a esporulação dos oocistos das espécies de *Eimerias* presentes em placa de Petri à temperatura ambiente, por 2 semanas. As espécies de *Eimeria* foram identificadas

através da análise das características morfológicas, com o auxílio das medidas dos oocistos, esporocistos e esporozoítos após esporulação, de acordo com chave descrita por Levine e Ivens (1973), utilizando microscópio OLYMPUS CBB com objetiva de imersão a óleo de 100 X e ocular de 10 X. As medidas das estruturas avaliadas foram tomadas utilizando-se conjunto próprio para esse fim, composto de lente ocular com régua interna de mensuração vertical e horizontal, charriot lateral e foco da marca Olympus (40701). As características morfológicas avaliadas nos oocistos, para identificação da espécie, foram o comprimento e largura do oocisto e esporocistos, a proporção do comprimento em função da largura, a presença de micrôpila, corpo de stieda e resíduo. A calibragem do aparelho de mensuração utilizado foi realizada semanalmente.

#### 4.7 Fontes de infecção dos bezerros

Objetivando estudar as possíveis fontes de infecção, foram realizadas análises em material coletado mediante limpeza do úbere e teto de oito búfalas, com e sem acúmulo de matéria orgânica previamente à mamada nos meses de janeiro e fevereiro do ano de 2007, e em amostras de material presentes em poços de água, formados no pavimento dos bezerreiros, após chuva ou limpeza. Posterior à coleta, o material foi colocado em copo de vidro para sedimentação. Para identificação e contagem do número de oocistos de *Eimeria* SP, foram coletados dois gramas do sedimento para exame de OOPG utilizando-se a mesma metodologia empregada com as fezes.

#### 4.8 Necropsia e histopatologia

Os animais que morreram foram submetidos à necropsia para estudo das lesões presentes no trato gastrointestinal, decorrentes de eimeriose, momento em que foi coletado material para análise histopatológica com a técnica de coloração Hematoxilina-Heosina. Para a correta identificação da localização das lesões encontradas, previamente à coleta dos fragmentos, foi realizada a separação de



todo trato gastrointestinal permitindo a mensuração do intestino e identificação dos pontos de coleta, tendo como referência o piloro e o ceco.

Foram coletados nove segmentos do trato gastrointestinal que, após serem fixados e conservados em solução de formol (10%), foram submetidos ao estudo histopatológico no Laboratório de Diagnóstico Veterinário do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG.

#### **4.9 Estudo da frequência de *Eimeria* sp. – etapa 1**

Na primeira etapa, executada de 16/01/2007 a 30/04/2007, parte das atividades foram realizadas na propriedade, com o objetivo de acompanhar os animais com frequência diária e vivenciar as rotinas da propriedade que poderiam estar ligadas à instalação do processo infeccioso por *Eimeria* sp. nos bezerros. Para isso o executor do projeto fixou residência na propriedade onde permaneceu durante todo o período. A análise de OOPG e a montagem das placas com solução de fezes foram realizadas em um laboratório montado em espaço apropriado e isolado para esse fim.

Foram acompanhados 72 bezerros, nascidos em 75 dias, no período de 16/12/2006 a 01/03/2007, com a seguinte distribuição de nascimento: 12 nascidos em dezembro de 2006, 28 nascidos no mês de janeiro, 29, em fevereiro e 03, em março do ano de 2007. Para a coleta de fezes, a cada dois dias, sempre na parte da manhã, após a ordenha das búfalas, o animal era contido e as fezes coletadas diretamente da ampola retal utilizando-se sacola plástica descartável, previamente identificada com a numeração do animal. O material coletado foi mantido sob refrigeração em caixa isotérmica até o momento do exame de OOPG.

Foram avaliadas a presença de oocistos de *Eimeria* sp. nas fezes dos bezerros do 1º ao 123º dia de vida, a frequência de cada espécie de *Eimeria* sp., diagnosticada até o 46º dia e os fatores de risco envolvidos na

infecção. Para a identificação das espécies de *Eimeria* presentes, amostras de fezes, pertencentes a animais positivos ao exame de OOPG, foram separadas e formaram grupos, de forma que em cada grupo não houvesse diferença de idade superior a cinco dias entre os indivíduos que os compunham.

Todas as intervenções ocorridas com os animais e, no ambiente em que eles permaneciam, foram anotadas, não havendo nessa etapa alterações nas práticas de manejo adotadas rotineiramente na propriedade que pudessem interferir no processo natural de infecção dos bezerros por *Eimeria* sp. As manifestações clínicas da eimeriose foram anotadas e transferidas para um banco de dados.

Os bezerros que manifestaram quadro agudo de eimeriose, com risco de morte, foram tratados com sulfadimetilpirimidina de sódio, através de aplicação endovenosa de 125mg/kg de peso corporal (PC), no primeiro dia de tratamento, e 62,5 mg/kg PC, via intramuscular, nos quatro dias subsequentes, de acordo com indicação de Kpahara e Singh (1986).

Em 31 animais, as amostras de fezes foram coletadas e analisadas até o momento em que, baseado em parâmetros clínicos de hipertermia, inapetência, desidratação e fraqueza, associados com os resultados precedentes de OOPG e consistência das fezes, optou-se pelo tratamento terapêutico dos bezerros. Nesses animais, após autorização dos proprietários, foram utilizadas para os tratamentos as drogas escolhidas para o trabalho em concentrações variadas, mas nunca superiores às indicadas para a espécie bovina, associadas a antibióticos de longa ação por via parenteral (Oxitetraciclina dihidratada 20,0%) e reposição hidroeletrólítica por via endovenosa e/ou oral, conforme solução estabelecida para bovinos por Ferreira (2001) (dados não publicados). A sobrevivência de todos os animais serviu como teste de tolerância para cada droga utilizada.

#### 4.10 Estudo da eficácia do tratamento - etapa 2

Foram utilizados os conhecimentos referentes aos resultados das contagens de OOPG e dos testes de tolerância, adquiridos na etapa 1, para propor, executar e avaliar a eficácia do tratamento metafílico de bezerros bubalinos, criados em mesmas condições de um grupo de bezerros, não tratados, no período de 05/06/2008 a 28/07/2008. Considerando a disponibilidade comercial, a facilidade de aplicação/fornecimento do medicamento aos animais, o mecanismo de ação, segurança da droga e o desenvolvimento de imunidade, foram selecionados o amprólio, a sulquinoxalina sódica e o toltrazuril para integrarem essa etapa do estudo.

Foram formados os grupos de animais G1, G2, G3, G4 e G5 utilizando como critérios, para a inclusão dos animais em cada grupo, o sexo e o dia de nascimento de cada animal. Os bezerros integrantes dessa etapa do estudo nasceram no período compreendido entre o dia 27/5/2008 e 07/07/2008, integralizando todo o grupo em 41 dias. Todos os procedimentos experimentais foram executados simultaneamente para reduzir a possibilidade de fatores externos interferirem nos resultados.

##### Grupos experimentais

- Grupo 1 (G1) - composto de 18 animais do sexo masculino; os animais receberam 12 ml de água filtrada, via oral, em única aplicação; os resultados obtidos foram utilizados como parâmetro para a comparação com os demais (Controle).
- Grupo 2 (G2) - composto de 11 animais, de ambos os sexos, com idade média de  $7,9 \pm 1,44$  dias que foram tratados com sulfaquinoxalina sódica (25mg por kg de peso corporal via oral, administrado durante 3 dias consecutivos).
- Grupo 3 (G3) - composto de 10 animais, de ambos os sexos, com idade média de  $8,3 \pm 2,1$  dias que foram tratados com

toltrazuril (15 mg/Kg de peso corporal via oral, administração única).

- Grupo 4 (G4) - composto de 10 animais, de ambos os sexos, com idade média de  $7,8 \pm 1,93$  dias que foram tratados com toltrazuril2 (7,5 mg/Kg de peso corporal via oral, administração única).
- Grupo 5 (G5) - composto de 10 animais, de ambos os sexos, com idade média de  $7,4 \pm 0,91$  dias que foram tratados com amprólio (10,0 mg/kg PC via oral, administrado durante 5 dias consecutivos).

As coletas de fezes nos animais foram realizadas com a mesma metodologia utilizada na etapa 1, sempre às segundas e quintas-feiras, após o término da primeira ordenha. As coletas foram realizadas do dia 05/06/2008 a 04/09/2008. O exame de OOPG foi realizado no laboratório de endoectoparasitoses do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG, para onde o material coletado foi transportado, sob refrigeração em caixas isotérmicas. As amostras de fezes positivas para *Eimeria* foram acrescidas de solução de bicromato de potássio (2,5%) para esporulação em placas de Petri, formando amostras individuais.

Os resultados das contagens de oocistos de *Eimeria* sp. estão apresentados em tabelas compostas de informações referentes ao grupo a que os animais pertenciam com o respectivo número de animais por idade de diagnóstico e a frequência de animais positivos. Os dados de cada tabela foram apresentados também sob a forma de figura, para melhor visualização da variação da eliminação dos oocistos de *Eimeria* sp., em função da idade dos animais.

Para a análise da eficácia de cada droga, foi considerado como dia zero do tratamento o dia em que cada animal foi medicado. Nos grupos G2 e G5, foi considerado o dia zero o último dia da sequência de tratamento dos animais. A averiguação da eficácia foi calculada através da análise do período médio em que os animais permaneceram sem eliminar oocistos nas fezes.

#### 4.11 Estudo da eficácia de decoquinato – etapa 3

Os Grupos G6 e G7 foram formados com o objetivo de avaliar a eficácia do decoquinato adicionado à ração para promover a redução da contagem de oocistos *Eimeria sp.* por grama de fezes, o impacto da infecção por *Eimeria sp.* sobre o ganho de peso dos búfalos e também a diminuição de manifestações clínicas da eimeriose em animais com idade próxima a 150 dias. A divisão dos animais para a composição de G6 e G7 foi realizada em função da contagem inicial de oocistos por grama de fezes e peso vivo no dia 11/11/2008, que correspondeu ao dia 14 do início do fornecimento da medicação. O peso médio e a contagem de OOPG no início da prova, que ocorreu em 25/11/2008, foram respectivamente de 133,89±18,53 kg e 1171,43±3105,93 para G6 e de 135,02±22,81kg e 1550,00±3685,48 para G7. Em G6 e G7 estiveram presentes 10 animais que haviam sido medicados com droga anticoccídia e 4 que não foram medicados com esse tipo de droga. Os animais medicados em G6 e G7 compuseram os subgrupos G6A e G7A e os não medicados, os grupos G6B e G7B. Esse procedimento teve como objetivo analisar a interferência da infecção por *Eimeria sp.* em animais jovens quanto ao seu desenvolvimento ponderal à desmama.

Os integrantes de G7 foram alimentados da mesma forma que G6, mas sem a inclusão da medicação à dieta. A quantidade fornecida de decoquinato foi estabelecida e separada em amostras diárias que foram misturadas em 0,5 kg de farelo de milho. A mistura farelo de milho com decoquinato foi distribuída e homogeneizada sobre a mesma alimentação fornecida a G7, composta de capim Napier (*Pennisetum purpureum*) picado, farelo de soja, farelo de milho e mistura mineral.

- Grupo 6 - composto de 14 animais, de ambos os sexos, com idade média de 150±10 dias que receberam a droga decoquinato misturada a 500 gramas de farelo de milho na dosagem de (0,5 mg /kg de PC durante 28 dias) que foram

distribuídos na forragem fornecida aos bezerros.

- Grupo 7 - composto de 14 animais, de ambos os sexos, com idade média de 150±18 dias que não receberam decoquinato nas 500 gramas de farelo de milho que foram distribuídos na forragem fornecida aos bezerros.

#### 4.12 Análise Estatística

Após verificação da ausência de normalidade nos resultados encontrados em função da instabilidade da resposta analisada, número de ovos por grama de fezes, a análise dos resultados obtidos em G2, G3, G4 e G5 foi feita mediante procedimento descritivo, por meio do cálculo das médias e seus desvios padrão nos momentos avaliados utilizando o teste de Kruskal Wallis. Para G6 e G7, foi realizada a análise de variância com 5% de significância para as variáveis peso e OOPG, sendo o OOPG transformado utilizando a função RAIZ para sua análise (SAMPAIO, 2002).

### 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um resultado comum observado nas etapas 1 e 2 foi o diagnóstico dos oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes de animais nascidos há poucos dias. Utilizando-se dos conhecimentos presentes na literatura sobre a eimeriose em búfalos e bovinos para justificar o diagnóstico da presença de oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes de animais em período inferior ao período pré-patente esperado, foi considerada a ingestão de oocistos não infectantes nos primeiros dias de vida e/ou pela ação de fatores inibidores de tripsina presentes no colostro dos animais (Fagliar et al., 2006), que podem intervir na ação da tripsina sobre a ruptura da membrana externa do oocisto, necessária para a liberação dos esporozoítos.

Sabendo-se que o período necessário para a passagem de alimento do abomaso ao ânus nos búfalos é de 26 a 35 horas (Ranjhan, 1992), procede o achado de

oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes de animais que foram expostos à infecção após o nascimento no momento da ingestão do colostro, no segundo dia de vida.

A infecção precoce por *Eimeria sp.* é favorecida pela exposição precoce à infecção, decorrente do ambiente em que os animais vivem, e também pela menor proteção imune passiva adquirida pelos búfalos através da ingestão de colostro (Parveen; Ahuja, 1998). A soma desses determinantes permite a infecção dos animais que causa o desequilíbrio das reações químicas encontradas nos animais saudáveis, alterando os parâmetros fisiológicos dos níveis séricos de micronutrientes, conforme comprovado por Ahmed (2007) e Bastianetto et al. (2009).

### **5.1 Diagnóstico de oocistos de *Eimeria sp.*- (etapa1)**

Foram identificados oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes de bezerros com idade superior a dois dias (Tabela 1), em solução resultante da lavagem do teto e úbere das búfalas previamente ao contato da boca do bezerro e também em amostras de solução de água e matéria orgânica, acumulada em frestas do pavimento do bezerreiro, após chuva (Tabela 2).

Foram identificados animais positivos após o segundo dia de vida. Após o quinto dia de vida, a frequência de animais positivos, dentre os avaliados, foi sempre superior a

50%, o que comprova a alta susceptibilidade e incidência de animais infectados por *Eimeria sp.* criados nas condições em que o estudo foi realizado. Houve variações na quantidade de oocistos diagnosticados, com maiores frequências nos intervalos do 10º ao 12º, do 20º ao 30º e do 37º ao 58º dias de vida (figura 1 e tabela 1). As contagens altas de OOPG do 17º ao 24º dia de idade coincidiram com a idade das mortes ocorridas. Os dados da tabela 1 foram utilizados para a confecção do gráfico 1.

