UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO CENTRO DE CÊNCIAS AGRÁRIAS MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

THAYANE FERREIRA FERNANDES

COCCIDIOS EM SUÍNOS NATIVOS CRIADOS EXTENSIVAMENTE NA BAIXADA MARANHENSE, BRASIL

São Luís-MA

THAYANE FERREIRA FERNANDES

COCCIDIOS EM SUÍNOS NATIVOS CRIADOS EXTENSIVAMENTE NA BAIXADA MARANHENSE, BRASIL

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciência Animal como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área: Medicina Veterinária Preventiva

Orientadora: Prof^a. Dra. Ana Clara Gomes dos Santos.

THAYANE FERREIRA FERNANDES

COCCÍDIOS EM SUÍNOS NATIVOS CRIADOS EXTENSIVAMENTE NA BAIXADA MARANHENSE, BRASIL

Dissertação apresentada ao programa de Pós - graduação em Ciência Animal como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Dissertação de Mestrado apresentada em 26 de Fevereiro de 2016 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof^a Dra Andréa Pereira da Costa Bolsista de Fixação de Doutor, BFC/CCA/UEMA Prof^a Dra Geovania Maria da Silva Braga Prof^a Adjunto IV – Diretora do curso de Medicina Veterinária do CESI/UEMA Prof.^a Dra Ana Clara Gomes dos Santos –

(Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária - Universidade Estadual do Maranhão)

A DEUS, por permitir cada realização, e a minha Mãe, por mesmo sem entender minhas escolhas, sempre me dá incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, força e sabedoria, mesmo com os obstáculos encontrados, sempre deu coragem para persistir e seguir adiante.

A minha mãe, Marilene e meu padrasto Edilson, pelo incentivo e apoio dado durante todos os momentos.

A Profa. Dra. Geovania Braga por insistir que fizesse o Mestrado, por incentivar, e por estar sempre norteando desde o inicio. A ela eu agradeço e agradecerei sempre.

Aos meus amigos de Balsas e Imperatriz, por sempre estarem comigo, mesmo longe, são pessoas que fazem parte da minha vida, e nos bons e maus momentos sempre estão ao meu lado.

Aos amigos que fiz ao chegar aqui, a "Sala da Justiça", pessoas mais que especiais, no qual irei lembrar sempre com muito carinho.

À Profa. Dra. Ana Clara Gomes dos Santos pela excelente orientação, disponibilidade, apoio e incentivo, sobretudo pelos ensinamentos.

Ao Elison Macêdo por ter me apresentado aos criadores e me direcionado em como realizar as coletas.

Aos colegas que me ajudaram em todas as coletas, Fernando, Matheus, Leandro e Igor, sem ajuda deles não teria conseguido, também ao Delano, Marcos e Oséias por terem me ajudado em uma coleta.

Ao Sr. Agnaldo, uma ótima pessoa, em todas as coletas nos levou e nos trouxe em segurança.

Ao Sr. Vera Cruz e Sr. Reinaldo, pela disponibilidade em nos receber para a realização das coletas.

À Universidade Estadual do Maranhão em especial ao Programa de Pós Graduação em Ciência Animal.

A FAPEMA pela bolsa recebida para o desenvolvimento da pesquisa e conclusão do curso.

A todas as pessoas que de maneira direta ou indireta contribuíram para conclusão desta etapa em minha vida.

COCCÍDIOS EM SUÍNOS NATIVOS CRIADOS EXTENSIVAMENTE NA BAIXADA MARANHENSE, BRASIL

Thayane Ferreira Fernandes¹; Ana Clara Gomes dos Santos²

RESUMO

Os suínos são espécies de importância relevante na produção de carne para o consumo humano, e dependendo da rentabilidade desta produção e do grau de eficiência da mesma, as doenças parasitárias podem conduzir a perdas bastante significativas nos principais indicadores da eficiência produtiva. Os oocistos do gênero Eimeria em suínos são difíceis de identificar quanto à respectiva espécie em razão das consideráveis alterações morfológicas encontradas em amostras de uma mesma espécie. Os oocistos de cada espécie são morfologicamente diferentes, os mesmos podem ser identificados de acordo com a forma e o tamanho, as formas mais comuns são esférica, oval ou elipsoide. Assim como parasitas do gênero Eimeria e Cystoisospora, a criptosporidiose em animais de produção é traduzida não só pelo potencial zoonótico de algumas espécies como também pela perda econômica que esta infecção promove. A principal metodologia de diagnóstico utilizada, na maioria dos laboratórios, é a que permite a identificação da presença de oocistos nas fezes, sem a determinação da espécie de Cryptosporidium envolvida. A demonstração de oocistos nas fezes é útil para confirmar um diagnóstico de coccidiose. Os oocistos são eliminados em grandes números por um período relativamente curto de tempo, durante o primeiro ou segundo dia de diarreia, e pode não estar presente no momento do exame. Os métodos parasitológicos qualitativos utilizados para a concentração de ovos e oocistos de protozoários através de soluções hipersaturada de açúcar e Cloreto de Sódio (NaCl) são utilizadas para minimizar os debris e facilitar a visualização dos oocistos, com o auxílio de centrífugas e microscópios mais modernos que diminuem o tempo de execução dos exames e aumentam a precisão dos resultados. O conhecimento das espécies de coccídios que acometem os suínos e a intensidade da infecção adquirida por esses animais é imprescindível para implantação adequada de medidas de controle em determinada região, bem como os fatores que interferem no desenvolvimento dos mesmos.

Palavras-chave: Coccidiose; Suínos; Oocistos.

COCCIDIA IN PIGS IN NATIVE CREATED EXTENSIVELY BAIXADA MARANHENSE, BRASIL

ABSTRACT

Pigs are species of great importance in the production of meat for human consumption, and depending on the profitability of production and the degree of efficiency of the same, parasitic diseases can lead to significant losses well in the main indicators of production efficiency. The oocysts of Eimeria in pigs are difficult to identify as to their kind because of the considerable morphological changes found in samples of the same species. The oocysts of each species are morphologically different, they can be identified according to shape and size, the most common shapes are spherical, oval or ellipsoid. As parasites Eimeria and Cystoisospora gender, cryptosporidiosis in farm animals is translated not only by the zoonotic potential of some species as well as by the economic loss that this promotes infection. The primary diagnostic method used in most laboratories is that which allows the identification of the presence of oocysts in the feces without the determination of the species of Cryptosporidium involved. The demonstration of oocysts in the faeces is useful to confirm a diagnosis of coccidiosis. The oocysts are disposed in large numbers over a relatively short period of time during the first or second day of diarrhea, and can not be present during the examination. Qualitative parasitological methods for the concentration of eggs and oocysts from protozoa through Supersaturated solutions of sugar and sodium chloride (NaCl) are used to minimize debris and facilitating the visualization of oocysts with the aid of centrifugal and more modern microscopes that decrease of tests run time and increase the accuracy of results. Knowledge of the species of coccidia that affect pigs and intensity of infection acquired by these animals is essential for proper implementation of control measures in a given region, as well as the factors that interfere with their development.

Keywords: Coccidiosis; Swine; Oocysts.

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2

Tabela 1 – Índices morfométricos dos oocistos esporulados das espécies do gênero Eimeria e
Cystoisospora em suínos criados extensivamente na Baixada Maranhense, no
período chuvoso, 2014 a 2015
Tabela 2 – Índices morfométricos dos oocistos esporulados das espécies do gênero Eimeria e
Cystoisospora em suínos criados extensivamente na Baixada Maranhense, no
período seco, 2014 a 2015
Tabela 3 - Prevalência de parasitismo por coccídios em suínos nativos da Baixada
Maranhense, considerando sexo e idade, durante o período seco e chuvoso de 2014
a 201547
 CAPÍTULO 3 Tabela 1 – Avaliação do parasitismo por <i>Cryptosporidium</i> spp. em suínos nativos da Baixada Maranhense, de acordo com o sexo e idade, durante o período de 2014 a 201561 CAPÍTULO 4
Tabela 1 – Comparação do número de oocistos de coccídios intestinais de suínos nativos da Baixada Maranhense quantificado pelos métodos coproparasitológicos, durante o período seco e chuvoso, de 2014 a 2015
Tabela 2 – Comparação do número de oocistos de coccídios intestinais de suínos nativos da
Baixada Maranhense quantificado pelos métodos coproparasitológicos, durante o
período seco e chuvoso, de 2014 a 201581

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1 – Micrografia de oocisto esporulado de Cystoisospora suis: a) 40x; b) 100x,
recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense38
Figura 2 – Micrografia de oocisto esporulado de Eimeria perminuta: a) 40x; b) 100x,
recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense39
Figura 3 – Micrografia de oocisto esporulado de Eimeria scabra, oocisto sem a presença da
micrópila (a) 40x e com a micrópila (b) 100x, recuperado nas fezes de suínos
nativos da Baixada Maranhense
Figura 4 – Micrografia de oocisto esporulado de Eimeria debliecki, oocisto sem a presença da
micrópila (a) (40x) e com a micrópila (b) (100x), recuperado nas fezes de suínos
nativos da Baixada Maranhense41
Figura 5 – Micrografia de oocisto esporulado de Eimeria polita, oocisto sem a presença da
micrópila (a) (40x) e com a micrópila (b) (100x), recuperado nas fezes de suínos
nativos da Baixada Maranhense
Figura 6 - A) Valores médios da temperatura (°C); B) Pluviosidade acumulada (mm³),
período de 2013 a 2015, da Baixada Maranhense
Figura 7 – Valores médios de temperatura, pluviosidade e OoPG de coccídios de suínos
nativos da Baixada Maranhense, durante o período seco e chuvoso de 2014 a 2015
46
CAPITULO 3
Figura 1 – Prevalência de suínos nativos da Baixada Maranhense que apresentaram carga
parasitária com oocisto de Cryptosporidium spp., período de 2014 a 2015 60
Figura 2 – Micrografia de oocisto de Cryptosporidium spp. (seta) obtido de fezes de suínos,
corado pela técnica de Ziehl-Neelsen, contra-corante de Verde Malaquita
(RIBEIRO, 2015) equivalente a 5 μm: a) 10x; b, c) 40x; d) 100x61
Figura 3 – Prevalência de suínos nativos da Baixada Maranhense que apresentaram carga
parasitária com oocisto de <i>Cryptosporidium</i> spp., período de 2014 a 2015 62

CAPITULO 4

Figura 1	- Prevalência de parasitismo por oocistos de coccídios intestinais em suínos nativos
	da Baixada Maranhense, de acordo com o período seco e chuvoso, sexo e idade, de
	2014 a 2015
Figura 2	- Prevalência de oocistos de coccídios de suínos nativos da Baixada Maranhense,
	entre métodos coproparasitológicos qualitativos nos período seco e chuvoso,
	durante 2014 a 2015
Figura 3	- Correlação dentre métodos coproparasitológicos e o parasitismo por oocistos de
	coccídios intestinais em suínos nativos da Baixada Maranhense, de acordo com o
	período do ano: a) seco; b) chuvoso, de 2014 a 2015

LISTA DE ABREVIATURAS

DM – Diâmetro maior

dm – Diâmetro menor

IM – Índice morfométrico

CP – Carga parasitária

µm – Micrograma

mg – Miligrama

m - Metro

mm³ – Milímetros cúbicos

μl - Microlitro

°C - Graus Celsos

Alt. – Altitude

NUGEO - Núcleo Geoambiental

MA – Maranhão

UEMA – Universidade Estadual do Maranhão

OoPG – Oocistos por grama de fezes

ZN - Ziehl-Neelsen

OR – Olds Ration

IC – Intervalo de Confiança

n. sig. – Não significativo

P – Proporção

NaCl – Cloreto de sódio

rpm – rotação por minuto

R² - Coeficiente de Determinação

SUMÁRIO

CAPITULO 1	15
1 INTRODUÇÃO	15
1 INTRODUÇÃO	
2.1 Geral 2.2 Específicos	
3 REVISÃO DE LITERATURA	
3.1 Coccidiose Suína	
3.2 Espécies do Gênero Eimeria, Cystoisospora e Cryptosporidium	
3.2.1 Eimeria spp.	
3.2.2 Cystoisospora suis	
3.2.3 Cryptosporidium spp.	
3.3 Patogenia	27
CAPITULO 2	29
EIMERIOSE EM SUÍNOS NATIVOS DE CRIAÇÃO EXTENSIVA NO BRASIL	
RESUMO	29
ABSTRACT	30
1 INTRODUÇÃO	31
2 MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1 Baixada Maranhense	33
2.2 Coletas das fezes	33
2.3 Processamentos das amostras	33
2.4 Análise estatística	34
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	40

CAPÍTULO 3	53
PREVALÊNCIA DE CRIPTOSPORIDIOSE EM SUÍNOS NATURA	LIZADOS
CRIAÇÃO EXTENSIVA EM CAMPOS ALAGADOS NO MARANHÃO	, BRASIL 53
RESUMO	53
ABSTRACT	54
1 INTRODUÇÃO	55
2 MATERIAL E MÉTODOS	57
2.1 Processamento das amostras fecais	57
2.2 Preparação das lâminas	57
2.3 Leitura das lâminas	58
2.4 Análise estatística	58
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4 CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	66
CAPÍTULO 4	70
COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS COPROPARASITOLÓGICAS NO DE	IAGNÓSTICO
DA COCCIDIOSE EM SUÍNOS DE CRIAÇÃO EXTENSIVA NO	MARANHÃO,
BRASIL	70
RESUMO	70
ABSTRACT	71
1 INTRODUÇÃO	72
2 MATERIAL E MÉTODOS	74
2.1 Coleta das fezes	74
2.2 Análise das amostras de fezes	74
2.3 Análise estatística	75
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4 CONCLUSÃO	84
REFERÊNCIAS	

CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
REFERÊNCIAS	90

CAPITULO 1

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a suinocultura ocupa importante papel na pecuária nacional, sendo responsável por representar para a população mais uma alternativa de alimento, e por possuir alto índice de rentabilidade. No entanto, para que essa atividade possa alcançar posição de destaque tanto no mercado nacional como no internacional, portanto há necessidade de se estudar e erradicar doenças que, de maneira clínica ou subclínica podem interferir no desenvolvimento do rebanho suíno brasileiro (GONÇALVES, 2008).

As infecções entéricas estão entre as doenças mais frequentes na produção suinícola, sendo responsáveis por importantes perdas e significativo impacto econômico no setor. Os prejuízos são representados por redução do ganho de peso, mortalidade e gastos com antibiótico-terapia (McORIST, 2005). Vários fatores influenciam na composição parasitária ou no nível de parasitismo dos animais, destacando-se o tipo de manejo, o nível de contaminação ambiental, que varia de acordo com os sistemas de produção, condições de higiene e as práticas de manejo, além da susceptibilidade individual e a idade (LEITE et al., 2000; SCOTT & KOSKI, 2000).

As endoparasitoses, mesmo que geralmente, não produzam sintomatologia clínica podem acarretar diminuição na produtividade do animal (perda de peso, anorexia, diminuição no índice de conversão alimentar, produção e reprodução), que é traduzida em perdas econômicas (rejeição de carcaças nos matadouros). Entre as doenças causadas por endoparasitos, se destaca a coccidiose, que no intestino dos animais provoca alterações estruturais dos tecidos, afetando de maneira acentuada a atividade fisiológica deste órgão e atuando negativamente para o desenvolvimento de animais jovens e na reprodução dos adultos (GONÇALVES, 2008).

Nas coccídioses, uma das principais causas de perdas econômicas provocadas por estes é a diarreia em leitões lactentes com lesões extensas da mucosa intestinal, que induz à mortalidade, com consequente perda de produtividade. Grandes extensões da mucosa intestinal são destruídas, com atrofia das vilosidades intestinais, tornando-as menores e mais curtas e acarretando perda de superfície de absorção. As três principais funções intestinais (digestão, absorção de nutrientes e proteção contra agentes nocivos) são consideravelmente debilitadas (RAMOS et al., 2002).

As porcas desempenham um papel epidemiológico no processo por manter ou multiplicar a população de parasitos na baia. Apesar de não ocorrer perda de apetite, os leitões não ganham peso e até mesmo o perdem. Mesmo não havendo, frequentemente, a observação de sinais clínicos evidentes em rebanhos nos quais os manejos empregados são altamente técnicos, esses agentes causam perdas, principalmente nos leitões em crescimento, quando associados a outros agentes patogênicos ou a problemas nutricionais e sanitários (NISHI et al., 2000).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Identificar as espécies de coccídios intestinais em suínos nativos com base na morfometria dos oocistos encontrados nas fezes de suínos criados extensivamente na Baixada Maranhense, considerando a estação seca e chuvosa, e comparação entre técnicas na recuperação de oocistos de coccídios.

2.2 Específicos

- Identificar as espécies de coccídios do gênero Eimeria; Cystoisospora e Cryptosporidium;
- Estimar a prevalência, coeficientes específicos e dominância de coccídios de suínos nativos durante o período seco e chuvoso;
- Comparar as técnicas qualitativas, através de métodos de flutuação e sedimentação,
 quanto à concentração de oocistos dos coccídios.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Coccidiose Suína

No Brasil, as enfermidades entéricas em suínos têm aumentado muito nos últimos anos devido à intensificação da produção e a redução na idade do desmame. Isso faz com que os profissionais da suinocultura e pesquisadores se preocupem com a identificação, intervenção e controle destas doenças (MORES & AMARAL, 2006). Os problemas sanitários é um dos maiores desafios dos pesquisadores e Veterinários que atuam na suinocultura. Atualmente, as principais doenças que afetam os rebanhos suínos são de origem multifatorial, podendo ser viral, bacteriana e parasitária que afetam principalmente os sistemas nervoso, respiratório e entérico (CAMPOS, 2012).

Os suínos podem ser afetados por diferentes doenças entéricas responsáveis por perdas significativas para a produção e para a sanidade, onde, parasitos localizados no trato gastrintestinal competem, com seu hospedeiro, os nutrientes da alimentação consumida causando irritação na mucosa do trato gastrintestinal, indigestão, falta do apetite, ulcerações no intestino, assim como, espoliação sanguínea que interferem no ganho de peso diário (RAMIREZ, 2008).

Entre as enfermidades causadas por endoparasitos, a coccidiose é uma doença parasitária geralmente aguda causada pela presença e ação de protozoários do gênero *Eimeria*, *Cystoisospora* e *Cryptosporidium* nas células intestinais do hospedeiro vertebrado. Sendo, que em *Cryptosporidium* suas formas evolutivas infectam as microvilosidades das células do epitélio intestinal e/ou da traqueia de mais de 150 espécies de vertebrados (FAYER et al., 2000). A forma aguda da doença acomete os animais jovens, uma vez que os adultos possuem imunidade, e, portanto seriam portadores da doença (GRAIG, 1986).