Das informações apresentadas (tabela 1 e gráfico 1), a precocidade de diagnóstico de oocistos nas fezes, a presença de picos de eliminação de oocistos na terceira e quarta semana e o alto número de OOPG se destacam. Esses resultados vão de encontro aos achados de Bathia (1992), Cringoli (1995), Bastianetto (2006) (dados não publicados) e Dubey (2008), em que animais com idade inferior a 90 dias apresentam as maiores taxas de eliminação de oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes.

Os resultados decorrentes das análises realizadas para o diagnóstico de oocistos infectantes de *Eimeria sp.*, nas amostras decorrentes da limpeza do teto e do úbere dos animais, e também naquelas colhidas nas coleções de água presentes no pavimento, serão apresentados na tabela 3.

Este gráfico é resultado de análise de OOPG de *Eimeria sp.* nas fezes de bezerros.

Tabela 1. Número médio de oocistos de *Eimeria* sp. por grama de fezes em função da idade dos animais, número de animais analisados e a frequência de animais positivos por idade, em 72 bezerros bubalinos, com idade entre o 1º e 123º dia de vida, naturalmente infectados, criados no município de Oliveira, Minas Gerais, 2007.

Idade (dias)	Média e desvio padrão	Nº	Frequência (%)	Idade (dias)	Média e desvio padrão	Nº	Frequência (%)
1	0,00±0,00	6	0	55	11575,00±14687,27	12	100
2	2,2±4,91	6	17	56	3466,67±3139,00	12	100
3	57,14±151,18	9	22	57	5500,00±6081,12	9	100
4	280,00±626,09	13	46	58	11880,00±24889,50	9	100
5	1660,00±3439,19	10	50	61	4066,67±7043,67	15	80
6	680,00±901,11	4	100	62	24900,00±21606,25	9	100
7	1040,00±1836,57	27	67	64	5500,00±2626,79	18	83
8	166,67±288,68	6	100	65	8200,00±7071,07	6	100
9	740,00±1143,68	21	86	66	1050,00±353,55	12	75
10	800,00±707,11	18	100	67	8100,00±424,26	18	83
11	380,00±363,32	27	78	68	3600,00±3818,38	6	100
12	13200,00±22863,07	3	100	69	2750,00±3332,17	15	100
13	660,00±736,89	23	40	70	7800,00±808,29	9	100
14	33,33±57,74	24	88	71	3500,00±3300,76	21	86
15	4740,00±9766,17	15	60	72	6900,00±2424,87	6	100
16	300,00±223,61	25	100	73	3825,00±3464,46	15	100
17	2280,00±4655,32	25	100	74	6000,00±1643,17	9	100
18	26180,00±57813,86	12	75	75	1860,00±1325,90	6	100
19	14040,00±21852,53	30	70	76	17120,00±36722,91	12	100
20	157740,00±217597,47	6	100	77	2400,00±1520,96	3	100
21	234540,00±437969,07	28	75	78	1500,00±1697,06	12	75
22	138825,00±135355,20	15	100	79	950,00±212,13	3	100
23	139420,00±149370,28	33	82	80	500,00±282,84	9	100
24	82328,00±172217,40	6	100	81	250,00±70,71	9	67
25	15820,00±17247,38	30	100	82	11475,00±14878,93	12	75
26	199840,00±223790,90	18	67	83	650,00±750,56	6	50
27	135475,00±153266,64	24	88	84	4200,00±0,00	3	100
28	21960,00±44119,30	6	100	85	150,00±212,13	4	50
29	47466,67±76401,40	15	80	86	30750,00±43062,80	3	100
30	49680,00±65173,82	6	100	89	150,00±212,13	3	100
31	6100,00±6392,96	24	88	90	800,00±141,42	6	100
32	20040,00±35969,75	12	100	92	5950,00±212,13	6	100
33	2480,00±1578,61	9	67	93	250,00±212,13	10	60
34	8780,00±11470,27	9	67	94	750,00±494,97	10	100
35	8700,00±9058,97	9	100	95	250,00±70,71	8	50
36	41560,00±61587,85	9	67	96	866,67±723,42	21	71
37	16080,00±17101,23	9	100	97	350,00±494,97	9	100
38	72740,00±143111,17	6	50	98	800,00±707,11	15	80
39	260160,00±419055,78	6	0	99	200,00±141,42	15	40
40	14180,00±26375,03	9	67	100	900,00±1131,37	14	50
41	50020,00±40097,03	6	100	101	2400,00±2545,58	3	100
42	71120,00±94523,50	6	50	102	250,00±353,55	18	67
43	29740,00±24096,43	6	100	103	266,67±251,66	12	75
44	60020,00±74268,11	3	100	105	250,00±353,55	9	100
45	31933,33±48839,98	6	100	106	550,00±70,71	15	60
46	4240,00±5909,57	6	100	107	600,00±707,11	12	50
47	29140,00±44474,24	3	100	108	700,00±282,84	3	100
48	2075,00±1882,15	6	100	110	700,00±282,84	21	71
49	22840,00±29604,78	6	100	112	650,00±70,71	18	83
50	5540,00±5970,59	9	100	116	2800,00±424,26	6	50
51	27466,67±20934,50	9	100	117	400,00±141,42	9	44
52	6360,00±4958,63	15	80	118	150,00±70,71	8	13
53	18766,67±30028,38	18	100	122	1050,00±212,13	3	33
54	2150,00±2050,61	9	67	123	800,00±141,42	3	33

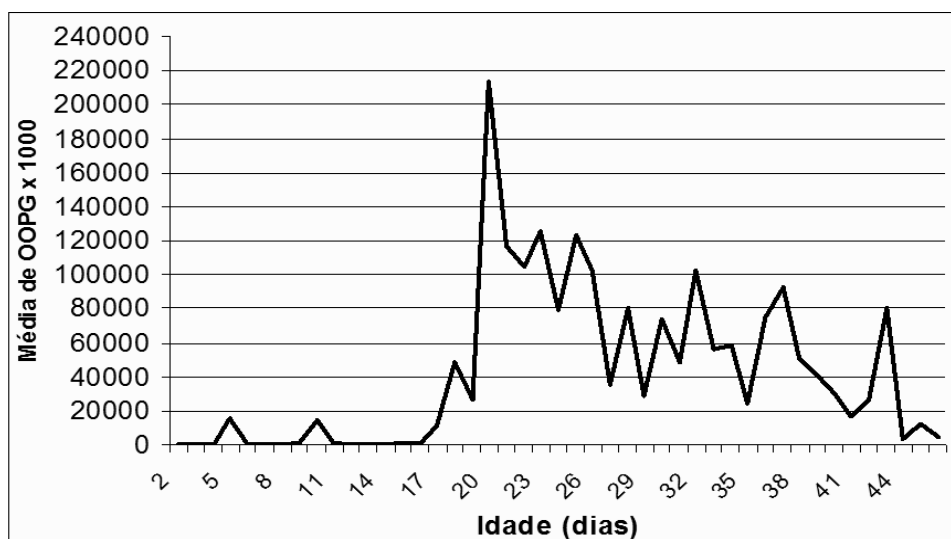


Gráfico 1 - Contagem do número de OOPG de *Eimeria sp.* nas fezes de 72 bezerros expostos à infecção natural em 2007 durante 48 dias.

Tabela 2: Quantidade de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de material coletado, através da lavagem do teto e úbere das búfalas, previamente ao contato da boca do bezerro e em amostras de solução de água e matéria orgânica acumulada em fresta, após chuva no pavimento do bezerreiro de propriedade localizada no município de Oliveira - MG no ano de 2007.

Local de coleta	Média e desvio padrão de OOPG	Número de amostras coletadas
Lavagem de teto e úbere	325,00±125,83	8
Pavimento	150,00±129,09	8

A identificação de oocistos infectantes no teto das búfalas e nas coleções de água, presentes no pavimento, confirma a possibilidade de infecção dos bezerros por *Eimeria sp.* através da ingestão de oocistos infectantes oriundos dessas fontes. O longo período de sobrevivência dos oocistos de *Eimeria sp.* no ambiente e a dificuldade de eliminação desses através dos processos físicos e químicos de limpeza (Agrawal e Singh, 2006) facilitam o estabelecimento do processo infeccioso. O acesso das búfalas adultas a locais sombreados e

úmidos (Bathia, 1992; Magdoub, et al. 1999), a concentração dos partos nos meses de janeiro a abril (Baruselli, 2005) e o elevado índice pluviométrico observado no período favorecem a infecção de bezerros recém-nascidos.

## 5.2 Espécies de *Eimeria* identificadas - etapa 1

Na tabela 3 serão apresentadas as espécies de *Eimeria sp.* identificadas nas fezes dos bezerros avaliados na etapa 1, conforme a faixa etária a que pertenciam.

Tabela 3: Frequência média de espécies de *Eimeria* diagnosticadas em pool de fezes de bezerros bubalinos criados no município de Oliveira - MG no ano de 2007, de acordo, com a faixa etária.

Idade (dias)	<i>Eimeria auburnensis</i>	<i>Eimeria bareillyi</i>	<i>Eimeria bovis</i>	<i>Eimeria canadensis</i>	<i>Eimeria cylindrica</i>	<i>Eimeria ellipsoidalis</i>	<i>Eimeria subspherica</i>	<i>Eimeria zuernii</i>
1-5	0	100	0	0	0	0	0	0
6-10	0	100	0	0	0	0	0	0
11-15	0	77	33	0	0	0	0	0
16-20	10	33	16	0	0	0	41	0
21-25	0	34	12	0	6	0	41	7
26-30	6	35	13	0	3	0	36	7
31-35	5	18	18	2	3	32	12	28
36-40	9	0	27	12	0	13	10	29
41-46	14	0	35	9	4	9	10	19

Foram identificadas as espécies *E. auburnensis*, *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. canadensis*, *Eimeria cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica* e *E. zuernii* nas amostras constituídas de pool de fezes positivas para oocistos de *Eimeria* sp. em grupo de animais com idade não superior a cinco dias entre eles (tabela 3). A espécie *E. bareillyi* foi a única diagnosticada até o 10º dia de vida, esteve presente até o 35º dia e foi substituída gradualmente pelas espécies *E. bovis*, *E. subspherica*, *E. cylindrica*, *E. zuernii*, *E. ellipsoidalis*.

As alterações clínicas de apatia, hipertermia, inapetência e desidratação foram diagnosticadas em animais portadores de infecção multiespecífica por *Eimeria* sp. As espécies identificadas nas fezes dos animais, com idade dentro do intervalo 17º ao 24º dia, *E. auburnensis*, *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. cylindrica*, *E. subspherica* e *E. zuernii*, foram as mesmas identificadas nas fezes dos animais que vieram a óbito nessa faixa etária. As espécies identificadas coincidem com as descrições de Cringoli et al. (1995) e Dubey et al. (2008) onde o diagnóstico da presença de grande quantidade de oocistos de *E. bareillyi* se destacaram.

### 5.3 – Necropsias e histopatologia

Apesar do tratamento quimioterápico e de suporte ter apresentado boa eficiência nos 36 animais que apresentaram risco de morte, três animais (9,6%) vieram a óbito na terceira semana de vida, confirmando a gravidade da infecção de bezerros bubalinos por *Eimeria sp.* conforme descrito por Dubey (1986); Bathia (1992); Bastianetto (2009).

A necropsia foi observada na cavidade abdominal dos animais, o aumento da vascularidade na região ilíaca do intestino delgado com intensa reação inflamatória local de coloração avermelhada.

Em fragmento coletado no 6º metro do ID (jejuno), foram encontrados oocistos não esporulados e merozoítos nas células epiteliais das glândulas e vilosidades, associados ao rompimento de células. Em fragmento coletado no 7,5º metro do ID (jejuno/íleo), foi visualizada intensa

quantidade de todas as formas evolutivas de coccídio, associada à necrose de superfície. Em fragmento coletado no 9,1º metro do ID (íleo), foram observados na mucosa numerosos merontes e esquizontes nas células epiteliais das vilosidades e criptas a placas de Payer, contendo folículos linfóides com centros germinativos ativadas.

Em fragmento coletado no 10,0º metro do ID (íleo), foi visualizada intensa quantidade de todas as formas evolutivas de coccídeo associada à necrose de superfície. Não foram encontradas alterações no IG e em fragmentos do ID coletados na região do duodeno.

A conclusão do laudo anatomopatológico foi enterite necrótica aguda difusa e acentuada, associada a miríades de formas evolutivas de coccídeo. Esses achados coincidem com achados de Dubey (2008).

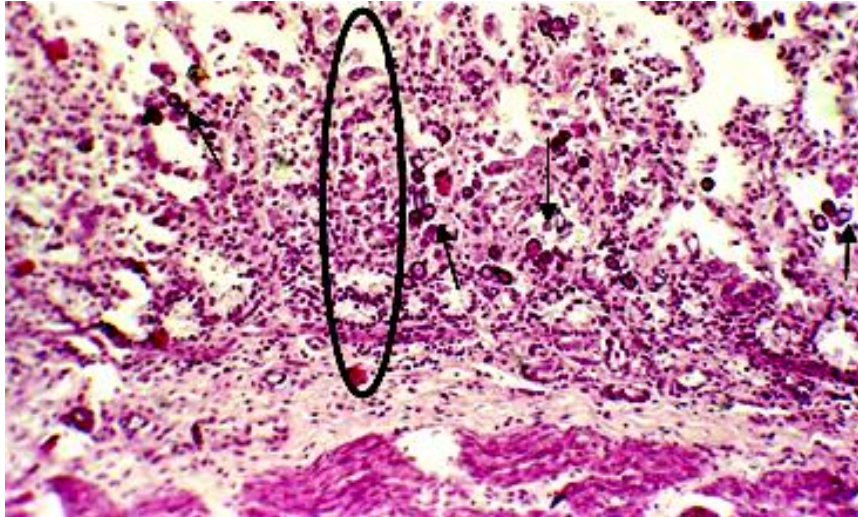


Figura 1 – Corte histológico de seção intestinal da região ilíaca com vilos destruídos (círculo) e diversos estágios evolutivos de *Eimeria sp.* (setas). (aumento 100 X)



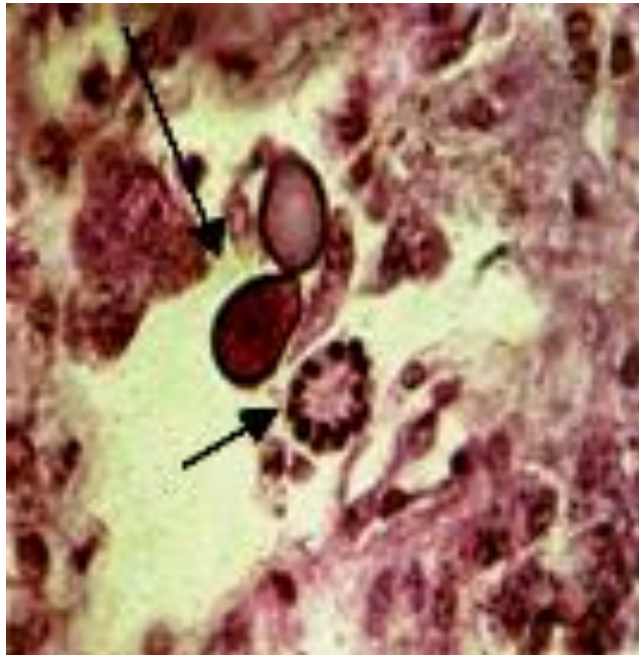


Figura 2 - Macrogamete de *Eimeria* sp. (indicado pela seta menor) e oocisto de *Eimeria bareillyi* em fase final de formação no interior do vilão (indicado pela seta maior) (aumento 400 X)



Figura 3- Oocisto de esporulado de *Eimeria bareillyi* (aumento 2000X)

#### 5.4- Resultados e discussão – etapa 2

Nessa etapa foram realizados o diagnóstico de oocistos não esporulados de *Eimeria sp.* nas fezes de bezerros, a avaliação da

eficácia das drogas testadas e a análise da dinâmica e da participação de cada espécie identificada nos processos infecciosos. O material foi coletado no período compreendido entre os dias 05/06/2008 e 04/09/2008.

Tabela 4: Contagem média do número de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes em função da idade dos animais, do número de animais analisados e a frequência de animais positivos por idade, em 18 bezerros bubalinos, com idade entre o 2º e 55º dia de vida, naturalmente infectados, criados no município de Oliveira, Minas Gerais, 2008.

Tratamento	Idade	Média oopg	Nº	Frequência (%)	Idade	Média oopg	Nº	Frequência (%)
1	2	0.0±0.0	2	0	26	220666.7±277061.2	6	85
1	3	0.0±0.0	4	0	27	1175.00±1627.62	4	0,75
1	4	0.0±0.0	4	0	28	275400.0±538449.8	5	100
1	5	0.0±0.0	2	0	29	12233.33±20585.51	3	66
1	6	40.00±54.77	5	40	30	58028.57±79276.98	7	100
1	7	0.0±0.0	2	0	32	34100.00±63718.44	5	100
1	8	0.0±0.0	7	0	33	33857.14±59096.92	7	85
1	9	0.0±0.0	2	0	34	15333.33±26471.56	3	66
1	10	60.00±89.44	5	40	35	13100.00±21165.42	5	80
1	11	44.44±88.19	9	22	36	150.00±212.1320	2	50
1	12	133.33±230.94	3	33	37	3012.50±4548.60	8	87
1	13	200.00±308.22	5	40	38	60350.00±81105.15	2	100
1	14	50.00±100.00	4	25	39	2200.00±2659.88	5	75
1	15	0.00±0.00	2	0	40	2871.42±4907.72	7	85
1	16	14433.33±22902.02	6	66	41	1075.00±928.70	4	75
1	17	0.00±0.00	2	0	42	1233.33±550.75	3	100
1	18	80.00±83.66	5	75	43	25150.00±1626.34	2	100
1	19	25450.00±32754.89	8	100	44	1637.50±3263.62	8	87
1	20	1466.66±1069.26	3	100	46	4150.00±5303.30	2	66
1	21	47720.00±104481.6	5	60	47	0.00±0.00	1	0
1	22	4033.33±4384.44	3	66	48	0.00±0.00	1	0
1	23	162242.9±354394.5	7	87	50	0.00±0.00	1	0
1	24	32100.00±43982.04	2	100	51	400.00±0.00	1	110
1	25	375566.7±906064.2	6	100	55	100.00±0.00	1	100

Em todos os grupos foi detectada a presença de oocistos *Eimeria sp.* nas fezes de bezerros com idade inferior a 7 dias, reforçando os achados da etapa 1 em relação ao contato e eliminação precoce de oocistos de *Eimeria sp.*

O primeiro diagnóstico de oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes dos animais, integrantes de G1, ocorreu em 5 animais com 6 dias de vida. As maiores contagens de OOPG e frequência de animais positivos foram identificadas após o 16º dia de vida (tabela 4). Essa observação coincide com o período pré-patente conhecido das espécies de *Eimeria* identificadas neste trabalho, considerando que os animais tenham sido

infectados nos primeiros dias de vida. Os resultados encontrados, no grupo controle na etapa 2 (Tabela 4), são semelhantes aos encontrados em mesmo grupo na etapa 1 (Tabela 1), onde é observada uma maior concentração de eliminação de oocistos de *Eimeria sp.* na terceira e quarta semanas de vida dos bezerros. Os autores Cringoli, et al. (1995), Ribeiro et al. (2000), Noronha (2009), Bastianetto (2006) (dados não publicados) e Dubey et al. (2008) já haviam descrito essa observação .

A dinâmica da eliminação de OOPG em animais não medicados, integrantes de G1, está apresentada no gráfico 2, que foi construída com os dados da tabela 4.

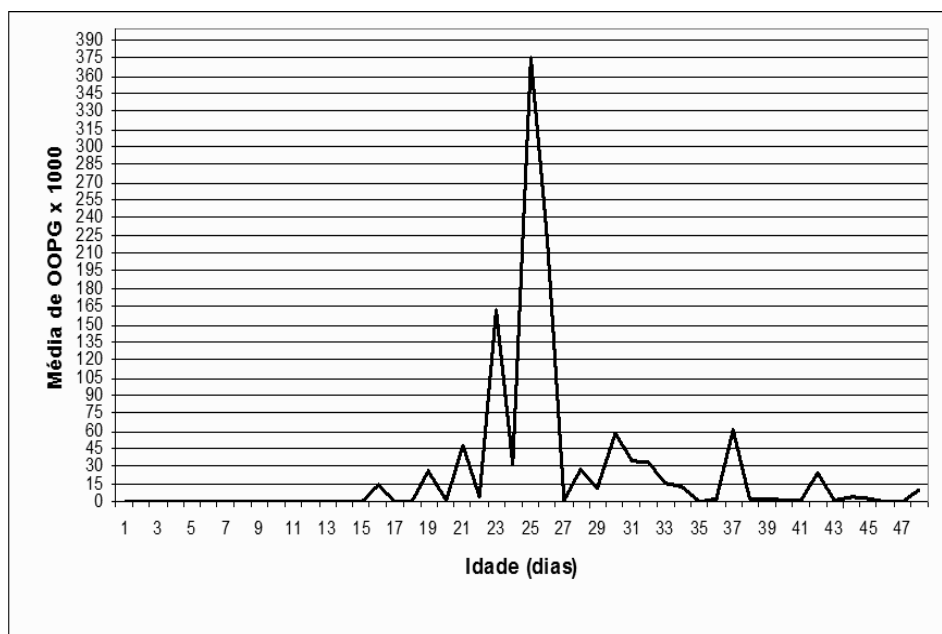


Gráfico 2 – Variação diária da contagem do número de OOPG de *Eimeria sp.* nas fezes de 18 bezerros não tratados e expostos à infecção natural durante 48 dias, criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008.

Foram detectadas maiores concentrações de oocistos nas fezes dos animais e frequência de animais positivos aos 16, 19, 20, 23, 24, 25 e 28 dias de idade e nos intervalos de idade do 32º ao 33º e do 38º ao 40º dias (tabela 4 e gráfico 2). São notáveis as diferenças entre a quantidade de oocistos de *Eimeria sp.* eliminados e também a continuidade da eliminação de oocistos, observadas entre os grupos testemunha nos anos 2007 e 2008,

ocorridas por consequência das alterações de manejo na ordenha e a menor pluviosidade no ano de 2008. Essas diferenças não exerceram influência sobre a possibilidade de infecção precoce dos animais pela ingestão de oocistos esporulados de *Eimeria sp.*, dada a permanência dos bezerros e búfalas em ambiente contaminado, comprovada pela eliminação precoce de oocistos também em G1 (tabela 4).

Os resultados da contagem média de OOPG nos animais que compuseram G2, em função da idade, estão apresentados na

tabela 5 e a variação na eliminação média de oocistos de *Eimeria* sp. pelos animais no gráfico 3.

Tabela 5: Contagem média do número de oocistos de *Eimeria* sp. por grama de fezes em função do tratamento, da idade dos animais, do número de animais avaliados e a frequência de animais positivos para cada idade, em 11 bezerros bubalinos naturalmente infectados do 1º ao 68º dia de vida, tratados com sulfaquinoxalina sódica (25mg/kg PC), via oral, durante dois dias em idade média de 7,9±1,44 dias, criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008.

Tratamento	Idade	Média de OOPG	Nº	Frequência (%)	Idade	Média de OOPG	Nº	Frequência (%)
2	1	0.00±0.00	3	0	28	25100.00±34.789,65	2	100
2	2	0.00±0.00	2	0	29	14.500,00±34.254,32	6	50
2	3	0.00±0.00	6	0	30	100.00±173.20	2	100
2	4	666.66±1179.26	6	33	31	600.00±0.00	1	100
2	5	0.00±0.00	3	0	32	250.00±353.55	3	33
2	6	150.00±212.13	2	50	33	550.00±777.81	5	80
2	7	216.66±530.72	6	16	34	1800.00±2734.22	2	50
2	8	0.00±0.00	3	0	35	550.00±777.81	2	50
2	9	0.00±0.00	1	0	36	1800.00±2734.22	6	66
2	10	300.00±424.26	2	50	37	100.00±0.00	1	100
2	11	0.00±0.00	4	0	38	300.00±0.00	1	9
2	12	0.00±0.00	4	0	39	1233.33±1069.26	3	100
2	13	500.00±0.00	1	100	40	1620.00±2809.27	4	50
2	14	900.00±1733.97	4	50	41	300.00±0.00	1	100
2	15	33.33±81.64	6	16	42	650.00±777.81	2	18
2	17	6300.00±8490.58	1	100	43	285.71±671.88	7	28
2	18	680.00±1520.52	5	60	46	8100.00±13597.43	3	100
2	19	9500.00±11455.13	5	20	47	140.00±219.08	5	40
2	20	35550.00±47588.29	2	100	48	1100.00±1414.21	2	100
2	21	24085.71±59250.61	2	100	50	140.00±260.76	5	40
2	22	1716,67±64427,29	7	57	54	100.00±173.20	3	33
2	23	6150.00±7411.92	1	9	57	200.00±216.02	4	75
2	24	0.00±0.00	1	18	62	100.00±141.42	2	50
2	25	8400.00±11879.39	4	50	64	350.00±494.97	2	50
2	26	25100.00±34789.65	5	60	65	0.00±00	1	100
2	27	14500.00±34254.52	2	50	68	100.00±0.00	1	100

Os primeiros oocistos de *Eimeria sp.* Identificados, nos animais que compuseram G2, foram eliminados por 2 animais com 4 dias de idade (tabela 5) reforçando as observações realizadas no grupo estudado em 2007 e em G1, em relação à eliminação precoce de oocistos de *Eimeria* pelas fezes.

A análise individual da resposta ao tratamento, através da presença de oocisto nas fezes de todos os animais que compuseram G2, demonstra que 100% (n=11) estavam negativos na primeira coleta após o tratamento. O período de negatividade ao diagnóstico de oocisto nas fezes foi de  $10,73 \pm 8,89$  dias, com variação entre os animais de 3 a 30 dias. No primeiro mês de vida as maiores eliminações de oocistos de *Eimeria sp.* ocorreram aos 19, 20, 21, 24, 26 e 27 dias. Posteriormente ao 27º dia, observa-se uma redução gradual do número médio de OOPG diagnosticados.

As sulfonamidas apresentam eficiência máxima no quarto dia pós-infecção sobre o meronte secundário (Roberson, 1977),

portanto os oocistos identificados em 2 animais, no dia 3 pós tratamento, possivelmente são originários de estruturas na etapa gametogênica do ciclo das espécies de *Eimeria* no momento da medicação dos animais sobre as quais as sulfonamidas têm baixa eficiência. No momento da medicação, as espécies de *Eimeria* que se encontravam no II estágio de multiplicação assexuada (meronte II), sofreram maior ação garantindo a ausência de eliminação de oocistos nos dias subsequentes. O período médio de negatividade da contagem de OOPG foi de  $11,18 \pm 8,52$  dias. Em relação aos animais de G1 nota-se um comportamento semelhante na variação da eliminação de oocistos, tendo como principal diferença a redução da intensidade de infecção nos animais durante todo o período após o tratamento, a menor frequência de animais positivos e a ausência de manifestações clínicas da doença pelos animais.

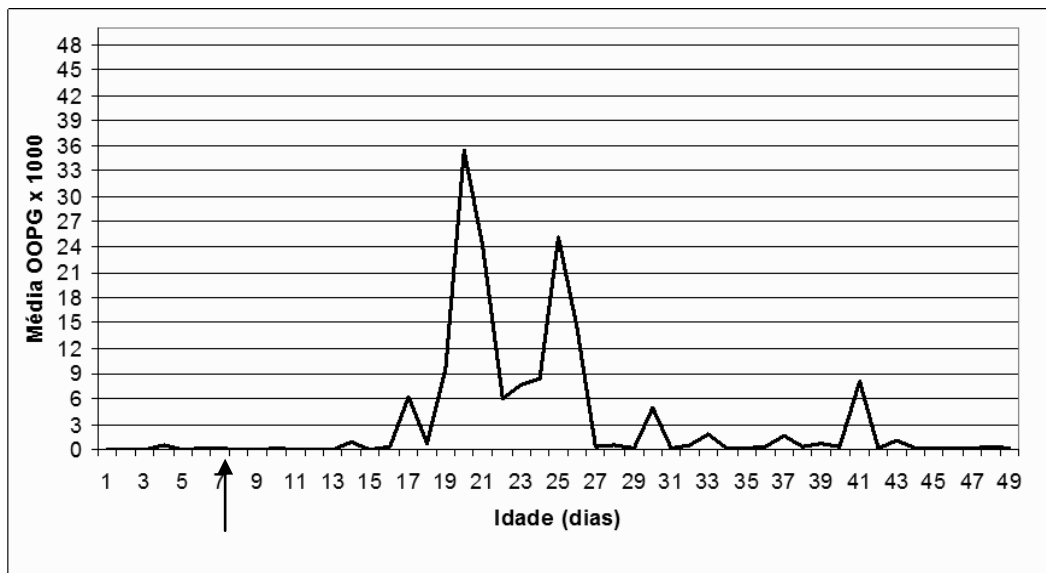


Gráfico 3 - Variação diária da contagem média do número de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes, em 11 bezerros bubalinos naturalmente infectados do 1º ao 68º dia de vida, tratados com sulfaquinoxalina sódica na dosagem de 25mg/kg PC, administrado, via oral, durante dois dias, em idade média de  $7,9 \pm 1,44$  dias (indicado pela seta), criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008.