Após, a recuperação a partir de uma infecção coccidiana, um animal é relativamente imune a uma reinfecção com as mesmas espécies. Esta imunidade não é absoluta, tanto que o animal pode ser reinfectado novamente, mas isso não significa que a infecção resultante será de baixo grau (exceto, em condições de estresse) e não irá prejudicar o hospedeiro, tais infecções de baixo grau são extremamente comuns; assim como a presença nas fezes de oocistos de espécies altamente patogênicos de coccídios não significa necessariamente que o animal tenha coccidiose clínica (LEVINE, 1963).

O protozoário parasita células epiteliais dos intestinos de suínos – especialmente jejuno e íleo – e produz diarreias três a quatro dias após a ingestão dos oocistos. Essa diarreia

apresenta coloração amarelada e não responde a antibiótico-terapia. Quando ocorre, atinge de 70% a 90% dos leitões, levando a uma desidratação moderada e o atraso no desenvolvimento dos suínos, com baixa mortalidade de 6% a 20% (PAIVA, 1996).

As alterações funcionais causadas pela coccidiose dependem da localização das espécies envolvidas, e do grau de destruição dos tecidos, podendo ser locais e/ou sistêmicas. A intensidade e abrangência das lesões dependem do grau de agressão tecidual de cada espécie e, principalmente, da quantidade de oocistos esporulados ingeridos. Quando a infecção é muito intensa ocorre destruição de áreas muito extensas do intestino com consequente desprendimento de fragmentos de mucosa e hemorragias, que podem ser observados nas fezes (LIMA, 2004).

O número de oocistos produzidos por um animal infectado é afetada por outros fatores do que, apenas o isolamento do animal. Estes fatores incluem o potencial biótico inerente de cada espécie de reproduzir em um hospedeiro não imune; imunidade ou resistência desenvolvida pelo hospedeiro; competição com outras espécies de coccídios ou outros agentes infecciosos; nutrição e as diferentes cepas do hospedeiro (FAYER, 1980).

A oxigenação e a umidade são fatores que também favorecem a esporulação dos oocistos, por isso a doença é mais frequente nos meses quentes e úmidos (MORENO et al., 2007). Além da temperatura e umidade, o tipo de piso pode afetar a incidência da coccidiose. A prevalência é maior quando os leitões são criados em pisos sólidos, de madeira ou concreto, comparado às criações sobre piso de plástico ou ferro vazado, devido à dificuldade de limpeza (MORENO et al., 2007; SAYD & KAWAZOE, 1996).

O *Cystoisospora suis* é considerado um parasita comum nas criações de suínos, chegando a atingir cerca de 90% da população e até 50% das leitegadas, caracterizada por diarreia de coloração frequentemente amarelada que não responde a antibiótico-terapia. Além disso, essa doença é responsável pela ocorrência de mortalidade e efetiva redução no ganho de peso dos animais, refugagem intensa dos leitões, sendo indiscutível seu impacto econômico (SAYD & KAWAZOE, 1996).

A coccidiose por *C. suis* é a maior causa de diarreia nos leitões, ocorrendo, normalmente, entre os oito e os 15 dias de idade. Por outro lado, a coccidiose por *Eimeria* spp. é mais comum em suínos mais velhos, surgindo já numa fase posterior ao desmame (MUNDT, 2005). As espécies do gênero *Eimeria* são frequentemente encontradas nas fezes de suínos, no entanto, pelo seu baixo potencial em induzir sintomatologia clínica aparente,

estas são pouco evidenciadas quanto a estudos mais detalhados sobre suas infecções (ERNST, 1987). *Eimeria debliecki* é provavelmente a espécie mais patogênica (LEVINE, 1963).

Outra forma de diarreia é causada pelo *C*. spp., o quadro clínico causado pela infecção é raro e, quando presente, é uma diarreia não hemorrágica profusa (ENEMARK et al., 2003). Os primeiros casos de Criptosporidiose suína foram relatados em 1977, onde se observou uma inflamação moderada associada à presença do protozoário nas células epiteliais do intestino grosso de três suínos durante uma necropsia, porém sem sinais de enterite (KENNEDY et al., 1977).

Algumas espécies de coccídios podem ser identificadas a partir de seus oocistos esporulados, portanto, o estudo dos mesmos é sempre realizado. Os oocistos podem ser colocados para esporulação através da homogeneização de fezes em solução de dicromato de potássio a 2,5%, após colocando o homogeneizado em camada fina em placa de Petri e deixando-se repousar durante duas semanas ou mais, dependendo das espécies. O dicromato de potássio impede o crescimento bacteriano que pode matar os protozoários, e a camada fina é necessário de forma que o oxigênio alcance os oocistos (LEVINE, 1963).

A maioria das produções comerciais de suínos fornece condições excelentes para que os oocistos se desenvolvam. O controle da coccidiose em suínos é realizado através da higiene adequada, associadas aos programas de limpeza e desinfecção eficientes (CAMPOS, 2012). O controle do microclima das instalações, temperatura e umidade, são pontos importantes para o controle da Coccidiose. O manejo de limpeza, quando realizado de maneira correta, pode interromper a transmissão dos oocistos (LANGKJAER & ROEPSTORFF, 2008).

3.2 Espécies do Gênero Eimeria, Cystoisospora e Cryptosporidium

As espécies do gênero *Eimeria* e *Cystoisospora* apresentam um grau de especificidade elevada para com o seu hospedeiro, o que não é observado em nenhum outro agente infeccioso. Possuem não só especificidade ao hospedeiro, como também, de órgãos. Muitos são tecido-específicos porque só parasitam áreas particulares do intestino, chegando inclusive a ter especificidade de localização dentro das células infectadas (HOEFLING, 1981). A base para a especificidade ao hospedeiro tem sido considerada por alguns, por estarem relacionado à imunidade do animal (FAYER, 1980).

A patogenicidade do Cryptosporidium spp. varia com a espécie deste coccídio e a

espécie de animais, idade e estado imune do hospedeiro. As infecções, geralmente, não estão

associadas com sinais clínicos, porém em ruminantes e aves ocorreram casos agudos, nos

quais os animais apresentaram depressão, letargia, anorexia, tosse, dispnéia, conjuntivites,

desidratação, queda de peso, febre e inapetência (SRÉTER & VARGA, 2000).

As características morfológicas e biológicas são utilizadas para diferenciar as

espécies de coccídios. Ambas, as fases endógenas e exógenas do ciclo de vida podem diferir

morfologicamente. No entanto, uma vez que as fases endógenas de muitas espécies são

desconhecidas, a estrutura do oocisto é mais utilizada. Um segundo grupo de critérios é a

localização das fases endógenas no hospedeiro, a especificidade do hospedeiro é um terceiro

critério, isto varia de acordo com o gênero do protozoário e, em certa medida, com as

espécies. Estudos da imunidade cruzada são também utilizados para diferenciar os coccídios

de uma espécie de um determinado hospedeiro. A infecção de um animal com uma espécie de

coccídeo produz imunidade contra essa espécie, mas não contra outras espécies que ocorrem

no mesmo hospedeiro (LEVINE, 1963).

As características dos oocistos são consideradas de grande importância na

diferenciação de certos gêneros de coccídios. Na diferenciação das espécies quando se utiliza

a morfologia do oocisto e esporocisto, devem ser consideradas as seguintes características:

presença ou ausência de estruturas como corpo de "Stieda", corpos residuais do oocisto e

esporocisto, presença ou ausência de capuz micropilar na região polar do oocisto, medida do

diâmetro maior e menor, além do índice morfométrico (CAVALVANTE, 1996).

Atualmente, a morfologia, especialmente a morfometria dos oocistos, representa o

alicerce para taxonomia dos protozoários pertencentes ao Filo Apicomplexa, onde a estrutura

de oocistos é usualmente uma das exigências para estabelecimento de espécies já

consolidadas e de novas espécies (XIAO et al., 2004),

3.2.1 Eimeria spp.

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa Levine, 1970

Classe: Conoidasida Levine, 1988

Subclasse: Coccidiasina Leuckart, 1879

21

Ordem: Eucoccidiorida Léger e Duboscq, 1910

Subordem: Eimeriorina Léger, 1911

Família: Eimeriidae Minchin, 1903

Gênero: Eimeria Schneider, 1875

Coccídios do gênero *Eimeria* são parasitas intracelulares obrigatórios de células do hospedeiro, ausência de organelas de fixação, com apenas um hospedeiro no qual realizam tanto a multiplicação assexuada (esquizogonia) quanto sexuada (gametogonia). Concentra a maior parte dos oocistos de importância para os suínos (AGUIAR, 2009). As espécies são de distribuição cosmopolita e, estão intimamente relacionadas como potencial agente etiológico de doença, responsável por lesões da mucosa e submucosa intestinal dos animais (NISHI et al., 2000). Os coccídios deste gênero tem menor patogenicidade nos suínos, pois as infecções naturais são relacionadas à doença clínica apenas esporadicamente (DAUGSCHIES et al., 2004).

Espécies do gênero *Eimeria* têm sido encontrado em diversas partes do mundo, Gomes (2009) analisou 24 criações de suínos no Distrito de Évora, em Portugal, onde os animais foram divididos em três grupos: "Reprodutores", "Recria" e "Engorda", foram avaliados 180 reprodutores, 2780 animais de recria e 2440 animais de engorda. Nas 24 explorações avaliadas, o gênero *Eimeria* apresentou 79% de prevalência, o grupo dos reprodutores, recria e engorda apresentou prevalência de 53,6%, 77%, e 60%, respectivamente. Na Polônia, Balicka-Ramisz (1995) relatou um estudo em 125 granjas com diferentes níveis sanitários e de higiene. A infecção por *Eimeria* foi observada em 28% de todas as granjas estudadas. Hoff (2005) pesquisou a prevalência de endoparasitas em grupos de suínos com diferentes idades em três granjas de suínos, duas no município de São Carlos e uma no município de Sul Brasil, na região Oeste do Estado de Santa Catarina, encontraram 31% de prevalência para *Eimeria*. Santos e Lopes (1994), em estudo realizado em criações de suínos localizadas nos municípios de Itaguaí, Paracambi e Piraí, no Estado do Rio de Janeiro, identificaram diversas espécies do gênero *Eimeria*.

O gênero *Eimeria* possui um oocisto típico das espécies. A parede do oocisto pode ter um micrópilo, que pode ser coberta por uma tampa micropilar. Dentro do oocisto neste gênero possui quatro esporocistos, cada um contendo dois esporozoítos. Pode haver um grânulo polar retrátil no oocisto, resíduo de oocistos ou um resíduo do esporocisto, estas são compostas de material que sobra após a formação dos esporocistos e esporozoítos. O

esporocisto pode ter um botão, o corpo Stieda, numa extremidade. Os esporozoítos são geralmente em forma de linguiça ou vírgula, e pode conter um ou dois glóbulos claros (LEVINE, 1963). O capuz micropilar é comum em *Eimeria*, mas incomum ou ausente em outros gêneros (BERTO et al. 2014).

O oocisto eliminado no ambiente pode ser esférico, subesférico, ovoide, elipsoide, variando de tamanho conforme a espécie. Sua parede é formada por duas camadas (membranas) geralmente transparentes, sendo que algumas espécies podem apresentar estriações na superfície. A membrana externa é proteica e a interna é formada por associação de lipídeos e proteínas (SOULSBY, 1968).

A morfologia dos oocistos, esporocistos, a espécie hospedeira, as estruturas dos estágios endógenos, e sua localização no hospedeiro é utilizada na diferenciação das espécies. Entretanto, o critério de identificação mais comumente utilizado na separação das várias espécies é realizado através das características morfológicas dos oocistos (FAYER, 1980). Diferenças na forma dos oocistos podem ser resultantes de infecções maciças. No entanto, o tamanho do oocisto, não é necessariamente constante podendo variar de acordo com o período de patência do protozoário (LONG & JOYNER, 1984). Além disso, é relevante considerar que o tamanho e a forma do oocisto não são necessariamente constantes podendo variar de acordo com o estado de latência, grau de infecção e estado imunológico do animal (JOYNER, 1982).

Os animais parasitados eliminam nas fezes os oocistos na forma não esporulada e, portanto não infectantes. No ambiente o oocisto passa por uma divisão assexuada (esporogonia) e são formados quatro esporocistos contendo dois esporozoítos em cada um deles no seu interior (oocisto esporulado) que é a forma infectante para os animais. Os oocistos esporulados quando ingeridos, junto com água ou alimentos contaminados, por um hospedeiro susceptível vão liberar os esporozoitas que irão invadir as células epiteliais do trato digestivo. Ao penetrarem nas células intestinais, os esporozoitas são denominados trofozoítas, que após sucessivas divisões passa a ser denominado de esquizonte. A célula hospedeira então se rompe e libera os merozoitas, que penetram em novas células intestinais e produzem novas divisões esquizogônicas. Mais de uma esquizogonia podem ocorrer dependendo da espécie. Os merozoitas, formados ao final das divisões esquizogônicas se diferenciam em microgametas (masculino) e macrogameta (feminino), iniciando a reprodução sexuada. Os microgametas rompem a célula hospedeira e vão a uma célula contendo macrogameta e o fecundam. Após a fecundação se inicia a formação do oocisto. Os oocistos

formados rompem a célula hospedeira e são eliminados nas fezes na forma de oocisto não

esporulado, continuando o ciclo (SEQUEIRA & AMARANTE, 2001).

3.2.2 Cystoisospora suis

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa Levine, 1970

Classe: Conoidasida Levine, 1988

Ordem: Eucoccidiorida Léger & Duboscq, 1910

Família: Sarcocystidae Minchin, 1903

Sub-família: Cystoisosporinae

Gênero: Cystoisospora Frenkel, 1977

O C. suis apresenta estágios de desenvolvimento no hospedeiro e no ambiente. No hospedeiro, o órgão mais afetado é o intestino delgado, especificamente os enterócitos. Os estágios de desenvolvimento produzem um ovo microscópico, que possui forma esférica e mede aproximadamente 20µm de diâmetro, denominado oocisto (MUNDT & KOUDELA, 2005). Existem também estágios extra intestinais, que ocorrem no baço, no fígado e nos linfonodos do suíno, podendo voltar a invadir a mucosa intestinal e causar sintomatologia (URQUHART et al., 2001).

Calderaro et al. (2001) verificaram a frequência de agentes etiológicos bacterianos, virais e parasitários em fezes de leitões com diarreia em sistemas de produção de suínos do Estado de São Paulo, no qual examinaram 174 leitões com idade entre um a 38 dias provenientes de 21 sistemas de produção, destes, 10,9% foram encontrados parasitados por C. suis. Aliaga-Leyton (2011), ao determinar a prevalência de C. suis em suínos de 50 fazendas e 709 leitões em Ontario, Estados Unidos, encontrou positividade em 70% das fazendas e 187 leitões parasitados por C. suis. Sartor et al. (2007) estudaram a prevalência das espécies de Eimeria e Cystoisospora de suínos do município de Videira, Santa Catarina, examinando 1150 animais, destes, 39,51% apresentaram oocistos do gênero *Cystoisospora*.

Os oocistos do C. suis possuem forma esférica a subesférica, medindo de 19,4 a 22,5µm de diâmetro, com uma cápsula lisa e de camada única, com espessura de 1,5µm. Os

24

oocistos contêm dois esporocistos (dispóricos) com quatro esporozoítos cada (tetrazóicos)

(GONÇALVES, 2008).

O ciclo de vida do C. suis pode ser dividido em três fases distintas: esporogonia,

encistação e desenvolvimento endógeno. A esporulação (esporogonia) é o processo pelo qual

o oocisto não infectante (imaturo), ao ser eliminado com as fezes, passa a serem infectante

sob certas condições de temperatura, oxigenação e umidade (PAIVA, 1996), ao longo desta

fase os oocistos desenvolvem dois esporocistos cada um contendo quatro esporozoítos

(RADOSTITS et al., 2007). A excistação ocorre imediatamente após a ingestão dos oocistos

infectantes. A passagem pelo estômago altera a parede do oocisto e, posteriormente, permite

que os sais biliares e enzimas digestivas ativem os esporozoitos, deixando os livres no lúmen

intestinal. Os esporozoitos penetram nos enterócitos e iniciam a etapa de desenvolvimento

endógeno (PAIVA, 1996).

No estagio de desenvolvimento endógeno, durante a multiplicação do parasita,

cada esporozoíto é capaz de penetrar as células do intestino do hospedeiro, onde se dividem

varias vezes (reprodução assexuada), produzindo vários descendentes denominados merontes,

que também destroem os enterócitos. Este estágio é caracterizado pela multiplicação rápida do

parasita, culminando com grande número de enterócitos destruídos. Em seguida, as células

são sexualmente diferenciadas em machos (microgametas) e fêmeas (macrogametas). A

interação entre o gameta masculino e feminino produz o oocisto que, após ruptura dos

enterócitos, é eliminado para o ambiente através das fezes (MUNDT & KOUDELA, 2005).

3.2.3 Cryptosporidium spp.

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa Levine, 1970

Classe: Coccidia Levine, 1988

Subclasse: Coccidiasina Leuckart, 1879

Ordem: Eucoccidiorida Léger e Duboscq, 1910

Subordem: Eimeriorina Léger, 1911

Família: Cryptosporidiidae Léger, 1911

Gênero: Cryptosporidium Tyzzer, 1907

25

A maioria das espécies de *Cryptosporidium* é identificada de acordo com características morfológicas dos oocistos e com a habilidade de infectar um hospedeiro específico/dominante (XIAO et al., 2004).

Membros de gênero *Cryptosporidium* spp. diferem dos outros coccídios por não invadirem células epiteliais das vilosidades intestinais, mas por aderir à região das microvilosidades e, a partir dai, formam um vacúolo parasitóforo localizado entre o citoplasma e a membrana celular que por ocasião do seu rompimento, provoca a morte dos enterócitos (SOBESTIANSKY, 1999).

Hamnes et al. (2007) examinou amostras fecais de 684 leitões em fase de amamentação de 100 rebanhos suínos de todas as regiões da Noruega, para verificar a presença de *Cryptosporidium* spp., onde 31% do rebanho, com 8,3% dos leitões foram positivos para o parasita. Matos (2009) investigou a ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em leitões com 45 dias de idade em suinoculturas do Município de Araçatuba, São Paulo, Brasil. Amostras fecais de 107 leitões foram colhidas, a ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp., foi observada em 4,7% dos animais. Ryan et al. (2003) coletaram um total de 646 amostras de fezes de suínos pertencentes a 22 fazendas de criação com sistemas de criação rústica e de confinamento no interior do Oeste da Austrália, para verificar a presença de *Cryptosporidium* spp. e sua prevalência, tendo como resultado uma prevalência de 6,03%, e observaram ainda que *Cryptosporidium* foi mais comum nas amostras oriundas dos rebanhos criados de maneira rústica (17,2%), do que os criados no sistema de confinamento (0,5%).

Os oocistos são pequenos, esféricos, com tamanhos variando de 4 a 6µm de diâmetro, variando de acordo com a espécie. Apresentam membrana externa fina, citoplasma finamente granulado, e no seu interior são observados quatro esporozoítos livres em forma de "C", com um núcleo localizado centralmente (FAYER et al., 2004). Na parede do oocisto, tem uma leve estrutura, por onde sairão os esporozoítos durante a encistação (GONÇALVES, 2008). Esses oocistos mantêm sua infectividade no ambiente externo por vários meses, principalmente em águas e ambientes com elevado grau de umidade (SUNNOTEL et al., 2006).

O ciclo biológico é monoxeno, a principal forma de infecção ocorre pela ingestão dos oocistos viáveis presentes na água ou alimentos contaminados. Após a ingestão os oocistos desencistam e os esporozoítos são liberados no intestino delgado e parasitam as células epiteliais do trato gastrintestinal. Nestas células os parasitos realizam reprodução assexuada (esquizogonia ou merogonia) e em seguida a reprodução sexuada (gametogonia),

produzindo macrogametas e microgametas. Após a fecundação dos macrogametas pelos microgametas, os oocistos se desenvolvem e esporulam no hospedeiro infectado. Dois diferentes tipos de oocistos são produzidos: oocistos de parede espessa, que comumente são eliminados nas fezes do hospedeiro e oocistos de parede fina que estão envolvidos com a autoinfecção do hospedeiro (PUTIGNANI & MENCHELLA, 2010).

3.3 Patogenia

A diarreia característica da coccidiose começa com fezes aquosas e fétidas – às vezes com odor rançoso ou azedo. Após três a quatro dias, a produção de fezes amolecidas ou pastosas ou até a ocorrência de tenesmo. Os leitões infectados apresentam-se desidratados, com pelos arrepiados e com definhamento, resultando na dificuldade se movimentar. A mortalidade é variável, podendo chegar a 20%. Além da diarreia, outros sinais clínicos são a perda de peso, a inapetência e o retardo no crescimento. A diarreia é a manifestação clínica comum a diferentes doenças causadas por bactérias (*Escherichia coli*, *Salmonella* sp. etc.), vírus (Enterovírus, Rotavírus, Adenovírus etc.) e diversos protozoários, entre os quais o *C. suis*. No caso de infecção por *C. suis*, a diarreia é causada pela destruição das células do epitélio intestinal (PAIVA, 1996).

Alguns estudos têm demonstrado que a manutenção da morfologia e função da mucosa intestinal depende basicamente do suprimento continuo de nutrientes e do crescimento e proliferação de agentes patogênicos no intestino (MORES & AMARAL, 2006). O *C. suis* é responsável por lesões principalmente no jejuno e íleo, mas pode afetar também o ceco e o colón dos animais. Durante o desenvolvimento intracelular, as células intestinais são destruídas (MUNDT & KOUDELA, 2005).

A estrutura dos vilos é fortemente alterada, microscopicamente, observando-se redução na altura das vilosidades, fusão de vilosidades, necrose focal no ápice das vilosidades, metaplasia epitelial e hiperplasia das criptas. Nos enterócitos, muitas formas endógenas dos coccídios podem ser encontradas, principalmente, merozoítos e merontes, oocistos maduros raramente estão presentes (MORENO et al., 2007).

Como resultado, a função digestiva das seções afetadas do intestino é consideravelmente alterada, devido ao quadro de inflamação e necrose intestinal que se estabelecem. Tanto a digestão, quanto a absorção de nutrientes são alteradas. A mucosa intestinal se regenera relativamente rápido, quando a infecção é controlada, entretanto os

animais apresentam ganho de peso inferior aos animais não infectados. As células epiteliais tornam-se planas devido à descamação após a infecção com *C. suis* (VANNUCCI & GUEDES, 2009).

A severidade das lesões microscópicas depende da quantidade de oocistos ingerida pelo animal. Os leitões de cinco a 20 dias de idade são os que apresentam sinais clínicos da doença. As manifestações clínicas são mais precoces em leitões que ingerem altas doses de oocistos esporulados (PAIVA, 1996). Muito poucos oocistos são necessários para infectar os leitões. Os oocistos são extremamente resistentes e podem sobreviver por meses ou anos. Apenas 100 oocistos esporulados causam doença severa – em animais suficientemente jovens. O fator determinante é a idade dos leitões – quanto mais jovens, mais susceptíveis eles são e, portanto mais severo é o quadro clínico. Após a terceira semana de vida, a doença não é mais clinicamente relevante (MUNDT & DAUGSCHIES, 2004).

CAPITULO 2

EIMERIOSE EM SUÍNOS NATIVOS DE CRIAÇÃO EXTENSIVA NO MARANHÃO, BRASIL

EIMERIOSIS IN PIGS NATIVES EXTENSIVE CREATING MARANHÃO, BRAZIL

Thayane Ferreira Fernandes²; Ana Clara Gomes dos Santos²

RESUMO

Os suínos podem ser acometidos por uma variabilidade de enfermidades entéricas como a eimeriose e a cistoisosporose, que são doenças responsáveis por causar enteropatias, atuando negativamente para o desenvolvimento dos animais. A pesquisa teve como objetivo determinar a prevalência e identificar as espécies do gênero Eimeria e Cystoisospora que acometem suínos nativos de ambos os sexos e diferentes idades, criados extensivamente no Maranhão, durante o período seco e chuvoso. A pesquisa foi realizada no município de Bacurituba, na Baixada Maranhense. Os suínos foram escolhidos aleatoriamente, 180 amostras fecais foram coletadas diretamente da ampola retal; em seguida refrigerados e transportados em caixas isotérmicas, com gelo, até o Laboratório de Parasitologia, da Universidade Estadual do Maranhão. Realizou-se exames coproparasitológicos, para o diagnóstico de oocistos nas fezes, utilizando-se as técnicas de Willis-Mollay (1921) e de Sheather (1923) e o método Hoffman, Pontes e Jane (1934) e análise em microscopia óptica em 100x e 400x. Realizado a contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG) pelo método de Gordon Whitlock (1939) modificado e Figueiredo (1982). As amostras positivas que apresentaram >500 oocistos foram acondicionadas, individualmente, em placas de Petri identificadas, com solução de Dicromato de Potássio 2,5% e mantidas em bancada em ambiente de laboratório, aferição diária por termohigrômetro (27 ± 2°C, 70±10%UR) e escotofase, para a esporulação dos oocistos. Após, os oocistos foram concentrados pela técnica de centrífugo-flutuação de Sheather (1923) e identificados com base nas estruturas morfométricas dos oocistos esporulados, conforme descrito por Levine (1963), Soulsby (1987), Rebouças (1992), Gonçalves (2008) e Filho (2004). As espécies identificadas foram Eimeria debliecki, Eimeria scabra, Eimeria perminuta, Eimeria porci, Eimeria polita, e Cystoisospora suis. Houve maior prevalência de parasitismo em suínos durante o período seco. Concluímos que os suínos apresentam infecção por Eimeria e Cystoisospora sob a forma subclínica, sendo mais prevalente durante o período seco. E, a espécie Eimeria scabra foi mais prevalente em ambos os períodos.

Palavras-chave: Coccídios; Suínos; Baixada Maranhense.

ABSTRACT

Pigs may be affected by variability of enteric diseases such as eimeriosis and cistoisosporose, which are responsible for causing disease enteropathy, acting negatively to the development of the animals. The research aimed to determine the prevalence and identify the species of the genus Eimeria and Cystoisospora affecting native pigs of both sexes and different ages, created extensively in Maranhão, during the dry and rainy season. The survey was conducted in the citie of Bacurituba in Baixada Maranhense. The pigs were randomized, 180 fecal samples were collected directly from the rectum; then refrigerated and transported in cool boxes with ice, to the Parasitology Laboratory of the State University of Maranhão. Was performed fecal examinations for diagnosis of oocysts in the feces, using the techniques of Willis-Mollay (1921) and Sheather (1923) and methof Hoffman, Pontes and Janne (1934) and optical microscopy analysis 100x and 400x. Held oocyst count per gram feces (OoPG) by the method of Gordon Whitlock (1939) and modified Figueiredo (1982). Positive samples with >500 oocysts were placed individually in Petri dishes identified with dichromate solution Potassium 2.5% and maintained bench in a lab environment, daily verification by thermohygrometer (27±2°C,70±10%RH) and scotophase for the sporulation of oocysts. After, the oocysts were concentrated by the technique of centrifugal flotation Sheather (1923) and identified based on morphological structures of oocysts as described by Levine (1963), Soulsby (1987), Rebouças (1992), Gonçalves (2008) and Filho (2004). The identified species were Eimeria debliecki, Eimeria scabra, Eimeria perminuta, Eimeria porci, Eimeria polita, and Cystoisospora suis. There was a higher prevalence of parasites in swine during the dry season. We conclude that the pigs have Eimeria infection and Cystoisospora under the subclinical form, being more prevalent during the dry season. And the species Eimeria scabra was more prevalent in both periods.

Keywords: Coccidia; swine; Maranhense lowered.

1 INTRODUÇÃO

A coccidiose é uma doença parasitária, frequentemente diagnosticada, os surtos da doença ocorrem em zonas tropicais e temperadas. Os oocistos esporulados são o estado infectante da doença, logo a sua esporulação e liberação para o meio ambiente são determinantes (DENIZ, 2008). A maioria dos coccídios é específica para cada espécie de hospedeiro e infecta apenas o seu hospedeiro natural. Coccídios em suínos pertencem tanto ao gênero *Eimeria* quanto *Cystoisospora*, a espécie *Cystoisospora suis* é considerado o patógeno primário em suínos (SCHWARTZ, 2002).

Existe um grande número de espécies de *Eimeria*, no entanto, estas apresentam grande especificidade em relação ao hospedeiro. A patogenicidade depende da espécie e poucas são consideradas suficientemente patogênicas, para desencadearem manifestações clínicas da doença. As infecções envolvem geralmente uma variabilidade de espécies, ou seja, em casos clínicos de coccidiose é comum a presenças de mais de uma espécie que interagem para produzir as alterações patológicas observadas (LIMA, 2004). As infecções podem manifestar-se pela existência de diarreia, com fezes aquosas e amareladas (FRONTERA et al. 2007).

Os oocistos do gênero *Eimeria* em suínos são difíceis de identificar quanto à respectiva espécie em razão das consideráveis alterações morfológicas encontradas em amostras de uma mesma espécie (IMAROM, 1997). Os oocistos de cada espécie são morfologicamente diferentes, mas essencialmente têm características análogas (FORTES, 2004), os mesmos podem ser identificados de acordo com a forma e o tamanho. As formas mais comuns são esférica, oval ou elipsoide, e o tamanho das espécies comuns varia de 15 a 50 µm. O tempo gasto para que ocorra esporulação em condições normais também pode ser usado como parâmetro para identificação (URQUHART et al., 1998).

Os oocistos são considerados estruturas muito resistentes (LIMA, 2004). Quando esporulados podem permanecer viáveis e infectantes por relativamente longos períodos de tempo, podendo sobreviver no ambiente durante meses ou até mais de um ano (FAYER, 1980). Animais infectados geralmente desenvolvem uma importante imunidade com o aumento da idade (REHMAN et al., 2011). Esta imunidade é espécie-específica, mas não é absoluta, pois os animais recuperados frequentemente se reinfectam com infecções discretas que não os prejudicam, mas os transformam em portadores, que são fontes de infecção para os mais jovens (LIMA, 2004).

O conhecimento das espécies de coccídios que acometem os suínos e a intensidade da infecção adquirida por esses animais é imprescindível para implantação adequada de medidas de controle em determinada região, bem como os fatores que interferem no desenvolvimento dos mesmos. É desconhecida a prevalência e a relativa importância econômica de *Eimeria* spp. e *Cystoisospora* spp. na criação de suínos da região da Baixada Maranhense e, portanto, a influência desses agentes parasitários no processo produtivo. A pesquisa teve como objetivo determinar a prevalência e identificar as espécies do gênero *Eimeria* e *Cystoisospora* que acometem suínos nativos de ambos os sexos e diferentes idades, criados extensivamente no Maranhão, durante o período seco e chuvoso.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Baixada Maranhense

A microrregião da Baixada Maranhense é uma das microrregiões do estado do Maranhão pertencente à mesorregião Norte Maranhense, localizada a Oeste e Sudeste da Ilha de São Luís, formada por grandes planícies baixas que alagam na estação das chuvas, criando enormes lagoas entre os meses de janeiro e julho. Essa região se estende por mais de 20.000 km² e abrange cerca de 20 municípios, dentre esses a pesquisa foi realizada no município de Bacurituba (2°42′22″ S e 44°44′18″ O), que dista 300 km da cidade de São Luís, MA (IBGE, 2008).

2.2 Coletas das fezes

Foram visitados retiros no município de Bacurituba, da Baixada Maranhense, onde um total de 180 amostras fecais foi coletado de suínos nativos de idades variadas (30 dias a 54 meses) e ambos os sexos, diretamente da ampola retal, com uso de luvas de procedimento cirúrgico, lubrificadas com vaselina, acondicionadas em caixa isotérmicas e transportadas, sob-refrigeração, para o Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual do Maranhão.

2.3 Processamento das amostras

No laboratório foram pesados 4g de fezes para realizar a técnica de centrífugoflutuação de acordo com Sheather (1923), com a finalidade de determinar a presença de oocistos das espécies do gênero *Eimeria* e *Cystoisospora*. Após, a confirmação da presença dos oocistos, foi realizado a contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG), considerando se como ponto de corte, animais que apresentassem uma contagem de OoPG ≥500, que foram diluídas em solução 2,5% de Dicromato de Potássio (K2Cr2O7), para esporulação e colocadas em placas de Petri contendo a relação de 1/6 de fezes para 5/6 de solução e colocadas sobre a bancada em 27±2°C e umidade relativa do ambiente 70±10% por 15 dias para esporulação, em escotofase e aferição diária através de termohigrômetro.

Após, a esporulação dos oocistos, para retirar o excesso da solução de Dicromato de Potássio, as amostras foram colocadas em tubos de centrífuga de 10,0mL e lavadas com água destilada, em seguida centrifugadas em 1500rpm por 10 minutos pelo menos três vezes, até ficarem totalmente límpidas, a solução foi retirada resultando apenas o sedimento. Esse sedimento foi suspenso pela técnica de centrífugo-flutuação pelo método de Sheather (1923), durante 10min a 1500rpm. O centrifugado foi retirado à parte suspensa em 50µl (6x) colocadas em lâminas microscópicas e leitura em microscopia óptica para detecção dos oocistos esporulados (FIGUEIREDO, 1982). A observação dos oocistos utilizou-se microscópio binocular marca Carl Zeiss (RFA) e Wild M-20 (Suíça) com auxílio de objetiva de 400x com a finalidade de visualizar as estruturas morfológicas. Foram mensurados apenas os oocistos esporulados e íntegros das espécies do gênero Eimeria e Cystoisospora. Para tanto, foi utilizada uma ocular micrométrica K-15X PZO (Polônia), acoplada ao microscópio binocular Carl Zeiss. Foi mensurado o diâmetro maior (DM) e menor (dm) e calculado o índice morfométrico (IM) dos oocistos e esporocistos, e averiguação da presença e ausência de estruturas morfológicas internas. Para o cálculo das médias e desvio padrão dos DM, dm e IM dos oocistos e esporocistos foi utilizado o software Microsoft Excel 2000®.

Para identificação dos oocistos recuperados utilizou-se como base nos critérios morfométricos adotados por Levine (1963), Soulsby (1987), Rebouças (1992), Gonçalves (2008) e Filho (2004). Os oocistos encontrados foram fotomiografados com auxílio de uma câmera digital Sony Cyber Shot 7.2 Mega Pixels DSC-W110-Prata.

2.4 Análise estatística

Os dados foram armazenados no programa de informática Excel for Windows, v. 2010, seguida da descrição morfológica, morfometria dos oocistos e micrografias das espécies de coccídios identificadas. E, análise estatística foi baseada no parasitismo dos animais considerando-se o sexo, a idade e períodos do ano seco e chuvoso, através do teste de Fisher pelo programa estatístico GraphPad Prism 500® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na observação dos suínos nativos durante a coleta, não foram evidenciados sinais clínicos de coccidiose intestinal nos suínos examinados, dos quais apresentaram um bom score nutricional. Pela análise morfométrica dos oocistos e esporocistos foram identificados quatro espécies do gênero *Eimeria* e uma espécie do gênero *Cystoisospora*, coccídios pertencentes à Família Eimeriidae e Sarcocystidae, respectivamente, determinantes de lesões no epitélio intestinal pela evolução biológica do ciclo de vida, ocasionando parasitismo intracelular. Observou-se também que as infecções eram mistas, visto que, esses animais estavam parasitados por mais de uma espécie de oocistos de coccídios. Após esporulação, os oocistos foram mensurados e identificados. Nas amostras fecais dos suínos nativos, após esporulação foram encontradas durante o período chuvoso, as espécies de *C. suis, Eimeria perminuta, Eimeria. scabra, Eimeria debliecki*, e *Eimeria polita* (Tabela 1)

A espécie de maior prevalência foi *E. scabra* com 31,8%, enquanto a menor prevalência foi *E. debliecki* com 11,9%. As espécies *C. suis*, *E. perminuta* e *E. polita*, obtiveram prevalência de 26,8%, 16,7% e 12,8%, respectivamente.

Tabela 1 - Morfometria dos oocistos esporulados das espécies do gênero *Eimeria* e *Cystoisospora* em suínos criados extensivamente na Baixada Maranhense, no período chuvoso, 2014 a 2015.

	Oocisto (μm)		Esporocisto (μm)			
Espécies	Diâmetros		I.M.*	Diâmetros		I.M.*
	Polar	Equatorial	•	Polar	Equatorial	•
C. suis	21,61±3,63	21,45±3,18	1,00±0,03	14,36±3,00	9,05±2,52	1,64±0,34
E. perminuta	21,75±3,08	21,75±3,08	1,00±0	12,72±2,21	8,35±1,57	1,57±0,38
E. scabra	33,02±3,92	25,04±3,71	1,32±0,08	15,17±3,67	11,29±1,31	1,34±0,30
E. debliecki	29,04±3,34	25,41±3,30	1,14±0,03	14,32±3,01	10,85±1,39	1,34±0,32
E. polita	40,14±6,36	27,60±5,49	1,47±0,12	18,71±5,12	12,13±2,12	1,54±0,35

I.M.= Índice morfométrico

A região da Baixada Maranhense possui campos que alagam durante a estação chuvosa, nesse período os suínos nativos ficam confinados em "retiros" em lugares mais elevadas durante dia e noite, recebendo alimentação no coxo, no chão e água *ad libitum* "em baldes plásticos, pneus", sendo que esse local é improprio para manutenção dos mesmos, considerando-se que realizam a evacuação e diurese *in loco*; muita das vezes alguns animais apresentam diarreia, devido ao estresse e déficit de resistência, permitindo a ação de agentes patogênicos, além da transmissão da coccidiose, visto que, inexiste o manejo higiênico-sanitário e nutricional, divisão de animais por faixa etária, isto é, suínos adultos e jovens alocados no mesmo espaço, havendo uma superlotação de animais. A condição de confinamento permite que o estresse do animal e a diminuição da resistência imunológica podem determinar a doença clínica e óbito de animais, principalmente os jovens.