Tabela 6: Contagem média do número de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes em função do tratamento, da idade dos animais, do número de animais avaliados e a frequência de animais positivos para cada idade em 10 bezerros bubalinos, naturalmente infectados do 1º ao 64º dia de vida, tratados com toltrazuril (15 mg/Kg PC), via oral, em idade média de 8,3±2,1 dias, criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008.

Tratamento	Idade	Média OOPG	Nº	Frequência (%)	Idade	Média OOPG	Nº	Frequência (%)
3	2	0.00±0.00	1	0	33	0.00±0.00	3	0
3	3	100.00±0.00	3	33	34	150.00±212.1320	2	50
3	4	0.00±0.00	1	100	35	1200.00±1178.983	3	100
3	5	66.66±115.47	3	33	36	0.00±0.00	1	0
3	6	00.00±0.00	2	0	37	600.00±953.93	3	66
3	7	700.00±1212.43	3	33	38	316.66±457.89	6	66
3	8	0.00±0.00	1	0	39	0.00±0.00	1	0
3	9	4500.00±8933.45	4	50	40	200.00±282.8427	2	50
3	10	33.33±81.64	6	16	41	2233.33±3002.22	3	100
3	12	8700.00±12303.66	2	50	42	100.00±200.00	4	25
3	13	0.00±0.00	4	0	44	200.00±346.41	3	75
3	14	33.33±57.73	3	33	45	800.00±1211.06	2	100
3	16	0.00±0.00	3	0	46	1000.00±0.00	1	100
3	17	83,33±98,31	6	50	47	400.00±0.00	2	100
3	18	0.00±0.00	1	0	48	0.00±0.00	2	100
3	19	0.00±0.00	2	0	49	575.00±758.83	4	50
3	20	4840.00±10711.12	5	40	51	450.00±645.49	4	75
3	21	166.66±288.67	3	33	52	40.00±89.44	5	20
3	23	56850.00±113300.4	4	50	53	250.00±70.71	2	100
3	24	340.00±606.63	5	40	54	150.00±212.13	2	50
3	25	100.00±0.00	1	100	55	100.00±0.00	1	100
3	26	1466.66±2454.24	3	66	56	50.00±70.71	2	50
3	27	100.00±100.00	3	66	58	100.00±0.00	1	100
3	28	14300.00±16454.99	4	75	59	0.00±0.00	3	0
3	29	0.00±0.00	1	0	60	0.00±0.00	1	0
3	30	5125.00±10116.78	4	75	61	0.00±0.00	1	0
3	31	283.33±440.07	6	33	64	0.00±0.00	1	0
3	32	0.00±0.00	1	0				

Os resultados da contagem média de OOPG nos animais que compuseram G3, em função da idade, estão apresentados na tabela 6 e a variação na eliminação média de oocistos de *Eimeria sp.* pelos animais no gráfico 4.

Podem ser observados na tabela 6 três picos de eliminação de oocistos de *Eimeria sp.* na terceira, quarta e sexta semana de vida dos animais. Os picos de eliminação de oocistos observados em G2 (gráfico 3) coincidem, em relação à idade, com o observado em G1 (tabela 4), porém é substancial a redução da quantidade de oocistos eliminados pelos animais de G2 como resposta ao tratamento dos animais com sulfaquinoxalina sódica.

Os primeiros oocistos de *Eimeria sp.*, identificados nos animais que compuseram G3, foram eliminados por um animal com três dias de idade (tabela 6), semelhante ao já observado no grupo avaliado em 2007 e em G2 quanto à eliminação precoce de oocistos de *Eimeria* pelas fezes. No primeiro mês de vida, as maiores eliminações de

oocistos de *Eimeria sp.* ocorreram aos 12, 20, 23, 28 e 30 dias (tabela 6).

A análise individual da resposta ao tratamento, por meio da presença de oocisto nas fezes de todos os animais que compuseram G3, demonstra que três animais estavam positivos e sete negativos na primeira coleta após o tratamento. A droga toltrazuril atua sobre todos os estágios intracelulares de desenvolvimento da *Eimeria sp.* (Harder, 1989; Mundt, 2003), o que foi determinante para o diagnóstico de uma menor quantidade média de oocistos diagnosticados nas fezes no período subsequente ao tratamento, em relação à observada nos animais de G2 em mesma idade, conforme também observado por (Ghanem, 2008). Os animais de G3 apresentaram melhores condições clínicas e fezes com consistência normal durante todo o período de análise em relação a G2, G4 e G5. O período de negatividade ao diagnóstico de oocisto nas fezes foi de  $11,90 \pm 8,58$  dias, com variação entre os animais de 3 a 24 dias.

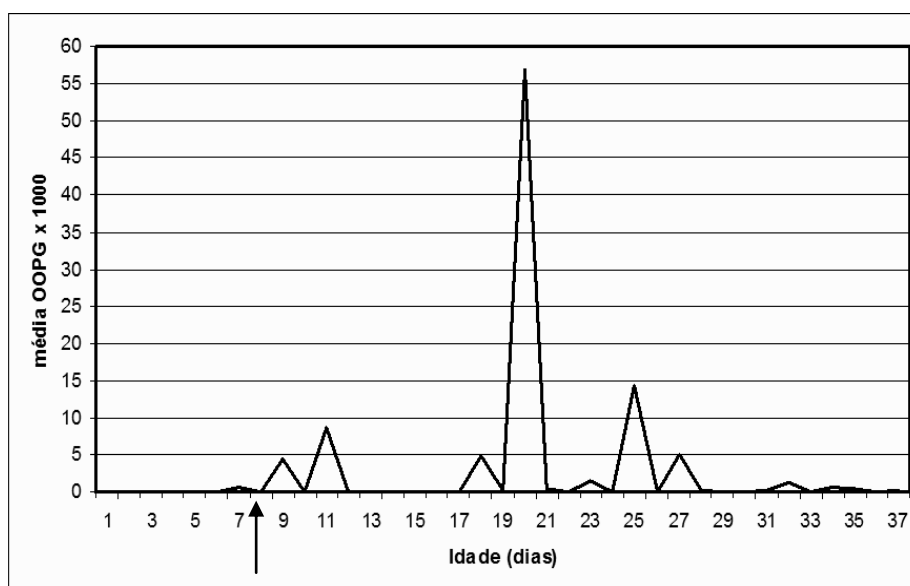


Gráfico 4 - Variação diária da contagem média de do número de oocistos de *Eimeria sp.*, por grama de fezes, em 10 bezerros bubalinos naturalmente infectados do 1º ao 64º dia de vida, tratados com dose única de toltrazuril (15 mg/Kg PC), via oral, em idade média de  $8,3 \pm 2,1$  dias (indicado pela seta), criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008.

No gráfico 4 observa-se um maior pico de eliminação de oocistos de *Eimeria sp.* no

intervalo compreendido entre o 19º e 21º dias de vida. Conforme observado em G2,

em G3, também foram observadas maiores eliminações de oocistos no intervalo de idade do 17<sup>o</sup> ao 30<sup>o</sup> dia de vida, seguidas de contagens médias inferiores (gráficos 3 e 4) ao observado em G1 (gráfico 2). Os

resultados da contagem média de OOPG nos animais que compuseram G4, em função da idade, estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7: Contagem média do número de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes, em função do tratamento, da idade dos animais, do número de animais avaliados e a frequência de animais positivos para cada idade, em 10 bezerros bubalinos, naturalmente infectados do 1<sup>o</sup> ao 48<sup>o</sup> dia de vida, tratados com toltrazuril (7,5mg/Kg PC), via oral, em idade 7,8±1,93 dias, criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008.

Tratamento	Idade	Média OOPG	Nº	Frequência (%)	Idade	Média OOPG	Nº	Frequência (%)
4	1	0.00±0.00	2	0	18	0.00±0.00	2	0
4	2	0.00±0.00	1	0	19	600.00±953.93	3	66
4	3	0.00±0.00	1	0	20	275.00±485.62	4	50
4	4	0.00±0.00	2	0	21	0.00±0.00	3	0
4	5	0.00±0.00	2	0	22	1300.00±1252.99	3	66
4	6	33.33±57.73	3	33	23	350.00±700.00	4	25
4	7	28800.00±49883.06	3	33	24	166.66±288.67	3	33
4	8	0.00±0.00	3	0	25	600.00±0.00	1	100
4	9	0.00±0.00	4	0	26	4700.00±8810.22	4	50
4	10	66.66±115.47	3	33	27	1666.66±1814.75	3	66
4	11	100.00±0.00	1	100	33	266.66±305.50	3	66
4	12	25.00±50.00	4	25	34	9725.00±19118.12	4	50
4	13	133.33±230.94	3	33	37	100.00±0.00	4	25
4	14	0.00±0.00	3	0	40	540.00±838.45	5	80
4	15	150.00±212.13	2	50	41	1250.00±1767.767		
4	16	0.00±0.00	3	0	44	375.00± 434.9329	4	50
4	17	0.00±0.00	3	0	48	1400.00± 1272.79	2	100

Os primeiros oocistos de *Eimeria sp.*, identificados nos animais que compuseram G4, foram eliminados por 3 animais com 6 dias de idade (tabela 7), semelhante ao já observado nos demais grupos avaliados quanto à eliminação precoce de oocistos de *Eimeria* pelas fezes. No primeiro mês de vida, as maiores eliminações de oocistos de *Eimeria sp.* ocorreram no intervalo de idade do 19<sup>o</sup> ao 27<sup>o</sup> e aos 34, 41, 44 e 48 dias (tabela 7). Foi observada uma menor frequência de animais positivos em G4, em relação a G1, e maior em relação a G2 e G3. A quantidade média de oocistos de *Eimeria sp.*, eliminados, nos animais de G4, foi inferior ao observado em G2 e G3, possivelmente por consequência de a contagem média de OOPG em G4, antes do tratamento dos animais, ser bastante inferior à de G2 e G3. Esperava-se encontrar uma maior redução do OOPG em G3 em relação a G4, tendo em vista que a principal diferença entre os grupos foi a maior

dosagem de medicamento utilizada nos animais em G3. A maior redução esperada em G3 pode não ter sido encontrada em função da dose administrada a G4 apresentar concentração, por kg de peso corpóreo, suficiente para atingir o nível terapêutico mínimo necessário para o controle da infecção já estabelecida por *Eimeria sp.* nos animais que compuseram G4, no momento em que foram medicados.

O estudo individual da resposta ao tratamento, mediante análise da presença de oocisto nas fezes de todos os animais que compuseram G4 demonstra que 20% (n=2) estavam positivos e 80% (n=8) negativos na primeira coleta, após o tratamento.

Posteriormente ao tratamento, os animais de G4 apresentaram condições clínicas semelhantes a G3 e fezes com consistência normal durante todo o período de análise. O



período médio de negatividade ao diagnóstico de oocisto nas fezes foi de  $9,37 \pm 7,37$  dias, com variação entre os animais de 3 a 22 dias.

Os resultados de G3 e G4 encontrados foram semelhantes ao descrito por Mundt (2003), Mundt (2005) e Epe et al. (2005) em bovinos e também por Ghanem (2008) em búfalos.

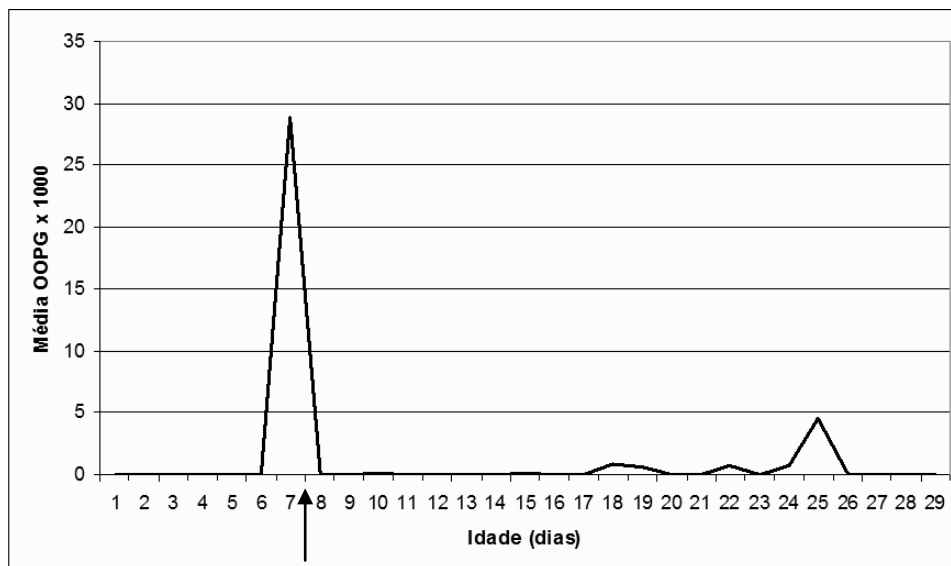


Gráfico 5 - Variação diária da contagem média do número de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes em 10 bezerros bubalinos naturalmente infectados do 1º ao 29º dia de vida tratados com toltrazuril (7,5mg/Kg PC), via oral, em idade  $7,8 \pm 1,93$  dias (indicado pela seta), criados no município de Oliveira – Minas Gerais.

No gráfico 5 destaca-se um pico de eliminação de oocistos no período compreendido entre o 6º e 8º dia de vida dos animais seguido de contagens baixas de OOPG com pico máximo de 5000 oocistos de *Eimeria sp.* do 24º ao 26º dia de vida.

Ao analisar os resultados de G3 e G4 (tabelas 6 e 7), verifica-se semelhança na dinâmica das variações na quantidade de

oocistos de *Eimeria sp.* eliminados com maior frequência de animais positivos em G4 em relação a G3. Conforme ocorrido em G2 e G3, ao comparar G4 e G1, nota-se um comportamento semelhante na eliminação de oocistos com maiores variações na quantidade de OOPG dos animais do 17º ao 26º dias de vida, seguidas da redução da intensidade de infecção nos animais durante todo o período após o tratamento (gráfico 5).