No período seco a espécie de maior prevalência foi *E. scabra* com 49,4% e menor prevalência *E. perminuta* com 8,1%. As espécies *E. polita, E. debliecki* e *C. suis*, apresentaram prevalência de 20,5%, 11,8% e 10,2%, respectivamente. As espécies identificadas no período seco e sua análise morfométrica, estão sumarizadas na tabela 2.

Tabela 2 - Morfometria dos oocistos esporulados das espécies do gênero *Eimeria* e *Cystoisospora* em suínos criados extensivamente na Baixada Maranhense, no período seco, 2014 a 2015.

	(Oocisto (μm)		Es	porocisto (μπ	n)
Espécies	Diâm	netros	I.M.*	Diâm	netros	I.M.*
	Polar	Equatorial	1.1V1.	Polar	Equatorial	1.1V1.
C. suis	21,56±2,99	21,56±2,99	1±0	13,79±2,51	8,70±1,78	1,62±0,33
E. perminuta	24,54±3,00	24,54±3,00	1±0	13,29±2,23	9,88±1,84	1,38±0,32
E. scabra	32,38±2,53	24,88±2,53	1,30±0,02	13,30±2,58	11,44±0,95	1,16±0,22
E. debliecki	29,64±2,20	25,89±2,20	1,14±0,01	13,47±2,67	11,25±1,64	1,20±0,21
E. polita	39,24±5,76	26,85±4,72	1,47±0,12	17,61±4,79	11,58±1,29	1,51±0,37

I.M.= Índice morfométrico

De acordo com Hassum & Menezes (2005) os fatores climáticos como, temperatura, umidade relativa do ar e precipitação, apesar de não terem correlação com a intensidade de infecção dos animais, podem gerar de maneira indireta, variações no número de oocistos eliminados, no entanto, as práticas de manejo parecem ser as maiores responsáveis. A infecção ocorre após a ingestão de oocistos juntamente com água e/ou de alimentos contaminados com matéria fecal (SILVA et al., 2007).

Tenter et al., (2002) afirma que os caracteres fenotípicos tradicionalmente utilizados para a classificação de coccídios de *Eimeria* incluem a morfologia dos estágios disponíveis do parasita e especificidade de hospedeiros.

As espécies encontradas na pesquisa foram caracterizadas como:

Cystoisospora suis Biester, 1934

Os oocistos apresentaram-se na forma esférico a subesférico, medindo 21,6±3,56 μm por 21,4±3,16μm no seu diâmetro polar e equatorial respectivamente, com índice morfométrico de 1,00±0,03. Apresentaram coloração amarelada, ausência de micrópilo e parede dupla de aparência lisa. O valor do DM mínimo encontrado foi de 15μm e máximo 37,5μm, para o dm o valor mínimo foi de 15μm e máximo 33,75μm. Os dois esporocistos mediam 14,29±2,95μm x 9,01±2,44μm para o diâmetro polar e equatorial respectivamente, cada um contendo quatro esporozoítas, apresentando-se na forma elipsoidal e com resíduos granulares presentes, com índice morfométrico de 1,63±0,34. O valor do DM mínimo achado foi de 11,25μm e máximo de 26,25 μm, para o dm o valor mínimo foi 7,5μm e máximo 18,75μm (Figura 1).

No presente estudo, as medidas obtidas para o DM/dm e IM dos oocistos foi diferente do encontrado por Rebouças et al., (1992) e Levine (1963), onde o aspecto morfológico do oocisto foi o mesmo observado pelo primeiro autor e o segundo, que afirma que ele pode variar de subesférico a elipsóide. As características morfológicas e os valores morfométricos encontrados nesse estudo estão dentro dos valores mensurados por Soulsby (1987).

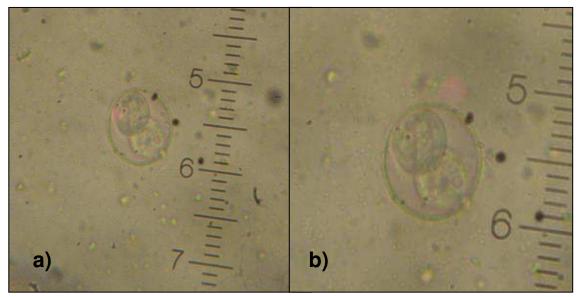


Figura 1 - Micrografia de oocisto esporulado de *Cystoisospora suis*: a) 100x; b) 400x, recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.

Eimeria perminuta Yakimoff, 1936

Os oocistos mediram 22,15±3,21μm x 22,15±3,21μm para seu diâmetro polar e equatorial, respectivamente, apresentando índice morfométrico de 1,00±0. Apresentou na forma esférica, coloração amarelada a transparente, ausência de micrópilo e resíduos, com parede dupla de aspecto áspero. O valor do DM mínimo encontrado foi de 15μm e máximo 37,5μm, para o dm o valor mínimo foi de 15μm e máximo 37,5μm. Os quatro esporocistos apresentaram, respectivamente, para o diâmetro polar e equatorial 12,80±2,2μm por 8,57±1,69μm, com índice morfométrico de 1,54±0,37. Apresentaram forma esférica a elíptica e ausência de grânulo polar. O valor do DM mínimo achado foi de 7,5μm e máximo de 18,75μm, para o dm o valor mínimo foi 7,5μm e máximo 11,25μm (Figura 2).

O valor do DM e dm foi acima do encontrado por Levine (1963) e Soulsby (1987), no entanto o aspecto morfológico do oocisto observado nesse estudo foi semelhante ao encontrado por Levine (1963), sendo que o autor afirmou que pode variar de esférico a elipsoidal, no entanto diferiu dos registrados por Soulsby (1987).

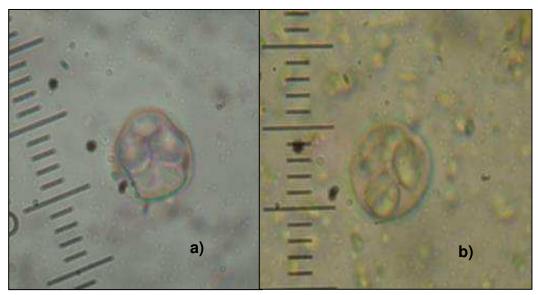


Figura 2 - Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria perminuta*: a) 400x; b) 400x, recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.

Eimeria scabra Henry, 1931

Os oocistos mediram 32,80±3,51μm x 24,99±3,35μm para o diâmetro polar e equatorial, respectivamente, com índice morfométrico de 1,31±0,07. Apresentou formato ovóide, coloração transparente, dupla parede grossa e de aparência lisa, micrópilo presente em alguns oocistos mensurados e ausência de resíduos. O valor do DM mínimo encontrado foi de 22,5μm e máximo 48,75μm, para o dm o valor mínimo encontrado foi de 18,75μm e máximo de 41,25μm. Os esporocistos mediram 14,52±3,45μm x 11,34±1,20μm para o diâmetro polar equatorial, respectivamente, com índice morfométrico de 1,28±0,29, apresentando forma esférica a elíptica, alguns com presença de grânulo polar. O valor do DM mínimo achado foi de 11,25μm e máximo de 26,25μm, para o dm o valor mínimo foi 7,5μm e máximo 18,75μm (Figura 3).

Os valores obtidos para DM, dm, IM e morfologia nesses estudo foram os mesmos encontrados por Filho et al., (2004) e de acordo com as características morfológicas, como a presença de micrópilo e os valores mensurados por Soulsby (1987). Entretanto, Levine (1963) já observou formas ovoides a elipsoides com Dm e dm diferentes dos observados nesta pesquisa. Ademais, Gonçalves (2008) encontrou medidas morfométricas nos oocistos diferentes, observando também a presença do o corpo de "Stieda", o que não foi observado nessa pesquisa.

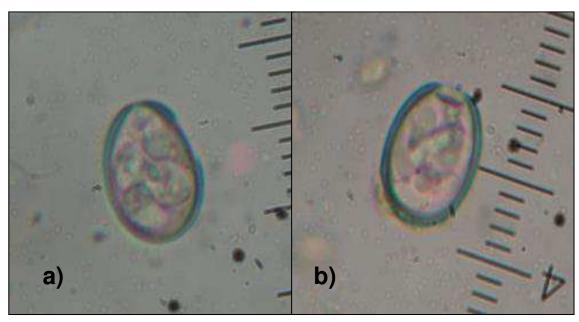


Figura 3 - Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria scabra*, oocisto sem a presença da micrópila (a) 400x e com a micrópila (b) 400x, recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.

Eimeria debliecki Douwes, 1921

Os oocistos mediram 29,19±3,09μm x 25,53±3,06μm para o diâmetro polar e equatorial, respectivamente, com índice morfométrico de 1,14±0,02. Apresentou forma subesférica, parede dupla de aspecto lisa, coloração transparente, resíduos ausentes, micrópilo presente em alguns oocistos mensurados. O valor do DM mínimo encontrado foi de 18,75μm e máximo 41,25μm, para o dm o valor mínimo encontrado foi de 15μm e máximo de 37,5μm. Os esporocistos mediram respectivamente para o diâmetro polar e equatorial, 14,10±2,94μm por 10,95±1,46μm, com índice morfométrico de 1,30±0,30, apresentando formato esférico e granulo polar ausente. O valor do DM mínimo achado foi de 11,25μm e máximo de 22,5μm, para o dm o valor mínimo foi 7,5μm e máximo 15μm (Figura 4).

Os resultados da morfometria dos oocistos encontrados nesse estudo foram divergentes ao observado por Gonçalves (2008) e Soulsby (1987); porém as características morfológicas e a presença da micrópila encontradas nesta pesquisa foram semelhantes às observadas por Soulsby (1987). No entanto, tanto a morfologia quanto a micrométrica foram semelhantes às encontradas por Levine (1963), que afirmou que a espécie pode apresentar a forma subesférica.

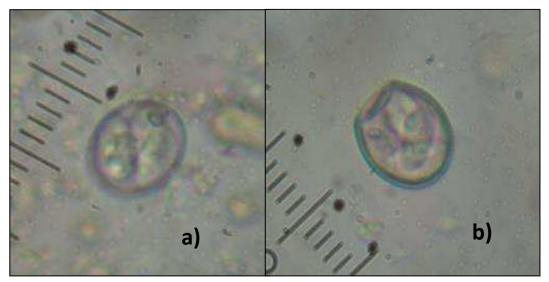


Figura 4 - Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria debliecki*, oocisto sem a presença da micrópila (a) (400x) e com a micrópila (b) (400x), recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.

Eimeria polita Pellérdy, 1949

Os oocistos mediram 39,82±6,15μm x 27,33±5,23μm para o diâmetro polar e equatorial, respectivamente, com índice morfométrico de 1,47±0,12, que apresentaram forma elipsóde, coloração transparente a amarelada, resíduos ausentes, com parede dupla e de aparência lisa e micrópilo presente em alguns oocistos. O valor do DM mínimo encontrado foi de 30μm e máximo 52,5μm, para o dm o valor mínimo encontrado foi de 18,75μm e máximo de 40μm. Os quatro esporocistos mediram para o diâmetro polar e equatorial respectivamente, 18,32±5,02μm por 11,93±1,88μm, com índice morfométrico de 1,53±0,35, apresentando formatos elipsóides e presença de grânulo polar. O valor do DM mínimo encontrado foi de 11,25μm e máximo 33,75μm, para o dm o valor mínimo encontrado foi de 7,5μm e máximo de 18,75μm (Figura 5).

No presente estudo, as medidas obtidas para o DM e dm dos oocistos, foi diferente ao resultado obtido por Filho et al., (2004); entretanto, quanto as características morfológicas com ausência de micrópila observado nos trabalhos realizados por Gonçalves (2008) foram semelhantes às encontradas nesta pesquisa. Considerando somente o aspecto morfológico, os oocistos esporulados foram semelhantes aos observados por Levine (1963) e Soulsby (1987) e os autores citados anteriormente.

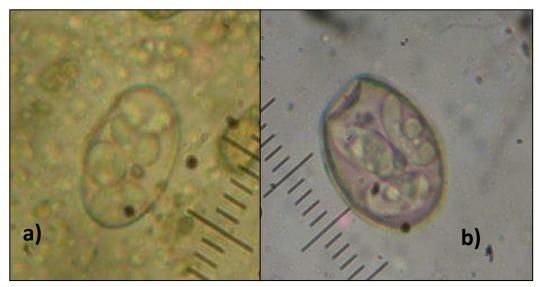


Figura 5 - Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria polita*, oocisto sem a presença da micrópila (a) (400x) e com a micrópila (b) (400x), recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.

Em algumas observações dos oocistos, não foi possível observar a dupla camada da parede do mesmo, no entanto, Belli et al. (2006) afirma que a não observação da camada dupla da parede do oocisto é devido as camadas por serem muito finas e estão fundidas, o que dificultou a sua observação correta por microscopia de luz.

Observou-se uma variabilidade morfológica de oocistos esporulados nesse estudo compatíveis com outros autores, no entanto, Todd & Ernst (1997) afirmam que vários fatores podem alterar a morfologia dos oocistos dentro de uma mesma espécie, assim como, espécies distintas podem possuir estádios evolutivos com morfologia semelhante.

Algumas características devem ser consideradas para a identificação e classificação de uma espécie de coccídio, como espécie hospedeira susceptível, localização de cada estádio evolutivo no hospedeiro, patogenicidade, especificidade imunológica, período pré-patente, e tempo de esporulação. Uma característica morfológica considerada de grande importância no auxílio da diferenciação das espécies do gênero *Eimeria* é o índice morfométrico, uma vez que o tamanho do oocisto pode ser variável, mas seu índice morfométrico (IM) tende a ser constante, permitindo verificar a tendência da forma do oocisto (LONG & JOYNER, 1984). A variação no tamanho dos oocistos esta relacionada às sucessivas infecções encontradas em condições naturais e, do estado fisiológico do hospedeiro (FAYER, 1980). Joyner (1982) propôs a substituição do cálculo do IM utilizado habitualmente, uma vez que apesar de ocorrerem deformações, os oocistos apresentavam sua

forma característica dentro de uma mesma faixa de dimensões, tendendo a ser mais constante do que o tamanho.

Ramirez et al. (2008) encontrou as espécies *E. scabra, E. polita, E. debliecki, E. porci, Eimeria neodebliecki, E. suis* e *C. suis*. no município de Rio Claro, microrregião do Vale do Paraíba, Sul Fluminense, onde os suínos eram criados de forma rústica. Filho et al. (2004) ao identificar espécies do gênero *Eimeria* em suínos criados em condições rústicas no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, encontrou as espécies *E. neodebliecki, E. scabra* e *E. polita*.

Hamadejova et al. (2005) encontrou a prevalência de 24,8% de *C. suis* em leitões da República Tcheca, onde a frequência foi maior no outono e menor no verão. Prevalência semelhante foi achada por Karamon et al. (2007), em que 27,8% dos leitões em fazendas da Polônia apresentaram *C. suis* e *E. debliecki* (1,4%), *E. suis* (0,4%) e *E. polita* (1,9%). O mesmo autor ainda afirma que o sistema de produção, as condições de criação e o estado de higiene em granjas de suínos também podem ter um impacto sobre algumas diferenças na prevalência de infecções de coccídios em leitões. Chae et al. (1998) encontraram a maior frequência de Isosporose em rebanhos suínos nos meses de verão, quando a temperatura nas baias acelera a esporulação dos oocistos.

Pinto et al. (2007) ao verificar a ocorrência de endoparasitoses em suínos criados à solta na periferia de Itabuna na Bahia, encontraram 70% de suínos parasitados com oocistos de coccídios (*Eimeria* sp. e *Cystoisospora* sp.). Nishi et al. (2000) encontraram 22,8% de coccídios em suínos no Estado de Minas Gerais e 13,7% em suínos em São Paulo. Leon (2009) encontrou uma prevalência de 31,9% de *C. suis* em leitões de até duas semanas de idade em suinoculturas intensivas localizadas no Estado de Aragua, Venezuela. D'Alencar et al. (2006) acharam apenas 1,60% dos suínos infectados por coccídios, no qual 0,71% para o gênero *Eimeria* e 0,44% para *C. suis* no município de Camaragibe, em Pernambuco. Essa baixa prevalência encontrada pelos autores pode ser explicada pelo sistema de criação dos animais, que foi o regime confinado, onde os animais tinham alimentação, medicação e manejo adequado, o que diminui o índice de infecção por coccídios.

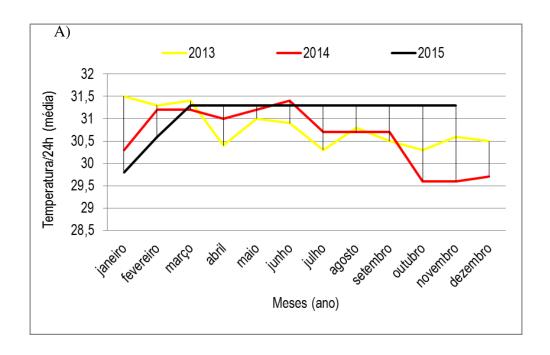
Os oocistos encontrados e mensurados no presente estudo apresentaram um pleomorfismo em comparação com medidas encontradas por outros autores (GONÇALVES, 2008) e (FILHO, 2004). De acordo com Fayer (1980) e Joyner (1982), o pleomorfismo encontrado na observação de oocistos distintos, pode ser resultado da dificuldade, ou facilidade, do desenvolvimento dos oocistos frente aos mecanismos de defesa do hospedeiro,

das reinfecções, ou de fatores de diapausa que variam de espécies de coccídios em um mesmo e/ou diferentes hospedeiros.

Os dados climáticos de temperatura média (24h) e pluviosidade acumulada (24h) dos municípios pertencentes à Baixada Maranhense demostraram que nos meses do ano de 2013 houve uma variação entre 30,5 a 31,5 °C. Em 2014 apresentou temperaturas abaixo de 30°C nos meses de outubro a dezembro; enquanto os meses que antecederam foram acima de 30°C com variação até 31,5°C. E, no ano de 2015 somente o mês de janeiro que apresentou a média de 29,8°C, e a partir de fevereiro essa temperatura foi constante sem nenhuma variação, até o mês de outubro do referido ano (31,3°C), portanto considera-se que a temperatura anual da região é elevada (Figura 6A). Com relação à pluviosidade observou-se que durante os meses de janeiro a julho do período de 2013 a 2014 houveram chuvas espaçadas, sendo que no ano de 2014 e 2015 obtiveram maiores picos de chuvas, entretanto a partir de agosto não ocorreram chuvas, durante esses períodos; no qual foi observada a existência cíclica das chuvas, com períodos de variabilidade, escarces e períodos isentos de chuva (Figura 6B).

Essas características principais do clima da Baixada Maranhense, é a presença de dois períodos distintos: um chuvoso e outro de seca e estiagem, aparentando paisagens diferenciadas do local, em função da sazonalidade. Segundo Silva (2007), o município de Pinheiro apresenta clima quente e úmido, com duas estações climáticas bem definidas: a estação de estiagem entre os meses de agosto e dezembro e a estação chuvosa, de janeiro a julho com índices pluviométricos em torno de 2000 a 2400 mm/ano, com temperatura anual entre 26°C a 32°C e umidade relativa do ar variando entre 79 e 82%.

Valores médios do OoPG encontrados apresentaram uma variação de 770 a 1390 (período seco) e 523,33 a 673,33 (período chuvoso), demonstrando assim que houve interferência durante o período seco, com quantitativos elevados de OoPG. Entretanto, quanto ao sexo dos animais eles estavam mais parasitados durante o período das chuvas. Esse evento deve-se ao manejo dos animais realizados pelos criadores da região, que mantem os animais confinados em retiros durante o período das chuvas, com alimentação e água *ad libitum*, fato este que inexiste déficit de energia, portanto ocorre um equilíbrio fisiológico entre parasito/hospedeiro (Figura 7).



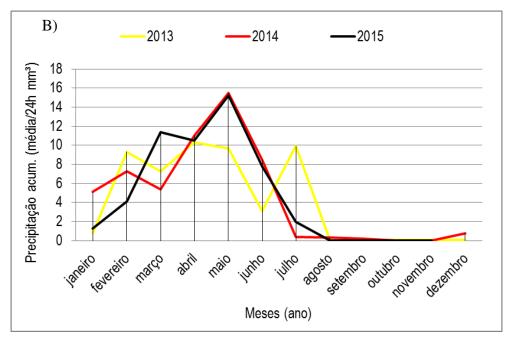


Figura 6 − A) Valores médios da temperatura (°C); B) Pluviosidade acumulada (mm³), período de 2013 a 2015, da Baixada Maranhense. Fonte: Município de Alcântara (02°20′ S; 44°24′ W) com Alt. 56m. NUGEO/UEMA.

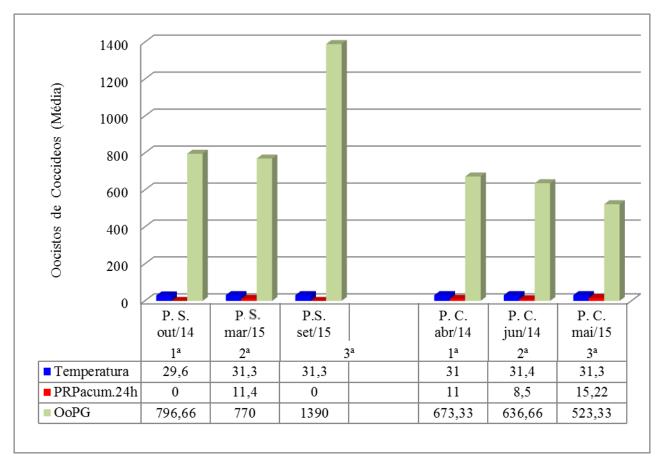


Figura 7 – Valores médios de temperatura, pluviosidade e OoPG de coccídios de suínos nativos da Baixada Maranhense, durante o período seco e chuvoso de 2014 a 2105. Fonte: Município de Alcântara (02°20' S; 44°24' W com Alt. 56. NUGEO/UEMA

Quando se comparou o parasitismo dos coccídeos intestinais em suínos nativos durante o período seco e chuvoso, independente de idade e sexo observou-se que as fêmeas adultas encontravam-se mais parasitadas do que os machos adultos e machos jovens, não havendo diferença estatística entre eles pelo teste de Fisher (P>0,05; P>1,000); excetuando-se quando comparado com as fêmeas jovens, no qual apresentou diferença estatística significativa (P<0,0337). No entanto, entre os animais jovens, o sexo não foi determinante quanto à infecção do coccídeo, isto é, não foi observada diferença estatística significativa (P>0,2218). A eliminação de oocistos pelos suínos foi possivelmente mantida pelas fêmeas adultas, considerando-se foi a que apresentou maior parasitismo, durante a execução da pesquisa; e, também pelas condições ambientais adequadas à dispersão e manutenção dos oocistos no meio ambiente.

Tabela 3 – Prevalência de parasitismo por coccídios em suínos nativos da Baixada Maranhense, considerando sexo e idade, durante o período seco e chuvoso de 2014 a 2015.

Período	Adultos		Jovens	
do ano	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Seco	9a	27ab	24abd	30acd
Chuvoso	10a	37ab	25abd	18acd
Total	19	64	49	48

Teste Qui-quadrado = 0,87 OR= 0,9098; IC (95%) = 0,4978 - 1,663

4 CONCLUSÃO

Os suínos nativos da Baixada Maranhense apresenta infecção por coccídios intestinais das espécies *Eimeria polita*, *Eimeria scabra*, *Eimeria debliecki*, *Eimeria perminuta* e *Cystoisospora suis*, verificadas tanto no período seco como no chuvoso. A espécie *Eimeria scabra* foi a que apresentou a maior prevalência nos dois períodos do ano pesquisados. Os animais apresentam maior carga parasitária, durante o período seco, independente das espécies de coccídios.

REFERÊNCIAS

BELLI, S.I.; SMITH, N.C.; FERGUSON, D.J. The coccidian oocyst: a tough nut to crack! **Trends Parasitol**, v. 22, p. 416-423. 2006.

CHAE, C.; KNOW, D.; KIM, O.;MIN, K.; CHEON, D-S.; CHOI, C.; KIM, B,; SUH, J. Diarrhea in nursing piglets associated with coccidiosis: prevalence, microscopic lesions and coexisting microorganisms. **Veterinary Record**, v.143, n. 15, p.417-420, 1998.

D'ALENCAR, A.S.; FAUSTINO, M.A. da G.; SOUSA, D.P. de; LIMA, M.M. de; ALVES, L.C.A. Infecção por helmintos e coccídios em criação de suínos de sistema confinado localizada no município de Camaragibe-PE. **Ciência Veterinária dos Trópicos**, v. 9, n. 2-3, p. 79-86. 2006.

DENIZ, A. (2008). Baycox® 5% Toltrazuril coccidiocide for lamb. Technical Manual – Bayer Health Care, Animal Health. Germany.

FAYER, R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. **Veterinary Parasitology**. v.6, n.1, p.75-103, 1980.

FIGUEIREDO, P.C. Infecções naturais por *Eimerias* em bovinos de raças leiteiras no Estado do Rio de Janeiro, 1982. 83f. *Dissertação* (Mestrado em Parasitologia Veterinária) — Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Itaguaí, 1982.

FILHO, P.R.C.; MASSAD, F.V.; LOPES, C.W.G.; FILHO, W.L.T.; OLIVEIRA, F.C.R. Identificação e comparação de espécies do gênero *Eimeria* Schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) oriundas de suínos através de um algoritmo morfológico. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 11, n. 3, p. 156-159. 2004.

FORTES, E. **Parasitologia veterinária**. 4ªed. São Paulo: Ícone, 2004.

FRONTERA, E.; ALCAIDE, M.; REINA, D.; CALERO, GUTIÉRREZ-CABALLERO & GAMITO, J.A. Enfermedades parasitarias del porcino: Coccidiosis y helmintosis gástricas. **Suis**, v. 39, p. 46-56. 2007.

GONÇALVES, L.R. Frequência de endoparasitos e considerações sobre as espécies do gênero *Eimeria* schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) em suínos do município de Rio Claro, microrregião do Vale do Paraíba sul fluminense, Estado do Rio de Janeiro. 2008. 72p. *Dissertação* (Mestrado em Microbiologia Veterinária) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

HAMADEJOVA, K.; J. VITOVEC. J. Occurrence of the coccidium *Isospora suis* in piglets. **Veterinary Medicine**, v. 50, p. 159–136. 2005.

HASSUM, I.C.; MENEZES, R.C.A.A. Infecção natural por espécies do gênero *Eimeria* em pequenos ruminantes criados em dois municípios do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.**, v. 14, n. 3, p. 95-100, 2005.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas, 2008. Disponível em: http://<www.ibge.gov.br>. Acesso: 22/11/2015.

IMAROM, S. Untersuchungen zur Ausscheidung von Eimerienoozysten durch Sauen im Laufe eines Fortpflanzungszyklus. **Vet. Med. Diss.**, Hannover, Germany, 1997.

JOYNER, L.O. Host and Site specificity. In: LONG, P.L.(ED.), **The Biology of the Coccidia**, 1982, Baltimore. University Park Press, p.35-62, 1982.

KARAMON, J.; ZIOMKO, I.; CENCEK, T. Prevalence of *Isospora suis* and *Eimeria* spp. in suckling piglets and sows in Poland. **Veterinary Parasitology**, v. 147, p. 171–175. 2007.

LEÓN, J.C.P. Prevalencia de *Isospora suis* en granjas porcinas intensivas ubicadasen el estado Aragua, Venezuela. **Zootecnia Tropical**, v. 27, p. 205-213. 2009.

LEVINE, N. D. **Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man.** 2. ed. Minneapolis: Burgess Publishing, 1963, 406 p.

LIMA, J.D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária,** v. 13, p. 9-13. 2004.

LONG, P.L.; JOYNER, L.P. Problems in the identification of species of *Eimeria*. **Journal of Protozoology**, v. 31, p. 535-541, 1984.

NISHI, S.M.; GENNARI, S.M.; LISBOA, M.N.T.S.; SILVESTRIM, A.; CAPRONI Jr, L.; UMEHARA, O. Parasitas intestinais em suínos confinados nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.67, n.2, p.199-203, 2000.

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

PINTO, J.M.S.; COSTA, J.O.; SOUZA, J.C.A. Ocorrência de endoparasitos em suínos criados em Itabuna, Bahia, Brasil. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 10, p. 79-85, 2007.

RAMIREZ, L.; FILHO, W. L.T; FLAUSINO, W.; BERTO, B.P.; ALMEIDA, C.R.R.; LOPES, C.W.G. Contribuição sobre a morfologia das espécies do gênero *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) de suínos do Município de Rio Claro, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 30, p. 238-242, 2008.

REHMAN, T.; KHAN, M.N.; KHAN, I.A.; AHMAD, M. Epidemiology and Economic Benefits of Treating Goat Coccidiosis. **Pakistan Veterinary Journal**. v.31, n.3, p. 227-230, 2011.

SCHWARTZ, K. Swine Coccidiosis. Extension Bulletin. Major Rev., September 2002.

SHEATHER, A.L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics.**, v. 36, p. 266-275, 1923.

SILVA, L.C. Implicações Sócio-ambientais da construção da barragem do rio Pericumã sobre a cidade de Pinheiro-MA. **Monografia** (Graduação em Geografia) — Universidade Federal do Maranhão, Pinheiro, 2007.

SILVA, T.P.; FACURY FILHO, E.J.; NUNES, A.B.V.; ALBUQUERQUE, F.H.M.A.R.; FERREIRA, P.M.; CARVALHO, A.U. Dinâmica da infecção por *Eimeria* spp. em cordeiros da raça Santa Inês criados em sistema semi-intensivo no Norte de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 1468-1472, 2007.

SOULSBY, E.J.L. **Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos.** 7. ed. México: Interamericana, 1987. 823 p.

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

TODD, K.S.; ERNST, J.V. Coccidia of mammals except man. In: Kreier, J.P. (Ed.), **Parasitic protozoa**. Academic Press, New York. p.71-99 1977.

URQUHART, G.M.; J. ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**. 2. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1998. 273p.

CAPÍTULO 3

PREVALÊNCIA DE CRIPTOSPORIDIOSE EM SUÍNOS NATURALIZADOS DE CRIAÇÃO EXTENSIVA EM CAMPOS ALAGADOS NO MARANHÃO, BRASIL

CRYPTOSPORIDIOSIS PREVALENCE IN SWINE BREEDING NATURALIZED EXTENSIVE IN NO FLOODED FIELDS MARANHÃO, BRAZIL

Thayane Ferreira Fernandes²; Ana Clara Gomes dos Santos²

RESUMO

Cryptosporidium spp. é considerado um parasito cosmopolita de caráter zoonótico, a diarreia causada por esse parasito mostra um quadro clínico raro e, quando presente, é uma diarreia não hemorrágica profusa. O objetivo do trabalho foi verificar a prevalência da criptosporidiose em suínos naturalizados de criação extensiva em campos alagados no Maranhão. O estudo foi realizado no município de Bacurituba. Os suínos foram escolhidos aleatoriamente, 180 amostras foram coletadas, onde o material fecal foi colhido diretamente da ampola retal, com auxílio de luvas lubrificadas e identificadas. Em seguida refrigerados e transportados em caixas isotérmicas, com gelo, até o Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual do Maranhão. Para diagnóstico realizou-se a técnica de concentração, pelo método de Hoffman, Pontes e Jane (1934) e coloração dos oocistos pela técnica de Ziehl Neelsen utilizando-se o Verde Malaquita como contra-corante. Foi pipetado 50µl da concentração fecal, colocados sobre as lâminas microscópicas e feito os esfregaços. As lâminas foram secas com uso de secador, fixadas em álcool absoluto por cinco minutos e em seguidas flambadas. Foi colocada sobre as lâminas, solução de fucsina, por cinco minutos e seguida, lavadas em água corrente, posteriormente submersas por duas a quatro vezes em álcool ácido a 1% e lavadas em água corrente. Finalmente, a solução de Verde Malaquita foi colocada por sobre as lâminas por um minuto, e essas foram novamente lavadas em água corrente, e secas à temperatura ambiente. Observou-se uma prevalência de 26,7% de parasitismo por Cryptosporidium spp. nos suínos examinados, sendo os animais jovens mais susceptíveis à doença, apesar de não apresentarem nenhuma sintomatologia. Não foi observada diferença estatística significativa dentre os sexos dos animais (P>0,05). A carga parasitária foi de leve a moderada, sendo que os animais jovens e adultos fêmeas que apresentaram maior positividade. Concluímos que os suínos da Baixada Maranhense albergam o Cryptosporidium spp. de forma assintomática, o que mantem a disseminação do protozoário entre os animais, principalmente no período das chuvas, onde permanecem confinados em retiros.

Palavras-chave: Cryptosporidium spp.; Oocistos; Ziehl Neelsen.

ABSTRACT

Cryptosporidium spp. is considered a cosmopolitan parasite zoonotic, diarrhea caused by this parasite shows a rare clinical condition and, when present, is a non-hemorrhagic diarrhea profuse. The aim of the study was to determine the prevalence of cryptosporidiosis in pigs naturalized extensive breeding in flooded fields in Maranhão. The study was conducted in the citie of Bacurituba. The pigs were randomized, 180 samples were collected, where the fecal material was collected directly from the rectum, with the help of lubricated and identified gloves. Then refrigerated and transported in cool boxes with ice, to the Parasitology Laboratory of the State University of Maranhão. For diagnosis performed to concentration technique, the method of Hoffman, Pontes and Janne (1934) and staining by the Ziehl Neelsen oocysts technique using Malachite Green as the counter stain. It was pipetted 50mL of fecal concentration, placed on microscope slides and smears made. The slides were dried with dryer use, fixed in absolute alcohol for five minutes and flamed followed. Was placed on slides, fuchsin solution for five minutes and then washed in water, then immersed for two to four times in 1% acid alcohol and washed in water. Finally, Malachite Green solution was placed over the slides for one minute, and these were again washed in water and dried at room temperature. There was a prevalence of 26.7% of parasitism by Cryptosporidium spp. in the pigs examined, young animals more susceptible to disease, though not presenting any symptoms. There was no significant statistical difference among the sexes of animals (P> 0.05). The parasite load was mild to moderate, and the young animals and adult females had higher positivity. We conclude that pigs Baixada Maranhense harbor Cryptosporidium spp. asymptomatically, which keeps the spread of the parasite among animals, especially during the rainy season, where they remain confined in retreats.

Keywords: *Cryptosporidium* spp.; oocysts; Ziehl Neelsen.

1 INTRODUÇÃO

Os suínos são espécies de importância relevante na produção de carne para o consumo humano, e dependendo da rentabilidade desta produção e do grau de eficiência da mesma, as doenças parasitárias podem conduzir a perdas bastante significativas nos principais indicadores da eficiência produtiva (DURO, 2010).

A importância da criptosporidiose em animais de produção é traduzida não só pelo potencial zoonótico de algumas espécies como também pela perda econômica que esta infecção promove (OLSON et al., 2004), que podem ser diretas e indiretas, por comprometer o desenvolvimento e a produção, havendo uma redução no ganho de peso dos animais acometidos, especialmente quando são mantidos em sistema de criação com falhas no manejo sanitário e nutricional (SOLTANE et al., 2007). Pelo fato da criptosporidiose geralmente ocorrer de forma assintomática ou com poucas alterações clínicas nos suínos (VÍTOVEC et al., 2006), a sua presença pode não ser notada nas criações, o que provoca prejuízos econômicos para o produtor (BILIC & BILKEI, 2006).

Cryptosporidium spp. tem sido encontrado parasitando suínos em diversas partes do mundo, Vitovec et al. (2006) encontrou o parasito em fazendas no Sul da Boêmia na República Checa, sendo observada em leitões pré-desmamados (5,7%) e leitões desmamados (24,1%). Em fazendas no Sul da Alemanha, Weiler et al. (2001) encontraram somente 1,4% de Cryptosporidium spp. em leitões com diarreia. Suárez-Luengas et al. (2007) encontraram oocistos de Cryptosporidium em 22,5% dos suínos analisados provenientes de fazendas na Espanha. Fiuza (2008) encontrou 40% e 29,3% de prevalência de Cryptosporidium em granjas familiares e tecnificadas, respectivamente, no Rio de Janeiro.

A principal metodologia de diagnóstico utilizada, na maioria dos laboratórios, é a que permite a identificação da presença de oocistos nas fezes, sem a determinação da espécie de *Cryptosporidium* envolvida (O'DONOUGHUE, 1995). Este fato deve-se a duas razões principais: a facilidade dos procedimentos laboratoriais e o relativo baixo custo, quando comparados a metodologias mais elaboradas, como a reação da Polimerase em cadeia (PCR). Essa identificação pode ser realizada mediante técnicas de coloração de esfregaços fecais em lâminas de vidro ou por técnicas de exames a fresco (HUBER; BOMFIM; GOMES, 2004).