Tabela 8: Contagem média do número de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes em função do tratamento, da idade dos animais, do número de animais avaliados e a frequência de animais positivos, para cada idade em 10 bezerros bubalinos naturalmente infectados, do 1º ao 53º dia de vida tratados com amprólio (10,0 mg/kg PC), via oral, em idade de 7,4±0,91 dias, criados no município de Oliveira – Minas Gerais, 2008.

Tratamento	Idade	Média OOPG	Nº	Frequência (%)	Idade	Média OOPG	Nº	Frequência (%)
5	1	0.00±0.00	6	0	25	50,00±70.71	5	60
5	2	0.00±0.00	2	0	26	500,00±00.00	3	33
5	4	133,33±0.00	5	20	27	0,00±0.00	1	0
5	5	0.00±0.00	2	0	28	0,00±0.00	2	0
5	6	0.00±0.00	2	0	29	400,00±141.42	4	50
5	7	0.00±0.00	3	0	30	300.00±519.61	4	50
5	8	50.00±100.00	4	25	31	900,00±0.00	1	100
5	9	0.00±0.00	3	0	32	4850,00±6858,94	5	80
5	10	0.00±0.00	2	0	33	0,00±0.00	3	0
5	11	50.00±100.00	2	100	35	350.00±353.55	2	100
5	12	300.00±600.00	3	33	36	900,00±989,95	4	100
5	13	0.00±0.00	1	0	37	800,00±0.00	4	50
5	14	100.00±141.42	2	50	38	0,00±0.00	1	0
5	15	0.00±0.00	3	0	39	3450.00±5141.51	4	75
5	16	133,33±230.94	3	33	40	400.00±529.15	3	66
5	17	50.00±70.71	2	50	42	0,00±0.00	1	0
5	18	25.00±50.00	4	25	43	5000.00±4849.63	4	100
5	19	0.00±0.00	2	0	44	.412500±3940.70	4	100
5	20	0.00±0.00	1	0	46	5150.00±7514.65	4	75
5	21	200±0.00	1	100	47	4500.00±3716.18	3	100
5	22	333.33±493,24	4	25	50	350.00±353.55	2	100
5	23	225.00±386.22	4	50	51	4200.00±8400.00	4	25
5	24	0.00	1	0	53	150,00±212.13	2	50

Os primeiros oocistos de *Eimeria sp.*, identificados nos animais que compuseram G5, foram eliminados por 1 animal com 4 dias de idade (tabela 8), conforme observado em todos os grupos deste estudo.

No primeiro mês de vida, as maiores eliminações de oocistos de *Eimeria sp.* ocorreram no intervalo de idade do 22º ao 32º e do 43º ao 51º dias (tabela 8).

O estudo individual da resposta ao tratamento, através da análise da presença de oocisto nas fezes de todos os animais que compuseram G5, demonstra que 20% (n=2) estavam positivos e 80% (n=8)

negativos na primeira coleta após o tratamento.

A quantidade média de oocistos de *Eimeria sp.*, eliminados nos animais de G5 aumentou após o último dia de tratamento, semelhante ao ocorrido em G2. É possível observar nos intervalos subsequentes, pós-tratamento, que a média de OOPG foi nula e também que as médias diárias de OOPG foram baixas em relação ao grupo G1 (tabela 4). O amprólio atua sobre o esquizonte, 1º geração, o que permitiu que os oocistos, que se encontravam em estágios posteriores a esse, fossem eliminados no primeiro dia após o início da sequência de tratamento, seguido da nulidade de oocistos

nas fezes nos dias subsequentes. O retorno da positividade de alguns animais ocorreu simultaneamente com o término do tratamento, quando foi verificada alta frequência de animais positivos com

crescimento do número médio de OOPG eliminados. O período médio de negatividade ao diagnóstico de oocisto nas fezes foi de  $8,25 \pm 2,12$  dias, com variação entre os animais de 3 a 14 dias.

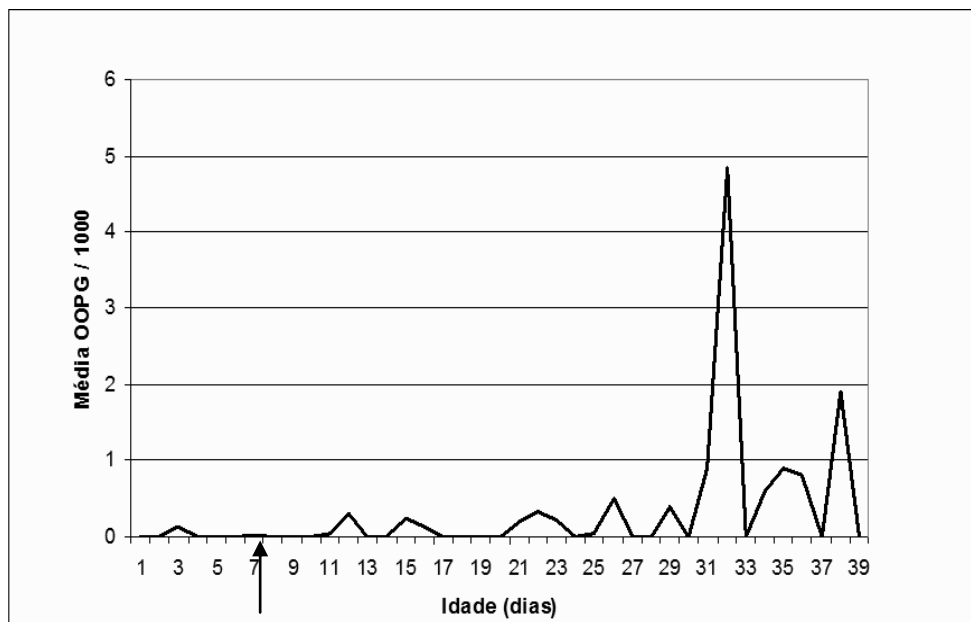


Gráfico 6 - Variação diária da contagem média do número de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes e a frequência de animais positivos em 10 bezerros bubalinos, naturalmente infectados do 1º ao 53º dia de vida, tratados com amprólio (10,0 mg/kg PC), via oral, em idade de  $7,4 \pm 0,91$  dias (indicado pela seta), criados no município de Oliveira – Minas Gerais.

No gráfico 6 é possível observar uma variação na eliminação de oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes, diferente da observada nos demais grupos. Picos de eliminação de oocistos foram observados após o 11º dia de vida dos animais e apresentaram maior intensidade após o 30º dia de vida.

Considerando que, para a formação dos grupos experimentais, utilizando a estrutura disponível, houve variações na idade dos animais no momento do tratamento, foi criada uma tabela a partir da análise da média semanal do número de OOPG em função da idade (tabela 9), objetivando melhor estudo da eficiência na redução do número de OOPG entre os tratamentos realizados.

Tabela 9: Contagem média semanal do número de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes dos bezerros bubalinos naturalmente infectados por *Eimeria sp.*, medicados e não medicados, integrantes de G1, G2, G3, G4 e G5, criados no município de Oliveira – Minas Gerais.

Semanas	G1	G2	G3	G4	G5
1	6,66±22,35	134,01±420,50	123,81±443,11	4119,05±18850,40	22,2±0,00
2	60,87±71,79	141,67±603,45	2214,44±5903,91	27,08±0,00	72,92±233,28
3	36477,71±35321,35	12752,62±25925,18	8848,57±42310,51	316,67±525,71	111,46±204,13
4	139309,70±341152,10	8985,71±15560,25	2714,37±6163,39	1783,33±4064,20	135,71±59,16
5	20262,75±31449,21	1166,67±2525,02	283,33±488,58	16,67±40,82	1900,00±0,00
6	6019,33±2042,33	1849,29±5280,77	704,76±1086,85	1150,00±565,68	4688,89±0,00

Ao analisar a tabela 9, verifica-se que em G1, G2, G3 e G4 houve um aumento progressivo do número de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes com maiores contagens na terceira e na quarta semana. Em G5 foram encontradas maiores concentrações de OOPG na quinta e sexta semanas. Até a quinta semana de vida, os animais de G3 apresentaram uma contagem média de OOPG maior em relação a G4, após esse período, a contagem média do OOPG em G4 passou a ser maior em relação a G3, permanecendo assim durante todo o período posterior de análise.

A maior concentração de toltrazuril por quilo de peso corporal administrada a G3, em relação a G4, garantiu níveis plasmáticos mínimos da droga suficientes para atuar sobre a multiplicação de *Eimeria* por um período superior, mantendo dessa forma uma menor eliminação de oocistos após a quinta semana.

Foi observada em todos os grupos a redução da contagem média de OOPG posterior ao tratamento dos animais seguido de aumento após a sexta semana. É provável que esse resultado observado na sexta semana se deva à redução dos níveis séricos das drogas utilizadas.

Conforme descrito na literatura para bovinos e búfalos, as infecções naturais por *Eimeria sp.* normalmente são multiespecíficas e a participação das diferentes espécies na infecção dos animais varia em detrimento do desenvolvimento de resposta imunológica específica. As variações na eliminação de oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes, com redução gradual do número de OOPG, está ligado ao desenvolvimento da resposta imunológica dos animais para as diferentes espécies, frente ao desafio parasitário constante, conforme comprovado na espécie bovina por Levine e Ives, (1973); Sanyal et al. (1985) e Daugschies (2005).

### 5.5 Identificação das espécies de *Eimeria sp.* na etapa 2

Está apresentada no gráfico 7 a variação semanal da frequência das espécies de *Eimeria sp.* identificadas nas fezes no ano de 2008 que é semelhante ao observado em 2007. Destaca-se que as espécies de *Eimeria sp.* identificadas, após o retorno da positividade de oocistos nas fezes dos animais medicados, foram as mesmas encontradas nos animais de G1 em mesma idade.

Tabela 10: Frequência das espécies de Eimeria sp. presentes nas fezes de bezerros búfalos do 6º ao 61º dia de vida criados no município de Oliveira – MG expostos a infecção natural em 2008.

Idade (dias)	<i>Eimeria auburnensis</i>	<i>Eimeria Baireilyi</i>	<i>Eimeria Bovis</i>	<i>Eimeria canadensis</i>	<i>Eimeria cylindrica</i>	<i>Eimeria ellipsoidalis</i>	<i>Eimeria subspherica</i>	<i>Eimeria Zuernii</i>
6	13.33±22.23	33.33±51.79	00,00±1.73	19.00±32.90	18.33±31.75	0.00±0.00	0.00±0.00	10.00±17.32
8	0,00±0.00	3.00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	92.00±0.00	5.00±0.00
10	0,00±0.00	100,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00
11	0,00±0.00	50,00±0.00	50,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00
12	0.00±0.00	94.00±8.48	6.00±8.48	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
13	0.00±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
14	1.00±1.41	55.50±62.93	3.50±4.94	1.00±1.41	0.00±0.00	0.00±0.00	12.00±16.97	27.00±38.18
16	0.00±0.00	53.00±39.35	12.75±12.25	0.00±0.00	0.50±1.00	16.50±33.00	4.50±6.60	12.75±25.50
17	0.00±0.00	58.00±11.31	17.00±24.04	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	25.00±35.35	0.00±0.00
18	0.50±1.00	34.50±38.17	11.25±12.99	6.50±13.00	0.00±0.00	23.75±47.50	3.75±7.50	16.75±30.25
19	2.20±4.91	73.60±24.31	12.40±11.80	0.00±0.00	0.00±0.00	6.60±14.75	0.00±0.00	5.20±9.54
20	0.00±0.00	79.00±18.52	20.00±17.43	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.33±0.57	0.66± 1.15
21	0.42±1.13	52.57±34.81	27.00±30.63	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	10.00±26.45	10.00±12.63
22	0.33±0.81	69.00±23.29	21.83±20.79	0.00±0.00	0.00±0.00	1.00±1.67	1.83±4.02	6.00±9.77
23	0.00±0.00	75.00±37.23	7.83±9.04	0.00±0.00	0.00±0.00	0.66±1.63	16.50±38.49	0.00±0.00
24	0.00±0.00	31.50±4.94	35.00±42.42	0.00±0.00	1.50±2.12	16.50±23.33	0.50±0.70	15.00±21.21
25	0.00±0.00	58.57±28.52	29.57±26.63	0.00±0.00	0.00±0.00	0.14±0.37	2.42±4.89	9.28±20.29
26	5.50±13.47	53.33±35.26	29.33±28.23	0.00±0.00	0.66±1.63	0.00±0.00	0.00±0.00	11.16±27.35
27	0.00±0.00	33.25±33.38	21.50±20.87	0.00±0.00	0.00±0.00	13.25±24.54	15.50±31.00	16.50±19.07
28	4.00±6.92	32.00±27.18	34.33±30.66	0.00±0.00	5.00±8.66	3.66±6.35	0.66±1.15	20.33±35.21
29	1.66±2.88	61.33±10.21	28.66±13.57	7.33±12.70	0.00±0.00	0.00±0.00	1.00±1.73	0.00±0.00
30	1.16±1.94	66.33±13.12	25.33±14.54	0.00±0.00	0.00±0.00	0.50±0.83	4.00±5.32	0.00±0.00
31	0.00±0.00	16.00±30.68	9.50±19.00	0.00±0.00	4.75±9.50	18.25±29.05	32.66±49.81	27.00±36.27
32	0.00±0.00	11.75±12.68	15.75±26.43	17.25±22.76	0.00±0.00	13.50±11.70	13.00±11.37	28.75±35.26
33	0.00±0.00	9.50±19.00	12.50±25.00	1.66±2.88	3.00±4.76	32.25±29.63	12.75±12.57	28.75±25.82
34	42±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	50±0.00	8±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00	0,00±0.00
35	0.00±0.00	66.50±47.37	29.50±41.71	4.00±5.65	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
36	13.33±23.09	6.66±11.54	13.33±23.09	11.33±19.62	2.50±3.53	15.33±15.01	18.00±17.08	20.33±22.81
37	9.00±12.72	0.00±0.00	31.00±8.48	16.50±23.33	0.00±0.00	15.50±3.53	0.00±0.00	28.00±31.11
38	0.00±0.00	17.50±17.67	35.50±48.79	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	14.50±20.50	32.50±45.96
39	10.00±18.48	39.14±39.14	15.57±18.83	17.28±26.24	1.85±4.91	3.71±7.52	1.66±2.65	11.00±18.61
40	3.25±6.04	25.25±35.02	12.12±13.30	20.12±32.98	0.62±1.40	8.87±16.36	8.00±17.66	16.50±17.02