A Baixada Maranhense concentra o maior polo de suínos naturalizados explorados em sistemas ultra-extensivos. Considerando-se que o Maranhão apresenta um dos mais baixos índices de desenvolvimento humano do Brasil e que a suinocultura apresenta-se como atividade de grande importância social, como criação de subsistência, o estudo das

diferentes formas de melhoria da sanidade do rebanho e a investigação das coccdioses contribuirá com o desenvolvimento humano e, consequentemente, do Estado, sendo também que ocorre a inexistência de informações a respeito das doenças parasitárias que acometem os suínos nativos, o que dificulta a adoção de medidas de controle e erradicação das mesmas. O objetivo do trabalho foi verificar a prevalência da criptosporidiose em suínos naturalizados de criação extensiva em campos alagados no Maranhão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Processamento das amostras fecais

Foram visitados retiros de suínos nativos do município de Bacurituba, localizado na microrregião da Baixada Maranhense, da Macrorregião Norte do Estado, apresentando a seguinte coordenada geográfica (2°42′22″ S e 44°44′18″ O), distante 300 quilômetros de São Luís, MA. Foram coletado 180 amostras fecais de suínos de idades variadas, entre 30 dias a 54 meses, de ambos os sexos, diretamente da ampola retal com uso de luvas de procedimento cirúrgico e lubrificadas com vaselina, acondicionadas em caixas isotérmicas em baixa temperatura (8-10°C) para o transporte até o Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual do Maranhão, para o processamento e diagnóstico da presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas fezes coletadas. Foi utilizada a técnica de concentração por sedimentação simples, pelo método de Hoffman, Pontes e Janne (1934) e coloração dos oocistos pela técnica de Ziehl Neelsen, utilizando-se o Verde Malaquita como contra-corante. Considerou-se nesse estudo como animais jovens até 12 meses de idade e adultos acima dessa faixa etária, de acordo com Mundim (2004).

2.2 Preparação das lâminas

Foram utilizadas quatro gramas de fezes individuais dos suínos, acondicionadas em tubos de ensaio com tampa e identificados. Após processamentos da técnica de concentração de oocistos foi retirado uma alíquota de 50µl do analítico, colocado sobre a lâmina e realizado os esfregaços; em seguida secos com auxílio de um secador, fixadas em Álcool Absoluto e flambadas. Após secagem foi realizado o protocolo de coloração segundo Ribeiro (2015), que consiste no uso de solução de Fucsina, lavagem em água corrente; imersão em Álcool Ácido a 1%, posteriormente lavadas em água corrente, seguido de imersão das lâminas na solução de Verde Malaquita por um minuto, novamente lavadas em água corrente e secas à temperatura ambiente. Após esse procedimento foi realizado a leitura das lâminas em microscopia óptica, em objetiva de 40x e de imersão (100x).

2.3 Leitura das lâminas

Após a coloração das lâminas, foi realizada a leitura das mesmas, onde foi considerada positiva a partir de um oocisto/campos microscópio, sendo quantificados e classificados com carga parasitária (CP) de leve (+ = 1-5), moderada (++ = 6-10) e pesada (+++ = >10), onde se analisou em 20 campos microscópio em objetiva de 40x e 100x em imersão.

2.4 Análise estatística

Os resultados foram demonstrados através da descrição morfológica e pela coloração que os oocistos apresentavam. A análise dos dados foi realizada pelo teste estatístico exato de Fisher, comparando-se o parasitismo em relação ao sexo e faixa etária dos suínos, análise estatística pelo SolfWare GraphPad Prism 500® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observada uma prevalência de parasitismo de 26,7% (n=48) das 180 amostras fecais analisadas, considerado um resultado elevado quando comparado aos registros já verificado por Yu & Seo (2004), onde encontraram 10,5% de positividade em suínos oriundas de fazendas e um açougue na Coreia do Sul. Já, Johnson et al. (2008) observaram uma maior positividade para os suínos criados em explorações ao ar livre, em comparação com aqueles criados em ambientes fechados, em suínos domésticos na Austrália Ocidental, onde os leitões pré-desmamados obtiveram prevalência de 10,6% e os pós desmamados 32,7%. Os suínos da Baixada Maranhense são criados nos campos "a solta" em sistema de criação ultra-extensivo, entretanto quando ocorre o período da chuva esses animais são confinados em "retiros" o que pode ter proporcionado a infecção e disseminação do protozoário.

A Criptosporidiose em suínos é uma doença que causa uma diarreia não hemorrágica, que afeta principalmente os leitões recém-desmamados. É geralmente associado a diarreias em indivíduos jovens e a gastrenterites graves e prolongadas em pessoas imunodeficientes. O principal fator de risco para os leitões é o fato do sistema imune não está completamente formado.

Nesse estudo foi observado que os animais jovens foram mais susceptíveis a Cripitosporidiose, assim como as fêmeas adultas, provavelmente pelo contato direto desses animais durante a amamentação e o período de cria, ocorrendo assim à transmissão direta (Figura 1).

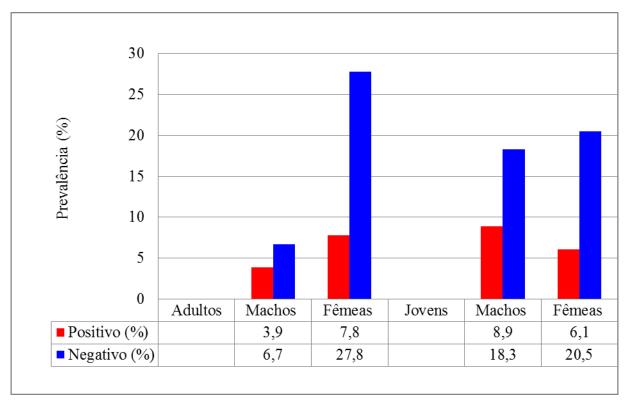


Figura 1 – Prevalência de *Cryptosporidium* spp. em suínos de criação extensiva na Baixada Maranhense, de 2014 a 2015.

Fiuza et al. (2009) realizando a comparação entre granjas suinícolas quanto ao seu sistema de criação (familiar ou tecnificada), localizadas nas Regiões Norte e Noroeste do Rio de Janeiro, encontraram 60% de positividade para oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas propriedades familiares e 64,1% nas tecnificadas, o tipo de criação pode ter influenciado na disseminação dos oocistos de *Crytosporuidium* spp. Suinoculturas fechadas não são influenciadas por mudanças climáticas sazonais, diferindo neste aspecto, de rebanhos ao ar livre (HAMNES et al., 2007).

Analisando o parasitismo por *Cryptosporidium* spp. em suínos nativos comparando ao sexo e idade foi verificado através do Teste de Fisher que não existe associação do parasito em relação as variáveis estudas (P=0,0894), provavelmente pela coabitação desses animais estarem sempre juntos, nos campos em pastejo "soltos", em busca dos alimentos durante o período seco ou quando estão nos "retiros" durante o período das chuvas, no qual permanecem confinados, dividindo o mesmo espaço (Tabela 1). Demonstrando assim que a transmissão do parasito é feita de forma direta, principalmente pelos manejos adotados pelos criadores, sem separação por faixa de idade e também a limpeza das instalações, considerando-se que esses animais são mantidos em piso de chão batido.

Tabela 1 – Avaliação do parasitismo por *Cryptosporidium* spp. em suínos nativos da Baixada Maranhense, de acordo com o sexo e idade, durante o período de 2014 a 2015.

	Animais		
Sexo	Adulto	Jovem	Total
Macho	7	16	23
Fêmea	14	11	25
Total	21	27	48

Teste de Fisher (P= 0.0894) = n.sig.; OR= 0.3438; IC= 0.1047 - 1.129

As amostras fecais dos suínos nativos apresentaram oocistos de *Cryptosporidium* spp. em 20 campos microscópicos, equivalente a 5µm (Figura 2). Quanto à prevalência da Cripitosporidiose em suínos obtiveram uma CP de "leve" a "moderada", sendo os animais jovens e fêmeas adultas os que apresentaram maior positividade. Não foi evidenciado animais com CP "pesada" (Figura 3). Nenhum dos animais infectados apresentou diarreia ou outro sinal clínico característico da parasitose.

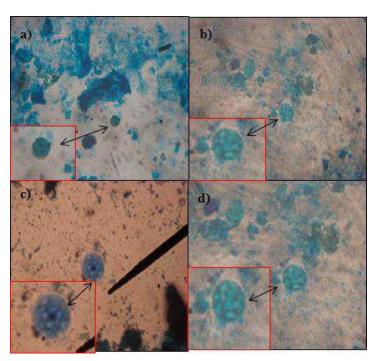


Figura 2 – Micrografia de oocisto de *Cryptosporidium* spp. (seta) obtido de fezes de suínos, corado pela técnica de Ziehl-Neelsen, contra-corante de Verde Malaquita (RIBEIRO, 2015) equivalente a 5 μm: a) 10x; b, c) 40x; d) 100x.

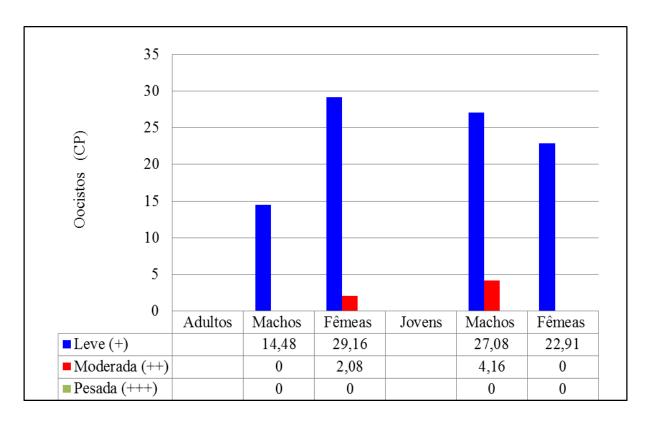


Figura 3 – Prevalência de suínos nativos da Baixada Maranhense que apresentaram carga parasitária com oocisto de *Cryptosporidium* spp., período de 2014 a 2015.

Quiles et al. (1993) analisaram as fezes de 620 suínos de 27 fazendas diferentes de Aragon, no Nordeste da Espanha, encontraram oocistos de *Cryptosporidium* em 21,9% dos suínos examinados a partir de 77,8% das fazendas pesquisadas. As infecções criptosporídicas foram assintomáticos na maior parte dos porcos (90,4%) e geralmente de baixa intensidade, uma vez que 92,6% dos porcos infectados tiveram poucos oocistos excretados (0-1 oocistos por campo em × 200 ampliações), resultado semelhante encontrado no presente estudo.

Devido à excreção irregular e distribuição heterogênea de oocistos de coccídios oportunistas nas amostras de fezes de hospedeiros infectados, é recomendado que as amostras fossem concentradas por métodos de flutuação ou sedimentação, antes da coloração de esfregaço fecal (HUBER; BONFIM; GOMES, 2004). Os animais jovens parecem ser mais susceptíveis à infecção e doença, enquanto as infecções em animais adultos são frequentemente assintomáticos ou não ocorrem (RAMIREZ, 2004). O que pode ser verificado no presente estudo, mesmo com baixa eliminação de oocistos pelos animais jovens.

Tomass et al. (2013) verificaram ao investigar a prevalência de parasitas gastrintestinais e espécies de *Cryptosporidium* em suínos administrados extensivamente em

Mekelle e áreas urbanas da zona Sul da região de Tigre, na Etiópia, que não houve associação significativa entre sexo e prevalência de parasitas, contudo, idade de suínos teve efeito sobre a prevalência dos parasitas, onde cerca de 7% dos suínos examinados foram positivos para oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Kvac et al. (2009) pesquisaram a prevalência de *Cryptosporidium* em suínos de fazendas com um sistema de criação fechado na República Checa, um total de 21,1% das amostras fecais foi positivo microscopicamente para oocistos do protozoário, onde o mesmo foi encontrado em todas as faixas etárias analisadas. Vitovec et al. (2006) observou diarreia nos suínos infectados, onde foi maior em leitões desmamados (24,1%) do que nas prédesmamados (5,7%), no entanto, os autores não encontram relação significativa entre diarréia e infecção pelo *Cryptosporidium* em qualquer um dos outros grupos etários.

Em granjas suinícolas dos Estados de São Paulo e Minas Gerais, utilizando sistema intensivo de criação, Nishi et al. (2000) encontraram apenas 1,7% de *Cryptosporidium* spp. em leitões de diferentes grupos etários. Já, Gonçalvez (2008) encontrou 45,26% de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em suínos criados de forma rústica, em 13 propriedades localizadas no município de Rio Claro microrregião do Vale do Paraíba Sul Fluminense, no Estado do Rio de Janeiro.

A maioria das técnicas coprológicas convencionais utilizados nos laboratórios de Parasitologia não são totalmente adequados para a detecção de oocistos de *Cryptosporidium*, os oocistos são muito menores do que aqueles de outros parasitas coccidicos e diferem em muitas das suas características de coloração e de flutuabilidade (O'DONOGHUE, 1995).

De acordo com Fayer et al. (2000), o *Cryptosporidium* spp. está amplamente disperso no ambiente aquático, podendo estar presentes em rios, lagos, reservatórios, águas subterrâneas e marinhas, onde as fezes depositadas sobre o solo está sujeita ao transporte dos oocistos pelo ou pela água, ainda em alguns casos, os animais podem contribuir para a circulação dos oocistos. A região da Baixada Maranhense possui campos que alagam no período chuvoso, existe a criação de diversos animais nessa região, como bovinos, bubalinos, equinos, asininos, caprinos e ovinos, essa aglomeração de diversos animais juntos pode favorecer a transmissão de doenças entre eles, onde os oocistos de *Cryptosporidium* spp. dos suínos podem ser transmitidos para os demais animais criados na localidade.

Na região da Baixada Maranhense, nos campos os criatórios são denominados "retiros" onde funciona o centro de manejo, geralmente formado por uma instalação rústica (chiqueiro) que tem como finalidade abrigar os animais para pernoite (BORGES, 2006). As

propriedades visitadas nesse estudo possuem criações rústicas de suínos localizadas distante das residências dos donos/criadores. Os criadores relataram não há acompanhamento Veterinário, que os mesmos realizam o cuidado necessário dos animais, que não aplicam nenhum vermífugo ou qualquer anti-parasitário, e se aplicam não tem qualquer critério de intervalos entre as aplicações.

No período seco, a alimentação dos animais tem como base os recursos naturais que o campo disponibiliza durante o ano e vão dos vegetais nativos tubérculos do Junco Roliço (*Cyperus articulatus*), Aguapé Roxo (*Nymphaea amazonum*) e das sementes da Folha do Campo (*Thalia geniculata*), e durante o ano os animais são submetidos a constantes movimentações, conforme a disponibilidade de recursos alimentares. Como os criadores sobrevivem da criação desses animais, no período chuvoso os campos permanecem alagados e muitos animais chegam a óbito por falta de alimento, pois os custos para a alimentação dos mesmos é muito elevado para a quantidade de animais e a condição dos criadores. Nesse período, os animais tem a mesma alimentação fornecida no período seco, no entanto, os criadores utilizam ração, como farelo de milho, para complementação da alimentação dos animais, sendo que nesse período o deslocamento para busca de alimento é limitado, ocasionada pelo alagamento dos campos.

Os suínos não ficam separados, jovens e adultos de ambos os sexos ficam no mesmo recinto, onde os dejetos eram eliminados no mesmo ambiente, sem nenhuma destinação especifica ou qualquer tipo de tratamento, juntamente com a água utilizada pelos animais para consumo. Os animais são vendidos para o comércio local como açougues, mercados e supermercados próximos, quando atingem o peso considerado ideal pelos criadores, sem qualquer tipo de inspeção sanitária pelos órgãos oficiais.

A criptosporidiose não é endêmica para a região da Baixada Maranhense, mesmo assim, é necessário um controle das doenças que podem acometer os suínos, visto que o *Cryptosporidium* spp. por não ter especificidade de hospedeiro, pode ser transmitido a outros animais que são criados na mesma região.

4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos na pesquisa conclui-se que a Criptosporidiose em suínos nativos da região da Baixada Maranhense apresenta uma prevalência considerada moderada e carga parasitária de leve a moderada, existindo risco de transmissão e disseminação por ingestão de oocistos que estejam contaminando água e alimentos, e por pelas fezes presente no ambiente.

REFERÊNCIAS

BILIC, H.R.; BILKEI, G. *Balantidium*, *Cryptosporidium* and *Giardia* species infections in indoor and outdoor pig production units in Croatia. **Veterinary Record**, v.158, n.2, p.61, 2006.

BORGES, A.J.S. Aspectos gerais da criação de suínos nos campos naturais dos municípios de São Bento e Bacurituba – MA. São Luís, 2006. 46f. *Monografia* (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2006.

DURO, L.S.L.S. Parasitismo gastrintestinal em animais da quinta pedagógica dos Olivais. Especial referência aos mamíferos ungulados, 2010. 155f. *Dissertação* (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, 2010.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S.J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International Journal for Parasitology**., v.30, p.12-13, 2000.

FIUZA, V.R.S.; COSENDEY, R.I. J.; PIMENTEL, F.F.; OLIVEIRA, F.C.R. *Cryptosporidium* spp. em suínos de granjas familiares e tecnificadas das regiões norte e noroeste do Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal,** v. 10, n. 2, p. 356-365. 2009.

FIUZA, V.R.S.; COSENDEY, R.I.J.;1; OLIVEIRA, F.C.R. Criptosporidiose suína associada aos sistemas de produção no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, p. 224-229. 2008.

GONÇALVES, L.R. Frequência de endoparasitos e considerações sobre as espécies do gênero *Eimeria* schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) em suínos do município de Rio Claro, microrregião do Vale do Paraíba sul fluminense, Estado do Rio de Janeiro. 2008. 72p. *Dissertação* (Mestrado em Microbiologia Veterinária) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

HAMNES, I.S.; GJERDE, B.K.; FORBERG, T.; ROBERTSON, L.J.; Occurrence of Cryptosporidium and Giardia in sucking piglets in Norway. **Veterinary Parasitology**, v. 144, n. 3-4, p. 222-233, 2007.

HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. Sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. **Journal Public Health,** v. 9, p. 283-98, 1934.

HUBER, F.; BONFIM, T.C.; GOMES, R.S. Comparação da eficiência da coloração pelo método da Safranina a quente e da técnica de centrífugo-flutuação na detecção de oocistos de *Cryptosporidium* em amostras fecais de animais domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n.2, p. 81-84, 2004.

JOHNSON, J.; BUDDLE, R.; REID, S.; ARMSON, A.; RYAN, U.M. Prevalence of *Cryptosporidium* genotypes in pre and post-weaned pigs in Australia. **Experimental Parasitology**, v. 119, p. 418–421. 2008.

KVAC, M.; HANZLIKOVA, D.; SAK, B.; KVETONOVA, D. Prevalence and age-related infection of *Cryptosporidium suis*, *C. muris* and *Cryptosporidium* pig genotype II in pigs on a farm complex in the Czech Republic. **Veterinary Parasitology**, v. 160, p. 319–322, 2009.