continua

continuação

Idade (dias)	<i>Eimeria auburnensis</i>	<i>Eimeria Baireilyi</i>	<i>Eimeria Bovis</i>	<i>Eimeria canadensis</i>	<i>Eimeria cylindrica</i>	<i>Eimeria ellipsoidalis</i>	<i>Eimeria subspherica</i>	<i>Eimeria Zuernii</i>
41	5.00±8.66	19.66±34.06	3.66±5.50	65.66±30.08	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	6.00±10.39
42	1.50±2.12	30.50±36.06	19.00±26.87	0.00±0.00	0.00±0.00	5.00±7.07	28.00±35.35	16.00±22.62
43	0.75±1.50	30.00±39.79	20.75±22.41	18.66±25.48	1.50±3.00	17.25±15.39	11.75±23.50	4.00±8.00
44	22.42±32.97	11.42±23.28	8.28±14.67	22.71±40.08	3.71±6.57	14.85±20.55	2.85±7.55	13.71±17.85
45	3.00±5.19	13.66±23.67	23.00±25.51	32.66±47.07	5.66±9.81	5.66±9.81	1.33±2.30	15.00±25.98
46	14.66±25.40	0.00±0.00	0.00±0.00	22.00±38.10	3.33±5.77	10.66±18.47	16.00±16.09	29.66±27.75
47	7.28±19.27	19.16±33.49	21.57±36.86	31.85±45.09	1.00±2.64	10.83±14.26	3.42±9.07	9.14±17.85
48	0.00±0.00	2.00±4.47	2.80±6.26	18.40±35.81	3.60±8.04	24.60±11.30	5.75±6.94	44.00±32.21
49	33.50±47.37	16.50±23.33	0.00±0.00	47.50±67.17	0.00±0.00	2.50±3.53	0.00±0.00	0.00±0.00
51	0.00±0.00	0.00±0.00	30.00±28.28	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	22.50±31.81	47.50±3.53
52	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	31.00±0.00	6.00±0.00	63.00±0.00
53	0.00±0.00	16.33±28.29	12.33±21.36	19.00±32.90	0.00±0.00	11.66±20.20	34.33±29.14	6.33±6.02
57	12.00±11.31	0.00±0.00	2.00±2.82	2.00±2.82	0.00±0.00	20.00±28.28	37.00±24.04	27.00±9.89
59	19.00±26.87	0.00±0.00	5.50±7.77	37.50±19.09	0.00±0.00	4.00±5.65	5.50±7.77	28.50±2.12
61	23.00±2.82	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	12.50±17.67	20.00±7.07	44.50±27.57

Em relação às espécies de *Eimeria* identificadas neste trabalho, *E. auburnensis*, *E. baireilyi*, *E. bovis*, *E. canadensis*, *E. elypsoidalis*, *E. cylindrica*, *E. subspherica*, *E. zuernii*, somente a espécie *E. bareillyi* não foi encontrada por Rebouças e colaboradores (1990) e por Cabral (1987) (dados não publicados). A espécie *E.*

*wyomingensis* descrita por Cabral (1987) (dados não publicados), a espécie *E. bukidonensis* descrita por Rebouças e as espécies *E. ankarensis*, *E. alabamensis* e *E. brasiliensis* descritas por Nalbantoglu et al. (2008), não foram encontradas neste trabalho.

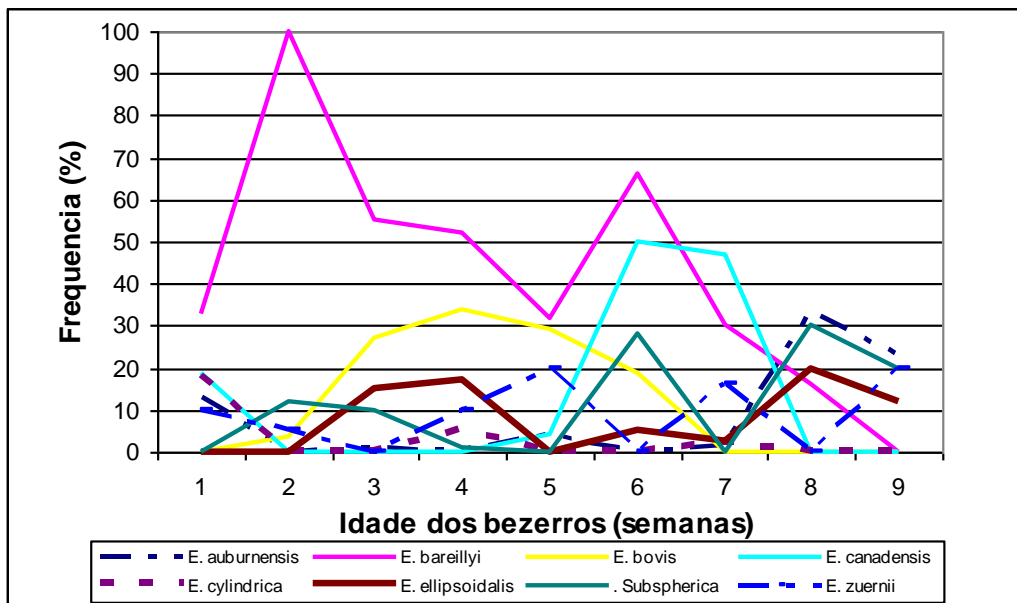


Gráfico 7 - Variação semanal da frequência das espécies de *Eimeria* sp. identificadas nas fezes dos bezerros do 6º ao 61º dia de vida criados no município de Oliveira, MG naturalmente infectados no ano de 2008.

A primeira espécie identificada nas fezes, a *E. bareillyi*, foi gradualmente substituída pelas espécies *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. canadensis*, *E. subspherica*, *E. ellipsoidalis*, *E. auburnensis* e *E. cylindrica*, semelhante ao ocorrido na etapa 1. A *Eimeria bareillyi* foi a primeira espécie identificada nas fezes dos bezerros, permanecendo como única espécie presente do 1º ao 13º dia de vida (gráfico 7, tabela 10). Com o avançar da idade dos animais, houve uma progressiva mudança na frequência das espécies de eiméria identificadas. Com o declínio da participação de espécie *E. bareillyi*, por consequência da ação da resposta imune desenvolvida pelos animais à infecção por *Eimeria* sp. (Sanyal et al., 1985; Behrendt et al, 2008; Taubert et al., 2009, ), destacaram-se na infecção dos animais as espécies *E. bovis*, *E. subspherica*, *E. ellipsoidalis* e *E. zuernii*. Foram identificadas também as espécies *E. auburnensis*, *E. canadensis* e *E. cylindrica* em menores proporções e aparentemente com menor participação no desenvolvimento de doença clínica.

Os diagnósticos da presença de *E. bareillyi* realizados neste trabalho vão de encontro

com os demais autores que avaliaram a presença de *Eimeria* sp. em bezerros jovens (Cringoli et al. 1995; Bastianetto et al., 2008; e Dubey et al., 2008). As espécies de *Eimeria* ora identificadas em bezerros bubalinos foram também diagnosticadas na Turquia por Nalbantoglu et al. (2008), na Itália por Cringoli et al.(1995) e na Índia por Bhatia (1992).

Conforme descrito por Dauschies (2005) em bovinos, foi possível confirmar também nos bubalinos que, após uma primo-infecção por *Eimeria*, os animais podem estar protegidos e não apresentar manifestações clínicas da doença nas reinfecções. Considerando que a infecção ocorreu de forma natural e que os animais permaneceram susceptíveis à reinfecção, à variação na participação das espécies de *Eimeria*, diagnosticadas nas fezes dos bezerros, permitiu identificar a evolução da resistência imunológica dos animais às espécies diagnosticadas.

Os oocistos não esporulados, identificados nas fezes dos bezerros nos primeiros dias de vida, pertenciam a todas as espécies

identificadas ao longo do trabalho e comprovam o contato precoce dos animais com oocistos esporulados de espécies do gênero *Eimeria*. Essa observação destaca a menor capacidade das espécies, *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. subspherica*, *E. ellipsoidalis* e *E. zuernii*, em estabelecer infecção no trato gastrointestinal de búfalos recém nascidos, reforçando a especificidade e importância da *E. bareillyi* como parasito adaptado à espécie bubalina.

É esperado que a maior capacidade de infecção que a espécie *E. bareillyi* apresenta para infectar búfalos, em relação as demais espécies de *Eimeria*, já diagnosticadas nesta espécie animal, seja consequência da presença de receptores de superfície específicos localizados no intestino delgado de bezerros búfalos que facilitem a infecção dos animais por *E. bareillyi*.

As alterações observadas na consistência das fezes dos animais seguiram uma ordem em função da idade dos animais à infecção, intensidade de eliminação de oocistos e espécies diagnosticadas. A espécie *E. bareillyi* foi o principal agente parasitário responsável pela consistência fluida das fezes observada entre o 3º e 9º dia de vida dos bezerros. Gill et al. (1963) já citava que essa espécie aparentava ter alta patogenicidade e ciclo de desenvolvimento rápido com eliminação de até 1,9 milhões de oocistos por grama de fezes. Ao analisar o processo de infecção e a sucessão das espécies, identificadas nas fezes dos animais após a segunda semana de vida, nota-se que houve uma gradual mudança na proporção entre as espécies *E. bareillyi* e *E. bovis*, acompanhada da alteração de consistência fecal. No intervalo entre o 10º e 13º dia de vida, época em que ambas as espécies estavam presentes no TGI, a consistência fecal observada variou de aquosa para mole.

Utilizando a idade como parâmetro, é possível estabelecer correlações entre a idade, a presença e quantidade de oocistos nas fezes, a consistência das fezes e a(s) espécie(s) de *Eimeria* identificadas. Dessa

forma foi observada a seguinte evolução na consistência das fezes com maior participação das respectivas espécies de *Eimeria* no processo infeccioso: consistência fluida do 3º ao 9º dia de vida (*E. bareillyi*), mole entre o 10º e 13º (*E. bareillyi* e *E. bovis*), mole para aquosa do 17º ao 21º dia (*E. bareillyi*, *E. bovis* e *E. subspherica*), aquosa e eventualmente com presença de sangue e muco do 19º ao 25º dia (*E. bareillyi*, *E. bovis* e *E. subspherica*), amolecidas do 36º e 39º dia (*E. auburnensis*, *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. canadensis*, *E. zuernii* e *E. subspherica*).

A maior concentração por espécie, respectivamente para as espécies *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. zuernii*, *E. canadensis*, *E. subspherica*, *E. ellipsoidalis*, *E. auburnensis* e *E. cylindrica*, ocorreu nos períodos compreendidos entre o 4º ao 26º, 27º ao 30º, 40º e 49º, 51º e 57º, 43º e 48º, 34º e 39º e 31º e 36º dia de vida. As espécies *E. bareillyi* e *E. bovis* apresentaram maior prevalência e foram diagnosticadas durante todo o período de análise.

Conforme relatado por Parveen e Ahuja (1998), os bezerros bubalinos estão mais susceptíveis à infecção por diversos microrganismos após o nascimento em relação aos bezerros bovinos, por consequência do tempo reduzido de absorção das imunoglobulinas, presentes no colostro. Associado a isso, o agravante da infecção precoce dos bezerros por parasitos do gênero *Eimeria* que enfraquecem os animais (Ahmed, 2007) e estabelecem o quadro de inapetência, desidratação e fraqueza, observados nos bezerros estudados e previamente descritos por Bathia (1992). As condições ambientais com elevada umidade e sombra, determinadas pelo local onde foram naturalmente selecionados (Zicarelli, 2001), e necessárias em rebanhos de búfalos, por fornecer o bem-estar dos animais, favorecem também a sobrevivência de agentes infecciosos e o estabelecimento de infecções por *Eimeria sp.* nos animais.

Animais com idade superior a 13 dias de vida manifestam alterações clínicas de



apatia, redução ou ausência de apetite, hipertemia e desidratação, de acordo com sintomas já descritos por Láu (1992). Temperatura corporal elevada, próxima a 40º Centígrados, foi encontrada nos animais com idade entre o 25º e 30º dia de vida, acompanhada de sintomas clínicos de dor abdominal, inapetência, fraqueza e desidratação.

A ingestão de oocistos infectantes de *E. bareillyi* por animais jovens provocou graves lesões no ID, principalmente na região do íliaco (figura 2). A análise dos cortes histológicos de tecidos do íleo, coletados no animal necropsiado, revelou lesões similares às descritas por Pande et al. (1971) e Sanyal et al. (1985) confirmando a patogenicidade de *E. bareillyi* na infecção de bezerros bubalinos. Foi encontrada eliminação de grande concentração de oocistos de *E. bareillyi* nas fezes de bezerros, após o 12º dia de vida. Caso os animais tenham ingeridos oocistos esporulados dessa espécie, no primeiro dia de vida, através do contato com tetos e úbere contaminados no momento da ingestão de colostro, notifica-se que o período pré-patente encontrado é menor em relação ao descrito por Sanyal et al. (1985).

As lesões intestinais que determinaram alterações de consistência fecal com a presença de muco e sangue, do 17º ao 25º dia de vida, foram causadas pelo desenvolvimento de merogonia da espécie bovis, conforme descrito na literatura em bovinos (Fernando, 1993), tendo em vista que, do 24º ao 30º dia, a espécie *E. bovis* foi diagnosticada nas fezes dos bezerros em maiores proporções. As alterações observadas nas fezes de animais, com idade próxima ao 30º dia de vida, resultam da ação principal da espécie *E. zuernii* haja vista a dominância dessa espécie sobre as demais do 24 ao 30º dia.

Ainda que a *E. bovis*, de conhecida patogenicidade também para bubalinos (Pande, et al. 1971), tenha sido diagnosticada, associada a sintomas a partir do intervalo entre 13 e 16 dias de idade dos bezerros, sua frequência permaneceu sempre numericamente inferior a *E. bareillyi*. Não foram observadas lesões de ceco e cólon do animal necropsiado, locais de sua distribuição, o que reforça a ação patogênica da *E. bareillyi*. Considerando-se o alto potencial biótico da *E. bareillyi*, a debilidade dos animais intensamente parasitados por ela, decorrente da redução na capacidade digestiva e desidratação, destaca-se a importância dessa espécie no desenvolvimento de uma enteropatia grave em bezerros bubalinos (Bastianetto, et al., 2008).

Em relação às espécies de *Eimeria* identificadas neste trabalho, somente a espécie *E. bareillyi* não foi encontrada por Rebouças et al. (1990) e por Cabral (1987) (dados não publicados). As espécies *E. wyomingensis* descritas por Cabral (1987) (dados não publicados) e a espécie *E. bukidonensis* descrita por Rebouças não foram, também, diagnosticadas neste trabalho.