MUNDIM, M.J.S.; MUNDIM, A.V.; SANTOS, A.L.Q.; CABRAL, D.D.; FARIA, E.S.M.; MORAES, F.M.. Helmintos e protozoários em fezes de javalis (*Sus scrofa scrofa*) criados em cativeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v. 56, n. 6. 2004.

NISHI, S.M.; GENNARI, S.M.; LISBOA, M.N.T.S.; SILVESTRIM, A.; CAPRONI Jr, L.; UMEHARA, O. Parasitas intestinais em suínos confinados nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.67, n.2, p.199-203, 2000.

O'DONOGHUE, P.J. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. **International Journal for Parasitology,** v. 25, n. 2, p. 139-195. 1995.

OLSON, M.E.; O'HANDLEY, R.M.; RALSTON, B.J.; MCALLISTER, T.A.; THOMPSON, R.C.A. Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. **Trends in Parasitology**, v. 20, n. 4, p. 185-191, 2004.

QUÍLEZ, J.; SÁNCHEZ-ACEDO, C.; CLAVEL, A.; Del CACHO, E.; LÓPEZ-BERNAD, F. Prevalence of *Cryptosporidium* infections in pigs in Aragón (northeastern Spain). **Veterinary Parasitology,** v. 67, p. 83-88. 1993.

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

RIBEIRO, C.M. Enfermidades parasitárias por protozoários em pequenos animais. 1ed – Rio de Janeiro: Rubio. 2005, 149p.

SOLTANE, R.; GUYOT K., DEI-CAS E. & AYADI A. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. (Eucoccidiorida: Cryptosporiidae) in seven species of farm animals of Tunisia. **Parasite.** v. 14, p. 335-338. 2007.

SUÁREZ-LUENGAS, L.; CLAVEL, A.; QUÍLEZ, J.; GOÑI-CEPERO, M.P.; TORRES, E.; SÁNCHEZ-ACEDO, C.; DEL CACHO, E. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from pigs in Zaragoza (northeastern Spain). **Veterinary Parasitology**, v.148, p.231-235, 2007.

TOMASS, Z.; EKWAL IMAM, E.; KIFLEYOHANNES, T.; TEKLE, Y.; WELDU, K. Prevalence of gastrointestinal parasites and *Cryptosporidium* species in extensively managed pigs in Mekelle and urban areas of southern zone of Tigray region, Northern Ethiopia. **Vetworld,** p. 433-439. 2013.

VÍTOVEC, J. et al. Prevalence and pathogenicity of *Criptosporidium suis* in pre-and post-weaned pigs. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 54, p. 239-243, 2006.

WIELER, L.H., ILIEFF, A., HERBST, W., BAUER, C., WIELER, E., BAUERFEIND, R., FAILING, K., KLOS, H., WENGERT, D., BAJER, G., ZAHNER, H. Prevalence of enteropathogens in suckling and weaned piglets with diarrhoea in southern Germany.

Journal of Veterinary Medicine, v. 48, p. 151–159. 2001.

YU, J.R.; SEO, M. Infection status of pigs with *Cryptosporidium parvum*. **Korean Journal of Parasitology**, v. 42, n. 1, p. 45-47, 2004.

CAPÍTULO 4

COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS COPROPARASITOLÓGICAS NO DIAGNÓSTICO DA COCCIDIOSE EM SUÍNOS DE CRIAÇÃO EXTENSIVA NO MARANHÃO, BRASIL

TECHNIQUES COPROPARASITOLÓGICAS COMPARISON OF DIAGNOSTIC COCCIDIOSIS IN CREATION OF PIGS IN EXTENSIVE IN THE MARANHÃO, BRAZIL

Thayane Ferreira Fernandes¹; Ana Clara Gomes dos Santos²

RESUMO

As parasitoses, um dos mais antigos problemas de saúde presentes em fases da exploração suinícola, representam um dos fatores limitantes das criações. Os prejuízos causados pela ocorrência das endoparasitoses dependem do nível de contaminação ambiental, que varia de acordo com os sistemas de produção, condições de higiene e as práticas de manejo. O objetivo da pesquisa foi realizar a comparação de técnicas coproparasitológicas qualitativas pelo método de Willis-Mollay (1921), Sheather (1923) e de sedimentação simples de Hoffman, Pontes e Jane (1934), para determinar a melhor concentração de oocistos no diagnóstico da coccidiose; assim como também foi realizado o método quantitativo de Gordon Whitlock (1939), para determinar o grau de parasitismo dos suínos nativos da Baixada Maranhense, considerando o período seco e chuvoso. A pesquisa foi realizada no município de Bacurituba. Um total de 180 amostras fecais de suínos nativos foi coletado diretamente da ampola retal e levada ao Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual do Maranhão, para pesquisa dos oocistos, pelas técnicas qualitativas de Willis-Mollay (1921), Sheather (1923) e método Hoffman, Pontes e Jane (1934), e para a carga parasitária foi realizado a contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG), pelo método de Gordon Whitlock modificado (1939). Os suínos examinados apresentaram 92,7% de positividade para a presença de oocistos de coccídios. O estudo de comparação dentre as técnicas, somente a técnica de Sheather apresentou maior sensibilidade na concentração de oocistos, com variação de prevalência de 67,19 a 96,08% para o período seco; e 75,93 a 93,57% para o período chuvoso. Os suínos jovens estavam mais parasitados do que os adultos. Na comparação entre as técnicas qualitativas foi verificado que a de Sheather foi superior na concentração de oocistos, tanto no período seco como no chuvoso (P<0,0001). E, a correlação entre as técnicas apresentaram positiva (R² = 0.9932; $R^2 = 0.6959$), período seco e chuvoso, respectivamente, para a técnica de Sheather. O parasitismo foi comprovado pelo OoPG, sendo a contagem durante o período seco superior ao chuvoso. Concluímos que dentre as técnicas utilizada na pesquisa, a que apresenta maior concentração de oocistos de coccídios para diagnóstico da coccidiose suína, é, a técnica de Sheather.

Palavras-chaves: Diagnóstico; Fezes; Técnicas.

ABSTRACT

Parasitosis, one of the oldest health problems present in phases of pig holding, represent one of the limiting factors of the creations. The damage caused by the occurrence of endoparasitoses depend on the environmental pollution level, which varies according to the production systems, hygiene and management practices. The objective of the research was to compare qualitative coproparasitológicas techniques by the method of Willis-Mollay (1921), Sheather (1923) and simple sedimentation Hoffman, Pontes and Janne (1934), to determine the optimal concentration of oocysts in the diagnosis of coccidiosis; as was also carried out the quantitative method of Gordon Whitlock (1939), to determine the degree of parasitism of native pigs of Maranhão Lowlands, considering the dry and rainy season, considering the dry and rainy season. The survey was conducted in the citie of Bacurituba. A total of 180 fecal samples of native pigs were collected directly from the rectum and taken to the Parasitology Laboratory of the State University of Maranhão, for research of oocysts, the qualitative techniques of Willis-Mollay (1921), Sheather (1923) and method Hoffman, Pontes and Janne (1934), and the parasite load was performed oocyst count per gram feces (OoPG) by the modified method of Gordon Whitlock (1939). Pigs examined showed 92.7% positivity for the presence of oocysts of coccidia. The comparison study among the techniques, only Sheather technique presented greater sensitivity in the concentration of oocysts, ranging in prevalence from 67.19 to 96.08% for the dry season; and from 75.93 to 93.57% for the rainy season. The young pigs were more infected than adults. In the comparison between qualitative techniques it was found that the higher the concentration was Sheather oocysts, both in wet and in the dry period (P < 0.0001). And the correlation between the techniques had a positive (R 2 = 0.9932; $R^2 = 0.6959$), dry season and rainy, respectively, for the Sheather technique. The parasitism was evidenced by OoPG, and the count during the dry season to the rainy higher. We conclude that among the techniques used in the research, presents the highest concentration of oocysts of coccidia for the diagnosis of swine coccidiosis, is the Sheather technique.

Keywords: Diagnosis; Feces; Techniques.

1 INTRODUÇÃO

As parasitoses, um dos mais antigos problemas de saúde presentes em todas as fases da exploração suinícola, representam um dos fatores limitantes das criações, sendo ainda pouco conhecidas e mais associadas às criações extensivas (PINTO, 2007). Os prejuízos causados pela ocorrência das endoparasitoses nos rebanhos suinícolas dependem do nível de contaminação ambiental, que varia de acordo com os sistemas de produção, condições de higiene e as práticas de manejo (LEITE et al., 2000).

O sistema de produção é um fator que influi diretamente sobre as características da coccidiose. Em condições onde existe alta densidade populacional, a transmissão da doença ocorre com maior facilidade e há disponibilidade de grande quantidade de oocistos (LIMA, 2004). A idade dos animais no momento de contagio desempenha papel importante no desenvolvimento da coccidiose (CAMPOS, 2012). Os leitões de mais idade e os animais adultos atuam como portadores e disseminadores dos oocistos no ambiente. Todavia, a principal fonte de infecção para os leitões são os oocistos provenientes de infecções de leitegadas anteriores que contaminaram a baia e que permaneceram no piso da maternidade (SOBESTIANSKY et al., 1999).

A demonstração de oocistos nas fezes é útil para confirmar um diagnóstico de coccidiose. Os oocistos são eliminados em grandes números por um período relativamente curto de tempo, durante o primeiro ou segundo dia de diarreia, e pode não estar presente no momento do exame (SCHWARTZ, 2002).

Os métodos parasitológicos qualitativos utilizados para a concentração de ovos e oocistos de protozoários através de soluções hipersaturada de açúcar e Cloreto de Sódio (NaCl) são utilizadas para minimizar os debris e facilitar a visualização dos ovos, oocistos e/ou larvas de nematódeos gastrintestinais; com o auxílio de centrífugas e microscópios mais modernos que diminuem o tempo de execução dos exames e aumentam a precisão dos resultados (PROUDMAN & EDWARDS, 1992). Os métodos de concentração têm como objetivo eliminar detritos fecais, eliminando partículas que podem confundir com oocistos e aumentar as chances de encontrar o parasito, especialmente em animais assintomáticos, com baixa carga parasitária (HUBER; BONFIM; GOMES, 2004).

As técnicas de flutuação baseiam-se na capacidade que as formas evolutivas dos parasitas têm de flutuar em comparação aos resíduos alimentares (GEORGI, 1982). São utilizadas soluções com densidade específica maior que dos cistos de protozoários, mas com

densidade menor que dos debris fecais (LEVINE, 1985), assim, quando o sedimento é suspendido na solução os oocistos flutuarão e os debris fecais submergirão (GEORGI, 1982).

O presente trabalho teve como objetivo realizar a comparação de técnicas coproparasitológicas qualitativas pelo método de Willis-Mollay (1921), Sheather (1923) e de sedimentação simples de Hoffman, Pontes e Jane (1934), para determinar a melhor concentração de oocistos no diagnóstico de oocistos de coccídios; assim como também foi realizado o método quantitativo de Gordon Whitlock (1939), para determinar o grau de parasitismo dos suínos nativos da Baixada Maranhense, considerando o período seco e chuvoso.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta das fezes

A pesquisa foi realizada no período de abril de 2014 a setembro de 2015 no município de Bacurituba, localizado na microrregião da Baixada Maranhense, da Macrorregião Norte do Estado, apresentando as coordenadas geográficas (2°42′22″ S e 44°44′18″ O), distante 300 quilômetros de São Luís, MA. Um total de 180 amostras fecais de suínos nativos foi coletado, com seis visitas, três no período seco (Outubro-2014, Março-2015 e Setembro-2015) e três no período chuvoso (Abril-2014, Junho-2014, e Maio-2015), sendo coletadas 90 amostras por período, de suínos machos e fêmeas de idades entre 30 dias até 54 meses, considerou-se como animais jovens até 12 meses de idade e adultos acima dessa faixa etária, de acordo com a padronização realizada por Mundim (2004).

As amostras fecais foram colhidas em suínos nativos dos "retiros", de criação de subsistência, onde foram colhidas diretamente do reto de cada animal com auxilio de luvas cirúrgicas lubrificadas, embaladas e acondicionadas em caixa de isopor com gelo, como conservante e transportadas até o Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual do Maranhão. Para pesquisa de oocistos de coccídios, foi utilizado 2g de fezes para cada método qualitativo de Willis-Mollay (1921) e Sheather (1923) e sedimentação simples pelos métodos Hoffman, Pontes e Jane (1934), e 2g de fezes para o método quantitativo pela contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG), com uso da câmara de MacMaster, pelo método de Gordon Whitlock modificado (1939), para avaliar a carga parasitária (CP) dos animais.

2.2 Análise das amostras de fezes

A análise foi feita em microscópio óptico com o preparado das técnicas entre lâmina e lamínula, leitura de quatro lâminas contendo alíquotas de 100µl por amostra analisada, observando-se a morfologia, contagem dos oocistos de coccídios em todos os campos microscópicos e média dos mesmos. A análise dos dados foi realizada através da média dos oocistos por amostras de fezes, considerando-se as técnicas e métodos parasitológicos utilizados na pesquisa.

2.3 Análise estatística

Os dados foram analisados pelo teste do Qui-quadrado considerando-se as comparações entre as técnicas qualitativas coproparasitológicas e dentre o período do ano seco e chuvoso, observando-se o parasitismo por oocistos de coccídios intestinas em suínos nativos da Baixada Maranhense. Utilizou-se para isso a computação dos dados no Programa Excel for Windows, v. 2010, e análise estatística pelo SolfWare GraphPad Prism 500® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 180 suínos examinados, 92,7% (167) estavam positivos para oocistos de coccídios, com maior prevalência para os animais jovens nos dois períodos do ano (seco e chuvoso), comparados com os adultos machos. Entretanto, as fêmeas adultas apresentaram maior parasitismo (41,11%), quando comparada aos machos (Figura 1).

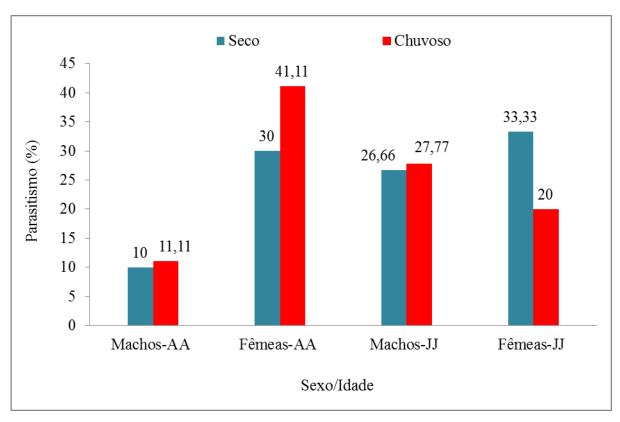


Figura 1 – Prevalência de parasitismo por oocistos de coccídios intestinais em suínos nativos da Baixada Maranhense, de acordo com o sexo, idade, período seco e chuvoso, de 2014 a 2015.

Gonçalves (2008) também encontrou maior incidência de oocistos de coccídios em machos e fêmeas jovens de suínos no município de Rio Claro, microrregião do Vale do Paraíba Sul Fluminense, concordando com o presente estudo em que os suínos jovens apresentaram maior taxa de infecção por coccídios.

Na figura 2 demonstra-se que dentre os métodos coproparasitológicos realizados, nas 180 amostras fecais de suínos nativos, tanto para o período seco como no chuvoso, o método qualitativo de Sheather foi o que apresentou maior prevalência de concentração de oocistos de coccídios, nas três coletas realizadas, em cada período do ano, seco e chuvoso,

tendo uma variação de 67,19 a 96,08% para o período seco; e 75,93 a 93,57% para o período chuvoso, demonstrando também que durante o período seco do ano na Baixada Maranhense, os campos permanecem secos, o solo com presença de torrões, formando-se pequeno lagos (as) e muita escassez de alimentos, com isso, os animais realizam grande caminhadas à procura de nutrientes, sendo desfavorável ao equilíbrio nutricional e fisiológico, propiciando a exacerbação do parasitismo, tanto por nematódeos como protozoários intestinais. E, durante o período chuvoso esses animais ficam confinados em retiros e recebem alimentação no cocho; além do gasto energético ser menor, por não fazerem longas caminhadas, retendo assim mais energia. O método de Willis-Mollay foi o que apresentou menor concentração de oocistos de coccídios, quando comparado aos demais, demonstrando que o método de Sheather e de Hooffman para os suínos são mais eficaz para pesquisas desses parasitos.

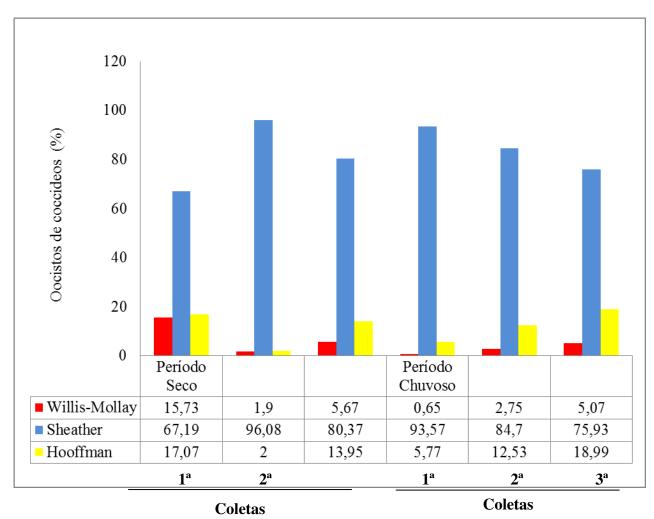


Figura 2 – Prevalência de oocistos de coccídios de suínos nativos da Baixada Maranhense, entre métodos coproparasitológicos qualitativos nos período seco e chuvoso, durante 2014 a 2015.

Os suínos nativos demonstraram parasitismo por oocistos de coccídios durante o período seco e chuvoso, comprovados pelos métodos coproparasitológicos qualitativos e que foram validados pela contagem do OoPG, apresentado assim para os períodos seco que houveram 23900; 23100 e 41700 OoPG (out/2104; mar/2015 e set/2015, respectivamente) e para o chuvoso 20200; 19100 e 15700 OoPG (abr/2014, jun/2014 e mai/2015, respectivamente), comprovando sua validação, pois o mesmo demonstrou mais animais positivos que a técnica de Sheather, que foi a que apresentou maior eficácia no diagnóstico, mesmo assim, observou-se que ocorreu uma diminuição do parasitismo por coccídios durante o período chuvoso, o que confirma a viabilidade que os suínos por estarem confinados, mesmo com alimentação deficiente, porém sem nenhum gasto de energia, demonstrando assim equilíbrio entre o parasito/hospedeiro.