### 5.6 Resultados e Discussão – Etapa 3

O fornecimento de decoquinato na dieta de G6 foi responsável pelo controle da infecção por *Eimeria sp.* presente nos animais. No 16º dia, após o início do fornecimento do medicamento aos animais, não foram diagnosticados oocistos de *Eimeria* nas fezes de todos os bezerros que compuseram o grupo (tabela 11). Os bezerros permaneceram negativos ao exame de diagnóstico de OOPG até o 28º dia de vida e apresentaram consistência fecal normal e condições clínicas melhores e em relação ao G7.

Tabela 11: Contagem média do número de oocistos de *Eimeria sp.* por grama de fezes de bezerros bubalinos, criados no município de Oliveira – MG, naturalmente infectados com idade média aproximada de 150 dias, tratados com decoquinato (0,5 mg /kg de PV) (G6) e não tratados (G7), 2008.

Grupo	Animais	Média de OOPG (dia -14)	Média de OOPG (dia 0)	Média de OOPG (dia +16)	Média de OOPG (dia +28)
6	14	2378.57±5521.31 <sup>a</sup>	1171.42±3105.93 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>c</sup>
7	14	1157.14±1871.53 <sup>a</sup>	1478.57±2510.95 <sup>a</sup>	541,67±414,42 <sup>b</sup>	478.57±467.69 <sup>d</sup>

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

As contagens médias de oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes dos bezerros de G6 e G7 (tabela 12), comprovam a eficácia do decoquinato na dosagem de 0,5 miligramas por quilograma de peso corporal para a redução da infecção.

Foi possível quantificar a interferência da inclusão do decoquinato, na dieta sobre o ganho de peso, em animais portadores de infecção crônica por *Eimeria sp.* através da

comparação com o desenvolvimento de animais infectados e não tratados. A análise dos resultados obtidos em G6 (tabela 12) permite afirmar que o fornecimento de decoquinato na dosagem de 0,5mg/kgPC, durante o período de 28 dias, não interferiu de forma significativa ( $p < 0,005$ ) no incremento ponderal dos animais, haja vista a ausência de diferença no peso final dos animais de G6 e G7.

Tabela 12: Peso corporal médio de bezerros bubalinos, criados no município de Oliveira – MG, naturalmente infectados por *Eimeria sp.*, com idade média aproximada de 150 dias, tratados com decoquinato (0,5 mg /kg de PV) (G6) e não tratados (G7), nos dias -14, 0 e 28, em relação ao início do tratamento, 2008.

Tratamento	Animais	Peso dia -14	Peso dia 0	Peso dia +28
6	14	127.32±17.77 <sup>a</sup>	133.89±18.53 <sup>a</sup>	153.85±21.53 <sup>a</sup>
7	14	130.17±20.14 <sup>a</sup>	134.44±22.01 <sup>a</sup>	150.30±26.60 <sup>a</sup>

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Os animais de G6 que haviam sido medicados com droga anticoccídia na primeira semana de vida (G6A), apresentaram ganho de peso médio ao final do período de análise de 19,85 kg, semelhante ao observado nos animais que

não foram medicados com droga anticoccídia, na primeira semana de vida (G6B), que apresentaram um ganho peso médio ao final do período de análise de 20,25 kg.

Tabela 13: Peso médio de bezerros bubalinos (Kg) criados no município de Oliveira – MG, naturalmente infectados por *Eimeria sp.*, com idade média aproximada de 150 dias, medicados (G6A e G7A) e não medicados (G6B e G7B) na primeira semana de vida, tratados com decoquinato (0,5 mg /kg de PV) (G6) e não tratados (G7) nos dias -14 e 28, em relação ao início do tratamento, 2008.

Tratamento	Animais	Peso no dia -14	Peso no dia - 0	Peso no dia - 28
G6A	10	136,85	140,35	160,20
G6B	4	113,5	117,75	138,00
G7A	10	133,75	142,12	159,59
G7B	4	111,25	115,25	127,07

Em G7 os animais que haviam sido medicados com droga anticoccídia na primeira semana de vida (G7A), apresentaram um ganho peso médio ao final do período de análise de 17,47 kg, superior ao ganho peso médio final dos animais que não foram medicados com droga anticoccídia na primeira semana de vida (G7B) de 12,45 kg. A diferença de 5,02 kg, no ganho de peso entre G7A e G7B, representa 28,73% sobre o incremento de G7A (tabela 13). Apesar do pequeno número de animais utilizados nessa comparação, esse resultado quantifica o impacto das lesões do trato gastrointestinal desenvolvidas pela infecção por *Eimeria* sp. em búfalos recém-nascidos, comprovando a necessidade do controle dessa doença, para maximizar o desenvolvimento dos bubalinos.

A administração de decoquinato foi importante para a saúde dos animais, haja vista que a ausência de decoquinato na dieta de G7 permitiu que os animais mantivessem a infecção por *Eimeria* sp. e apresentassem diarreia. A presença da infecção por *Eimeria* sp. em G7 interferiu no processo normal de digestão (HERDT, 2004) conforme relatado por Bathia (1992) e Ahmed (2007).

A análise das informações obtidas através do exame de OOPG, do diagnóstico das espécies de *Eimeria* sp. antes e após os tratamentos, da interpretação de manifestações clínicas nos animais e da taxa de mortalidade de bezerros, foi possível avaliar a eficiência das intervenções medicamentosas testadas. Todos os medicamentos, com suas respectivas posologias de administração, foram eficientes na redução da contagem de OOPG.

Os resultados dos exames de OOPG comprovaram o alto grau de susceptibilidade a que os bezerros búfalos recém-nascidos, criados em condições ambientais semelhantes à deste estudo, estão expostos.

Os tratamentos terapêuticos associados ao de suporte para a recuperação dos animais

apresentaram eficiência superior a 90%. Durante todo o período em que os animais foram acompanhados, não foram encontrados ovos de helmintos nas fezes, o que demonstra a eficiência da prática de desverminação proposta e, também, a ausência ou pouca participação de nematóides no processo de gastroenterite observado.

Os resultados encontrados neste trabalho vão ao encontro dos achados de Ghanem et al. (2008), em que foram observados melhores resultados no controle da infecção por *Eimeria* sp. no grupo de animais tratados com toltrazuril.

## 6 DISCUSSÃO

Os resultados encontrados foram demonstrados separadamente para facilitar a compreensão do leitor. Será apresentada a seguir uma análise geral das observações realizadas durante todo o período experimental, com o intuito de uni-las aos conhecimentos sobre a doença em estudo, para formar uma análise do autor sobre a doença em búfalos.

As particularidades da espécie bubalina contribuem para o estabelecimento de graves processos infecciosos por parasitos do gênero *Eimeria*, de forma que a eimeriose é considerada por autores de todo o mundo como a doença de maior prevalência nos casos de óbito dos animais jovens. Os atuais níveis de produtividade exigidos e apresentados pela espécie bubalina determinam que os búfalos sejam criados em condições ambientais que limitem o estresse térmico a que essa espécie está susceptível nas áreas tropicais. Ao propiciar condições favoráveis para a produção bubalina, cria-se também um ambiente propício para a sobrevivência de oocistos infectantes de *Eimeria* sp. e sua transmissão para os animais ali presentes.

Além das características reprodutivas da espécie bubalina, que determinam a concentração dos nascimentos de bezerros no período de grande pluviosidade, identificaram-se, também, como agravantes

para o estabelecimento da infecção por *Eimeria sp.*, o manejo de ordenha adotado na maioria dos rebanhos de búfalas leiteiras, a dificuldade de separação dos bezerros em função da faixa etária, o acúmulo de animais nos momentos precedentes às ordenhas e a ausência de produtos complementares específicos para búfalos.

A presença dos bezerros no momento da ordenha é necessária para que ocorra a liberação de ocitocina, uma vez que é permitida uma primeira mamada do bezerro no teto da búfala. Essa primeira mamada dos bezerros nas búfalas habitualmente ocorre com os tetos ainda sujos, o que faz do teto da búfala, quando contaminado, um veículo para a ingestão constante de oocistos e demais patógenos que podem estar presentes.

A dificuldade de separação dos animais, por faixa etária e acúmulo desses animais, no momento precedente às ordenhas, permitem que animais portadores de *Eimeria sp.* mantenham o ambiente contaminado e propício à ocorrência de re-infecção dos animais mais jovens de maior susceptibilidade. A ausência de suplementos minerais que atendam à necessidade de sódio e demais elementos necessários para a boa nutrição dos bezerros, causa a carência e estimula a lambadura de superfícies potencialmente contaminadas, como chão e paredes.

Os fatores envolvidos na infecção desenvolvida pelos animais, após a ingestão de oocistos esporulados de *Eimeria sp.* por bezerros recém-nascidos da espécie bubalina, merecem uma análise ampla para esclarecimento dos principais pontos de ação quanto ao controle desta doença.

Foi diagnosticada a presença de oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes de animais, após o segundo dia de vida. Esse achado foi inesperado, pois se propõe a análise dos resultados a partir dos conhecimentos desenvolvidos até então, utilizando a espécie bovina como modelo experimental. Como instrumento científico, para explicar

esse fato, foram tomados os conhecimentos existentes, em que se avalia a possibilidade de passagem direta pelo trato gastrointestinal dos bezerros de oocistos não infectantes que poderiam estar presentes na infecção natural avaliada e, também, a possível ação de fatores inibidores da tripsina presentes no colostro, nas primeiras horas pós parto. A ação dos fatores inibidores da tripsina pode anular o processo natural de ruptura do esporocisto mediante ação da tripsina de forma que seja identificada a presença de oocistos esporulados nas fezes dos animais. Os resultados das análises realizadas neste trabalho comprovam a interferência desses fatores, dado o diagnóstico de oocisto de *Eimeria sp.* nas fezes dos animais, antes da primeira semana de vida, em todos os grupos experimentais

A identificação das espécies de *Eimeria* e a variação na proporção de cada espécie, com o aumento da idade dos animais, ocorreram conforme descrito na literatura. Dentre as espécies identificadas, destacou-se a espécie *E. bareillyi* pela precocidade de diagnóstico e quantidade de oocistos eliminados. Em média houve grandes eliminações de amostras puras de *E. bareillyi* no 14º dia de vida dos animais, sendo ela a única espécie diagnosticada na primeira semana de vida, em quase a totalidade das amostras e fezes analisadas. Ainda não foi bem definida a patogenicidade da espécie *E. bareillyi* na infecção de bezerros búfalos, apesar de seu envolvimento em vários relatos técnicos, em casos de óbito desses animais. Está sendo atribuída à espécie *E. bareillyi* a função de ser responsável, também, pelo agravamento da infecção por outras espécies de *Eimeria* sabidamente patogênicas e presentes nas infecções diagnosticadas, como *E. bovis* e *E. zuernii*, haja vista que essa é a única espécie de *Eimeria* que parasita somente búfalos e está mais adaptada na infecção dessa espécie animal. Nos óbitos que ocorreram durante o trabalho e nos momentos em que foram observadas alterações clínicas de maior intensidade, estiveram presentes várias espécies de *Eimeria* no processo infeccioso.

Para determinar o momento do tratamento dos animais no ano de 2008, em 2007, foi realizado o estudo epidemiológico do processo de infecção natural dos bezerros búfalos por *Eimeria sp.*, criados nas mesmas condições. Entende-se por tratamento metafilático a medicação de animais positivos para alguma infecção antes da manifestação clínica dos sintomas específicos da doença, já instalada. Após o estudo dos determinantes da infecção dos animais, foi estabelecido que fosse avaliada a eficácia do tratamento metafilático dos animais com drogas de diferente mecanismo de ação e posologia em animais com os sete dias de idade ou idade mais próxima dessa, em função da disponibilidade de animais. Através das contagens de OOPG nas fezes dos animais, antes e após o tratamento da análise da consistência das fezes e manifestações clínicas decorrentes da infecção por *Eimeria* e da exequibilidade do tratamento proposto, foram avaliados os tratamentos.

As lesões macroscópicas, e por meio da histopatologia observadas no intestino delgado dos animais, comprovam a gravidade das lesões causadas na infecção por *Eimeria sp.* em búfalos recém-nascidos expostos à infecção natural. Foram observadas todas as formas evolutivas do ciclo de *Eimeria sp.* em animais com menos de 30 dias de idade, o que reforça a ocorrência de infecção nos animais ainda na primeira semana de vida.

As drogas sulfaquinoxalina sódica, toltrazuril e decoquinato, foram eficientes para o controle da infecção dos animais por *Eimeria sp.*, face à ausência de óbitos ocorridos após o início dos tratamentos, a redução nas contagens de OOPG e ausência de manifestações clínicas severas conforme observado no ano de 2007. A comparação da eficácia entre as drogas permitiu concluir que o toltrazuril e o amprólio, apresentaram melhores resultados frente à sulfaquinoxalina, sendo o toltrazuril a droga de escolha pela praticidade do tratamento e melhora clínica dos animais, principalmente nos que apresentavam a doença em estado mais avançado.

Nos animais do grupo controle e nos medicados, foram encontradas variações individuais para a infecção por *Eimeria sp.* Em todos os grupos avaliados, foram também verificadas variações individuais em que o período de negatividade, para o diagnóstico de oocistos de *Eimeria sp.* nas fezes, foi bastante variável. A verificação da existência de indivíduos naturalmente mais resistentes a essa infecção, conforme também é observado em outras infecções parasitárias, sugere a identificação desses indivíduos e inclusão dessa característica nos modelos de seleção e melhoramento genético.

Para que ocorra um efetivo controle do impacto da infecção de búfalos recém-nascidos, criados em condições que permitam a infecção por *Eimeria sp.*, é necessário utilizar droga anticoccídia associada às intervenções ambientais e de manejo no sistema produtivo.

## 7. CONCLUSÕES

- É imperativo que técnicas de manejo de bezerros bubalinos sejam adotadas para minimizar a exposição e possibilidade de infecção por *Eimeria* nas propriedades.
- Foram identificadas oito espécies de *Eimerias*: *E. auburnensis*; *E. bovis*; *E. cylindrica*; *E. bareillyi*; *E. zuernii* *E. ellipsoidalis*; *E. subsferica*; *E. canadensis* infectando bezerros búfalos.
- A prevalência de infecção por *Eimeria sp.* foi de 100% no rebanho avaliado.
- A fase crítica na infecção ocorre ao redor da quarta semana de vida dos animais.
- A espécie *Eimeria bareillyi* aparentemente potencializa a patogenicidade da *E. bovis* e *E. zuernii*, o que interfere significativamente no desenvolvimento dos animais por elas parasitados.

- Os esquemas terapêuticos adotados produziram efeitos metafiláticos satisfatórios.
- As drogas nas posologias utilizadas foram seguras para os animais e eficientes no controle da infecção de bezerros bubalinos por *Eimeria sp.*
- O tratamento dos animais com toltrazuril, via oral, na dosagem única de 15 mg/kg de peso corporal ao sétimo dia de vida em bezerros bubalinos, expostos à infecção natural por *Eimeria sp.*, apresentou melhor eficiência em relação aos demais protocolos avaliados.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- AGRAWAL, R. D.; SINGH, R. Viability of coccidian oocysts of buffaloes under different physical and chemical conditions *Journal of Veterinary Parasitology*. v. 20, n. 1, 2006.
- AHMED, W.M; HASSAN, S. E. Applied Studies on Coccidiosis. In: Growing Buffalo-Calves with Special Reference to Oxidant/Antioxidant Status *World Journal of Zoology* v.2, n.2, p. 40-48, 2007.
- AMARAL, F. R.; CARVALHO, L. B.; SILVA, N. *et al.* Qualidade do leite de búfalas: composição. *Rev. Bras. Reprod. Anim*, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.106-110, 2005.
- BARBOSA, J. D.; OLIVEIRA, C. M. C.; TOKARNIA. *et al* Comparação da sensibilidade de bovinos e búfalos à intoxicação por *Palicourea marcravii* (Rubiaceae). *Pesq. Vet. Bras.* 2003, v. 23, n. 4, p. 167-172.
- BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N. A. T. Biotecnologias da reprodução em bubalinos (*Bubalus bubalis*) *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v. 29, n.1, p. 4-17, jan./mar. 2005.
- BASTIANETTO, E; MELO, M. M.; PINTO, M. C.. *et al* Potassium serum levels of buffalo calves parasitized and non parasitized by *Eimeria sp.* Simpósio de Búfalos das Américas, 5; Europe and America's Buffalo Symposium, 4, 2009, Pedro Leopoldo, MG, Brazil. Anais/Proceedings, Belo Horizonte: CBRA, 2009. CD-ROM. ISSN: 2175-4012 p. 130
- BASTIANETTO, E. Helminthoses de bubalinos no município de Dores do Indaiá – Minas Gerais, Brasil. 2006, 54f. Tese (Mestrado) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte (dados não publicados).
- BASTIANETTO, E.; FREITAS, C. M. V., BELLO, A. P. P. *et al* Primeiro Diagnóstico De *Eimeria Bareillyi* (Apicomplexa: Eimeridae) Nas Fezes De Bezerros Bubalinos (*Bubalus Bubalis*) Naturalmente Infectados No Estado De Minas Gerais, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 17, Supl. 1, p. 234-238, 2008.
- BASTIANETTO, E.; LEITE, R. C. Aspectos epidemiológicos e controle das doenças parasitárias em bubalinos suplemento 1 - VIII Congresso Brasileiro de Buiatria - Anais. Disponível em:< <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/issue/view/730>> 25 nov. 2009.
- BASTIANETTO, E.; ESCRIVÃO, S. C.; OLIVEIRA, D. A. A. Influência das características reprodutivas da búfala na produção, composição e qualidade do leite. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.29, n.1, p. 49-52, jan./mar. 2005. Disponível em:< [www.cbra.org.br](http://www.cbra.org.br) >. Acesso em 15 nov. 2009
- Bayer Health Care: 1993 Disponível em:> [http://www.baycox.com/17/Mode\\_of\\_Action.htm](http://www.baycox.com/17/Mode_of_Action.htm),>. Acesso em: 03 mar. 2006.
- BEHRENDT, J. H; HERMOSILLA, C.; HARDT, M. *et al.* PNM-mediated immune reactions against *Eimeria bovis* *Veterinary Parasitology*, v.151, p. 97-109, 2008.

- BHATIA, B. B. Parasites of river buffaloes In: TULLOH, N.M.; HOLMES, J. H.G. Buffalo Production. Amsterdam: FAO, 1992, cap. 15, p. 309-310.
- BISWAL, G. Coccidioses in Buffaloes Calves. *Indian Vet. J.*, v. 25, p. 36-38, 1948.
- CABRAL, D. D. Ocorrência de Coccídios em Búfalos da Micro-Região de Uberlândia, Minas Gerais. 1987. 62f. Tese (Mestrado) Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte (dados não publicados).
- CACCIÒ, S. M.; RINALDI, L.; CRINGOLI, G. *et al* Molecular identification of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in the Italian water buffalo (*Bubalus bubalis*) *Veterinary Parasitology*, v.150, n. 1-2, p. 146-149, 2007.
- CRINGOLI, G.; GUARINO, A.; FUSCO, G. *et al* Endoparasites on buffalo breeding farms in the province of Caserta: nort 1 – Northern area. *Bubalus bubalis*, n.4, 61 p. december, 1995.
- DAUGSCHIES, A.; NAJDROWSKI, M. Eimeriosis in cattle: Current Understanding. *J. Vet. Med.*, v.52, p. 417-427, 2005.
- DUBEY, J. P; WOUDA, W; MUSKENS, J. Fatal intestinal coccidiosis in a three-week-old buffalo calf (*Bubalus bubalus*) *J. Parasitol.*, v.94, n. 6,p. 1289–1294 2008.
- EPE, C.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; WIRTHELE, N. *et al*. Efficacy of toltrazuril as a metaphylactic and therapeutic treatment of coccidioses in first-year grazing calves. *Parasitol. Res.* v.97 (Suppl. 1), p.127–133, 2005.
- FAGLIAR, J.J.; RIZOLLI, F. W; SILVA, S. L. *et al*. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, n.3, p.450-453, 2006.
- FEITOSA, F. L. F.; SHIMAMURA, G. M.; MENDES, T. L. R. C. N. *et al*. Importância de *Cryptosporidium* spp. como causa de diarreia em bezerros. *Pesq. Vet. Bras.* v.28, n. 10, p. 452-456, 2008.
- FERNANDO, M. A. Eimeria: Infections of the intestine In: LONG, P. L. Coccidiosis of man and domestic animals. Cap 4, p. 68, 1993.
- FERREIRA, A. J. P. Antiprotozoários. In: Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária, 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 459-490.
- FERREIRA, F. Fluidoterapia endovenosa e oral em bezerros com diarreia osmotica induzida. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 74p. 2001(dados não publicados).
- GHANEM, M.M.; RADWAAN, M. E.; MOUSTAFA, A. M. M. *et al* Comparative therapeutic effect of toltrazuril, sulphadimidine and amprolium on *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* given at different times following infection in buffalo calves (*Bubalus bubalis*) *Preventive Veterinary Medicine*, v. 84, p.161–170, 2008.
- GILL et al. (1963) In: LEVINE, N. D.; IVES, V. Protozoan parasites of domesticated animals and of man. Urbana. Univ. Ill Press. p. 96, 1973.
- GÓRNIK, S. L. Quimioterápicos In: SPINOZA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan– RJ, p. 348-350, 1996.
- GREGORY, Pathology of coccidial infections IN: Long, P. L. Coccidiosis of man and domestic animals. Cap 12, p.251, 1993.
- HARDER A.; HABERKORN, A. Possible mode of action of toltrazuril: studies on two *Eimeria* species and mammalian and *Ascaris suum* enzymes. *Parasitol. Res.*, v.76, n.1, p. 8-12, 198.

- HERDT, T. Fisiologia gastrointestinal e metabolismo In: Tratado de Fisiologia Veterinária, Cunningham, seção IV, p. 231-287, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,, 2004.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap.15, p.254-257, 1995.
- KOGUT, M. H. Host specificity of the coccidian In: Long, P. L. Coccidiosis of man and domestic animals. Cap. 3, p. 47, 1993.
- KPAHRA, S. S.; SINGH, J. Coccidiosis in Buffaloes: Calves and its Treatment. *Buffalo Bulletin*, v. 5, n. 1, p. 9-17, 1986.
- LEVINE, N. D.; IVES, V. Protozoan parasites of domesticated animals and of man. Urbana. 2. ed. Univ. Ill Press. 1973, 406 p.
- MAGDOUB, A. A.; SAYED I. A.; MANDY A. E. Relationship between system of raising Egyptian buffaloes and effect of climate conditions on the helminthic infection rate, middle delta. *Egypt. Egypt Soc. Parasitol.*, v. 29, n. 2, p. 505-515, 1999.
- MCDUGALD, L. R.; EDWARD L. R. Drogas e Antiprotozoários In: BOOTH, N. H.; MCDONALD, L. E. Farmacologia e terapêutica em veterinária. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. v. 1, cap.16, p. 775.
- MUNDT, H. C.; DAUGSCHIES, A.; UEBE, F.; et al. Efficacy of toltrazuril against artificial infections with *Eimeria bovis* in calves. *Parasitol. Res.* v. 90, p. 166-167, 2003.
- MUNDT, H.C.; BANGOURA, B.; MENGEL, H.; KEIDEL, J.; DAUGSCHIES, A. Control of clinical coccidiosis of calves due to *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* with toltrazuril under field conditions. *Parasitol; Res.* v. 97, p.134-142, 2005.
- NALBANTOGLU, S., SARI, B., CICEK, H., KARAER, Z. Prevalence of Coccidian Species in the Water Buffalo (*Bubalus Bubalis*) in the Province of Afyon, Turkey ACTA VET. BRNO 2008, 77: 111-116; 2008.
- NORONHA, A. C., STARKE-BUZETTI, W. A., DUSZYNSKI D. W. *Eimeria* sp. In: Brazilian water buffalo. *J. Parasitol.* v. 95, n. 1, p. 231-4, 2009.
- OLIVEIRA, A. L. Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.122-134, abr./jun. 2005.
- OLIVEIRA, C. M. C.; BARBOSA, J. D.; MACEDO, R.S.C. I et. al. Estudo comparativo da toxidez de *Palicourea juruana* (Rubiaceae) para búfalos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras.*, mar. 2004, v. 24, n. 1, p. 27-30.
- PANDE, B.P.; BHATIA, B.B.; CHAUHAN, P.P.S. Sexual stages and associated lesions. In *Eimeria bareillyi* of buffalo calves. *Indian Journal Animal Science*, n. 41, v. 3, p. 151-154, 1971.
- PARVEEN; AHUJA, S. P. Materno-neonatal transfer and intestinal absorption of immunoglobulins in buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Bubalus bubalis*, n. 4, p.56-68, 1998.
- PLUMB, D. C.; PHARM, D; Veterinary Drug Handbook, Estados Unidos da América, Blackwell Publishing, 5. ed. p. 54-55, 2005.
- QUIGLEY, J. D.; MARTIN, K. R.; DOWLEN, H. H. Concentrations of Trypsin Inhibitor and Immunoglobulins in Colostrum of Jersey Cows *J. Dairy. Sci.*, n. 78, p. 1573-1577, 1995.
- RANJHAN, B. K. Nutrition of riverine buffaloes in Southern Asia In: TULLOH, N. M.; HOLMES, J. H. G. Buffalo Production. Amsterdam: FAO, cap. 5, 1992.



- RANJHAN, S. K. Buffalo as a social animal for humanity. *Italian Journal of Animal Science*. Proceedings of the 8<sup>o</sup> World Buffalo Congress, Caserta, 2007, p. 30-38.
- REBOUÇAS, M. M.; TAKANO, U. F.; AMARAL, V. *et al* Eimerídeos parasitas de búfalos (*Bubalus bubalis*) da região do Vale do Ribeira, estado de São Paulo, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 57, p. 1-3, 1990.
- RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H.; JEREZ, J. A. *et al* Identification of enteropatogens from buffalo calves with and without diarrhoea in the Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* v. 37, n. 2, 2000.
- ROBERSON, E. L. Chemotherapy of Parasitic Diseases. In: Jones, L. M., Booth, H. N., McDonald, L. E. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa State University Press, cap. 14, p. 1087-1090, 1977.
- ROZZA, D. B.; CORRÊA, A. M. R.; LEAL, J. S. *et al* Intoxicação experimental por monensina em búfalos e bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 27(4):172-178, 2007
- SAMPAIO, I. B. M. Estudo de dispersão de frequência In: \_\_\_ *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002, cap. 12, p. 107-121.
- SANYAL, P. K.; RUPRAH N. S.; CHHABRA, M. B. Evidence of cell mediated immune response in infection with *Eimeria bareillyi* in buffaloes. *Vet. Parasitol.*, 1985, jan., 17 (2): 111-115.
- SANYAL PK; RUPRAH N. S; CHHABRA, M.B. Chemotherapeutic efficacy of sulphadimidine, amprolium, halofuginone and chloroquine phosphate In: experimental *Eimeria bareillyi* coccidiosis of buffaloes. *Vet Parasitol.* 1985 jan., v.17, n. 2, p.117-22.
- SCOTT, P.; GRENCIS, R. K. Adaptative Immune Effector Mechanisms against Intracellular Protozoa and Gut-Dwelling Nematodes, In: *Immunology of Infectious Diseases*. Kaufmann, S. H. E., Sher, A., Ahmed, R. Washington, D. C.: ASM Press. 2002, cap. 17, p.235-246.
- STARKE, W. A.; MACHADO, Z. R. Helmintíases em búfalos I – desenvolvimento de ovos e larvas de estrongilídeos parasitas de búfalos jovens, no município de Selvíria, MS, nas estações secas e chuvosas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* v. 43, n. 4, p. 315-327, 1991.
- TAUBERT, A; BEHRENDT, J. H.; ANKE SUHWOLD, A. *et al* Monocyte- and macrophage-mediated immune reactions against *Eimeria bovis*. *Veterinary Parasitology* 164 p. 141–153, 2009.
- TEIXEIRA, L. V.; BASTIANETTO, E; OLIVEIRA, D. A. A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. *Rev. Bras. Reprod. Anim*, Belo Horizonte, v. 29, n.2, p.96-100, abr./jun. 2005.
- UENO, H.; GONÇALVES, P. C. Manual para Diagnóstico da Helminthoses de Ruminantes. 4. ed. 1998, p. 72.
- WILLIAMS, R. B. The mode of action of anticoccidial quinolones (6-Deoxy-4-hydroxyquinoline-3-carboxylates) in Chickens. *International Journal of Parasitology* v. 27, n. 1, p. 101–111, 1997
- ZICARELLI, L. Reproduction Seasonality in buffaloes. *Bubalus bubalis*, suppl. n. 4, Salerno (IT), p. 29-52, 1997.