Na análise dos resultados, o teste do Qui-Quadrado demonstrou que durante o período seco e chuvoso, a concentração do número de oocistos de coccídios para os métodos coproparasitológicos realizados tem diferença estatística dentre eles (P < 0.0001), sendo que o método de Sheather foi o que concentrou maior número de oocistos, seguido ao de Hooffman, que não apresentou diferença estatística, entre ambos (P > 0.07), no entanto o de Wilis-Mollay apresentou menor concentração nessa pesquisa, diferindo dos demais métodos anteriormente citados (P < 0.001) (Tabela 1).

Tabela 1 – Comparação do número de oocistos de coccídios intestinais de suínos nativos da Baixada Maranhense quantificado pelos métodos coproparasitológicos, durante o período seco e chuvoso, de 2014 a 2015.

	Métodos coproparasitológicos			
Período do	Willis-Mollay	Sheather	Hooffman	Total
ano	N. (%)	N. (%)	N. (%)	
Seco	1429 (5,86) a	20231 (83,0) bd	2713 (11,13) cd	24373
Chuvoso	328 (2,31) a	12297 (86,73) bd	1552 (10,94) cd	14177
Total	1757 (4,55)	32528 (84,37)	4265 (11,06)	38550

Letras minúsculas iguais na horizontal não diferem entre si pelo Teste do Qui-Quadrado e teste de Tukey (P<0.0001)

A comparação dos métodos coproparasitológicos qualitativos, de parasitismo por coccídios intestinais de suínos nativos da Baixada Maranhense em relação ao período do ano, durante a realização da pesquisa foi demonstrado uma tendência de associação positiva

durante o período seco de 2014 a 2015, de acordo com a Correlação de Pearson verificando-se maior concentração de OoPG ($R^2 = 0.9932$) (P < 0,0001) para o método de Sheather. Enquanto, para os métodos de concentração de sedimentação de Hooffman também demonstrou uma leve tendência positiva do que o método de Willis-Mollay, para esta pesquisa (Figura 3; Tabela 2).

No período chuvoso, a concentração de oocistos de coccídios também foi confirmada que o método de Sheather apresentou a mesma tendência de associação positiva $(R^2 = 0.6959)$ (Figura 3; Tabela 2); apesar de ter sido inferior comparado ao período seco, devido ao período das chuvas cujo suíno permanece confinados nos retiros e somados a nutrição (ração) fornecida pelos criadores no coxo e a alimentação disponível no campo, favorece um equilíbrio do parasito/hospedeiro.

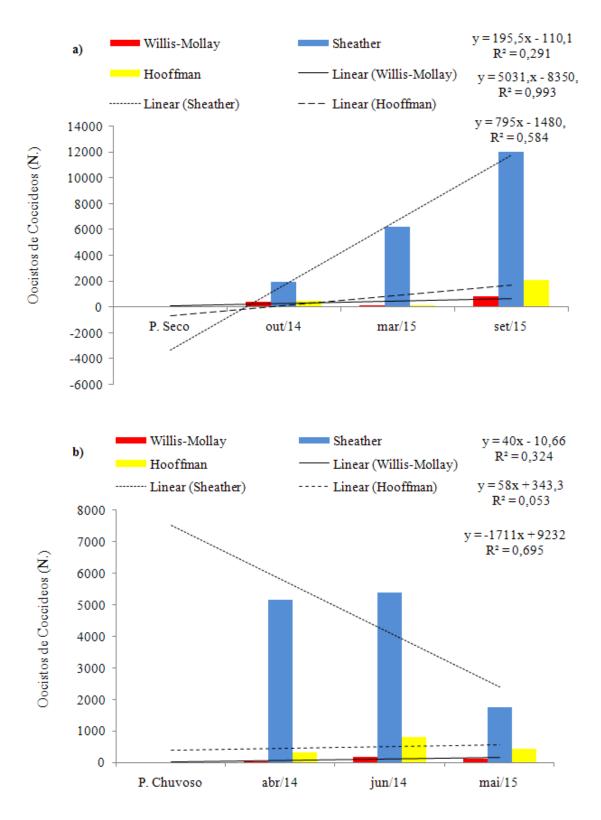


Figura 3 — Correlação dentre métodos coproparasitológicos e o parasitismo por oocistos de coccídeos intestinais em suínos nativos da Baixada Maranhense, de acordo com o período do ano: a) seco; b) chuvoso, de 2014 a 2015.

Tabela 2 – Comparação do número de oocistos de coccídios intestinais de suínos nativos da Baixada Maranhense quantificado pelos métodos coproparasitológicos, durante o período seco e chuvoso, de 2014 a 2015.

Correlação de Pearson/Período do ano				
Métodos coproparasitol	ógicos Seco	Chuvoso		
Willis-Mollay	y = 195,5x - 110,17	y = 40x - 10,667		
	$R^2 = 0.291$	$R^2 = 0.3243$		
Sheather	y = 5031,5x - 8350,8	y = -1711x + 9232		
	$R^2 = 0.9932$	$R^2 = 0,6959$		
Hooffman	y = 795x - 1480,7	y = 58x + 343,33		
	$R^2 = 0.5849$	$R^2 = 0.0532$		

Como já demonstrado, a técnica de Sheather detectou maior concentração de oocistos de coccídios, por ser uma técnica mais sensível e especifica. De acordo com Hoff (2005) a diferença encontrada entre as técnicas pode ser explicada pelo uso de centrifugação na técnica de Sheather, que aumenta o número de oocistos aderidos à lamínula pesquisada. A centrifugação é provavelmente o fator determinante nas técnicas que se mostraram mais acurada para a detecção de oocistos de protozoários (HUBER et al., 2003).

O método mais barato e geralmente de escolha para a detecção de oocistos a partir de amostras fecais é o método de centrífugo-flutuação em solução de Sheather (CURRENT, 1990). De acordo com Xiao & Feng (2008), as amostras devem ser examinadas rapidamente, uma vez que longas exposições dos oocistos a soluções de alta densidade podem distorcer a forma ou romper a parede dos oocistos acarretando resultados equivocados.

Durante a fase aguda da doença, ou seja, no decorrer da fase de diarreia persistente, os oocistos podem não ser eliminados nas fezes. Deste modo, o método de flutuação é de pouco valor de diagnóstico na coccidiose suína durante esta fase. No entanto, após esta fase, os oocistos podem ser detectados pelo método anteriormente citado (DURO, 2010). De acordo com Radostits et al. (2007), deve-se considerar que o animal pode estar parasitado e não apresentar oocistos nas fezes, se a recolha de amostras ocorrer entre os picos de eliminação dessas estruturas. Entretanto, Fonseca et al. (2012) atribuíram que o animal desenvolve a imunidade celular contra as espécies na qual se infectaram ao longo do seu desenvolvimento.

O diagnóstico da coccidiose em animais é baseado em sinais clínicos (diarreia), história, avaliação de potenciais copatógenos e demonstração de oocistos coccidios de uma espécie patogênica nas fezes dos animais. O'donoghue (1995) já afirmava que as técnicas de flutuação centrífuga em Cloreto de Sódio saturado e sacarose apresentam êxito na concentração de oocistos, onde o mesmo ainda incluiu outros métodos como, Sulfato de Magnésio, Sulfato de Zinco e Iodeto de Potássio, incluindo também sedimentação centrífuga em Formalina-Éter e soluções de Acetato de Etilo-Formalina.

Atualmente as técnicas de concentração do material fecal, através da utilização de soluções saturadas de açúcar, Cloreto de Sódio ou Sulfato de Zinco, têm sido muito utilizadas, por aumentarem as chances de encontrar oocistos, principalmente em animais assintomáticos, nos quais a quantidade de oocistos eliminados nas fezes é bem menor quando comparadas aos animais sintomáticos (STERLING & ARROWOOD, 1993). As técnicas de sedimentação são amplamente utilizadas para concentrar cistos de protozoários, como são técnicas que se baseia num processo de lavagem, talvez não concentrem tanto oocistos como nas técnicas de flutuação (LEVINE, 1985).

Os suínos criados em sistemas intensivos, apresentam geralmente uma fauna parasitária inferior à dos suínos criados em sistemas extensivos (ROEPSTORFF & JORSAL, 1990). Estes últimos apresentam um potencial de parasitismo, causando problemas tanto nos suínos adultos quanto nos jovens. Apesar disto, os sistemas extensivos com manejo correto não apresentam desvantagens quando comparados aos sistemas intensivos (WHITE, 1996). Sabe-se que o aumento do número de explorações de suínos em sistema extensivo fez ressurgir nestes animais alguns parasitas que em sistemas intensivos estavam controlados. Em explorações extensivas, o controle parasitário dos animais, é, e continua a ser, um desafio para os profissionais da saúde animal (GOMES, 2009).

O grau de injúria causada pelos parasitos depende do número destes presentes e da susceptibilidade individual do animal. Infecções maciças podem ocasionar mortalidade, principalmente entre animais jovens. Infecções leves, muitas vezes, não produzem danos visíveis à saúde do animal, mas podem acarretar grandes prejuízos econômicos ao criador (JESUS & MULLER, 2000).

D'Alencar et al. (2010) encontraram baixa taxa de infecção nos suínos pesquisados em abatedouros da Região Metropolitana de Recife e da Zona da Mata do Estado de Pernambuco, que de acordo com o autor, pode ser explicada pelo fato das amostras terem sido oriundas de animais adultos. De acordo com Lima (2004), a coccidiose é essencialmente

uma doença de animais jovens, em determinadas circunstâncias pode atingir animais mais velhos. Entre elas podem ser citadas a alta densidade populacional, doses maciças de oocistos, estresse, doenças concomitantes e a ausência ou queda de imunidade. O mesmo autor ainda afirma que algumas espécies do gênero *Eimeria* apresentam uma preferência marcante por determinadas faixas etárias. Levine (1963) faz a mesma afirmação, onde fala que a coccidiose é uma doença essencialmente de suínos jovens, onde os adultos são apenas portadores.

Os jovens apresentam maior infecção e, consequentemente, maior eliminação de oocistos que os animais adultos. Este fato decorre da imunidade desenvolvida pelos adultos, contra as espécies a qual se infectaram ao longo do seu desenvolvimento (FONSECA et al., 2012). Os animais adultos atuam como portadores e disseminadores dos oocistos no ambiente, todavia, a principal fonte de contaminação para os leitões são oocistos provenientes de infecções de leitegadas anteriores que contaminaram a baia e que permaneceram nas instalações da maternidade, principalmente no piso e nas paredes, em virtude de deficiências quanto ao manejo de limpeza e desinfecção (SARTOR et al., 2007). Pelo fato da fase assexuada do parasita ser a mais patogênica, nem sempre o diagnostico pela detecção do oocisto do protozoário nas fezes de leitões com infecções maciças oferece resultados positivos, pois a diarreia pode se desenvolver antes dos oocistos serem excretados e até mesmo fezes normais pode conter grande número de oocistos (REBOUÇAS et al., 1992).

Lindsay (1997) assegura que a demonstração de oocistos em amostras fecais é o método de escolha para a identificação de infecções por coccídios em animais. Flutuação fecal em solução de açúcar método de Sheather é mais frequentemente utilizado, mas outras soluções de flotação como Sulfato de Zinco ou Cloreto de Sódio saturado, podem ser utilizadas. Se grandes quantidades de gordura fecal estão presentes, outras técnicas de concentração, tais como sedimentação por Formalina-Éter ou Acetato de Etila pode ser mais aplicável por causa da remoção de gordura nas fezes pelos solventes.

A presença de coccídios nas fezes não justifica um diagnóstico de coccidiose, pois um grande número de oocistos pode ser encontrado nas fezes de hospedeiros perfeitamente saudáveis. Dessa forma, o histórico do animal e os sinais clínicos também devem ser considerados para conclusão (GEORGI, 1982). As melhores técnicas de flutuação parecem ser aqueles que empregam soluções com pesos específicos elevados, mas as amostras devem ser analisadas mais rapidamente após a preparação (dentro de 10 min), porque uma exposição mais longa para as soluções resulta em distorção e anormalidade de oocistos (O'DONOGHUE, 1995).

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que no estudo comparativo entre as técnicas qualitativas coproparasitológicas no diagnóstico de Coccidioses intestinais de suínos nativos, a técnica de Sheather apresenta maior sensibilidade ao parasitismo, devido a maior concentração de oocistos de *Eimeria* spp. e *Cystoisospora* spp.

REFERÊNCIAS

CAMPOS, T.M.; CARVALHO, T.A.; CARVALHO, G.D.; PINTO, R.; MOLINO, J.P.; SOUZA, M.R. Coccidiose suína. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 9, n. 2 p.1726- 1739. 2012.

CURRENT, W.L. Techniques and laboratory maintenance of Cryptosporidium. In: DUBEY, J. P.; SPEER, C. A.; FAYER, R. **Cryptosporidiosis of man and animals**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 59-82.

D'ALENCAR, A.S.; FARIAS, M.P.O.; ROSAS, M.M.; LIMA, M.M; ALVES, L.C.; FAUSTINO, M.A.G. Influência de fatores de manejo sobre as taxas de infecção por coccídios em suínos abatidos na região metropolitana do Recife e Zona da Mata do estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Veterinária nos Trópicos,** v. 13, n. 1-2-3, p. 52-59. 2010.

DURO, L.S.L.S. Parasitismo gastrintestinal em animais da quinta pedagógica dos Olivais. Especial referência aos mamíferos ungulados, 2010. 155f. *Dissertação* (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, 2010.

FONSECA, Z.A.A.S.; AVELINO, D.B.; BEZERRA, A.C.A.; MARQUES, A.S.C.; PEREIRA, J.S.; COELHO, W.A.C.; VIEIRA, L.S.; AHID, S.M.M. Espécies de *Eimeria* sp. em matrizes caprinas leiteiras no município de Afonso Bezerra-RN. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, p.131-135, 2012.

GONÇALVES, L.R. Frequência de endoparasitos e considerações sobre as espécies do gênero *Eimeria* Schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) em suínos do município de Rio Claro, microrregião do vale do Paraíba sul fluminense, Estado do Rio de Janeiro. 2008. 72p. *Dissertação* (Mestrado em Microbiologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

GEORGI, J.R. Parasitologia Veterinária. 3 ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1982.

GOMES, A.I.J.G. Contribuição para a caracterização do parasitismo gastrintestinal e pulmonar em suínos de raça alentejana no Distrito de Évora. 2009. 142f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Técnica de Lisboa – Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2009.

GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A. New technique for counting nematoda egg in sheep faeces. **Journal Council Science Research Australian,** v. 12, p. 50-52, 1939.

HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. Sedimentation concentration method in Schistosomiasis mansoni. **Journal Public Health,** v. 9, p. 283-98, 1934.

HOFF, G.; SILVA, A.S.; MONTEIRO, S.G. Avaliação do parasitismo e comparação de técnicas de analise fecal em suínos de granjas da região oeste do estado de Santa Catarina. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia,** v. 12, n. 1, p. 106-115, 2005.

HUBER, F.; BOMFIM T.C.; GOMES R.S. Comparação da eficiência da técnica de Sedimentação pelo formaldeído-éter e da técnica de centrífugo-flutuação modificada na detecção de cistos de *Giardia* sp. e oocistos de *Cryptosporidium* sp. em amostras fecais de bezerros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 2, p. 135-137. 2003.

HUBER, F.; BONFIM, T.C.; GOMES, R.S. Comparação da eficiência da coloração pelo método da Safranina a quente e da técnica de centrífugo-flutuação na detecção de oocistos de *Cryptosporidium* em amostras fecais de animais domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n.2, p. 81-84, 2004.

JESUS, L.P.; MÜLLER, G. Helmintos parasitos do estômago de suínos na região de Pelotas-RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 6 n. 2, 181-187. 2000.

LEITE, D.M.G.; PEREIRA, N.W; COSTA, A.O.D. et al. Parasitoses em suínos ao ar livre. **A Hora Veterinária**, ano 19, n. 114,p. 8-10, 2000.

LEVINE N. D. **Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man.** 2. ed. Minneapolis: Burgess Publishing, 1963, 406 p.

LEVINE, N.D. Veterinary Protozoology. Ames: Iowa State University Press; 1985.

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

LIMA, J.D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 13, supl. 1, 2004.

MUNDIM, M.J.S.; MUNDIM, A.V.; SANTOS, A.L.Q.; CABRAL, D.D.; FARIA, E.S.M.; MORAES, F.M.. Helmintos e protozoários em fezes de javalis (*Sus scrofa scrofa*) criados em cativeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v. 56, n. 6. 2004.

O'DONOGHUE, P.J. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. **International Journal for Parasitology,** v. 25, p. 139-195. 1995.

PINTO, J.M.S.; COSTA, J.O.; SOUZA, J.C.A. Ocorrência de endoparasitos em suínos criados em Itabuna, Bahia, Brasil. **Ciência Veterinária nos Trópicos**. v. 10, n. 2/3, p. 79-85, 2007.

PROUDMAN, C.J.; EDWARDS G.B. Validation of a centrifugal/flotation technique for the diagnosis of equine cestodiasis. **Veterinary Record**, v. 131, n. 4, p. 71-72. 1992.

RADOSTITS, O.M., GAY, C. C., HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Veterinary Medicine:** A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. (Ed. 10) Saunders – Elsevie. 2007

REBOUÇAS, M.M.; OLIVEIRA, S.M.; FILHA, E.S.; SANTOS, S.M.; AMARAL, V. *Isospora suis* Biester, 1934 em suínos no Estado de São Paulo – Brasil (Apicomplexa –

Eimeriidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária,** São Paulo, v. 1, n. 2, p. 137-140, 1992.

ROEPSTORFF, A.; JORSAL, S. E. Relationship of the prevalence of swine helminths to management practices and anthelmintic treatment in Danish, sow herds. **Veterinary Parasitology,** v. 36, p. 245- 257. 1990.

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

SHEATHER, A.L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics.**, v. 36, p. 266-275, 1923.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.E.S.; MORES, N.; OLIVEIRA, S.J. Clínica e patologia suína. 2a ed. Goiânia: J. Sobestiansky. 1999. 464p.

STERLING, C.R.; ARROWOOD, M.J. Cryptosporidia. In: KREIER, J. P. **Parasitic Protozoa**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1993. v. 6, p. 159-213.

SCHWARTZ, K. Swine Coccidiosis. Extension Bulletin. Major Rev., September 2002.

WHITE, M. Control in the outdoors. **Pigs**, v. 3. n. 1, p. 28-30. 1996.

WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of wook worm ova. **Medicine Journal of Australia,** v. 8, p. 375-376, 1921.

XIAO, L.; FENG, Y. Zoonotic cryptosporidiosis. FEMS **Immunology & Medical Microbiology**., v. 52, n. 3, p. 309-323, 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O parasitismo por coccídios em suínos nativos na Baixada Maranhense se mostrou bastante relevante. O período seco apresenta maior parasitismo por oocistos de coccídios eliminados nas fezes, sendo mais evidenciado em animais jovens e fêmeas adultas. Os resultados aqui expostos indicam que no diagnóstico de oocistos de coccídios em amostras fecais de suínos que a flutuação por centrifugação deve ser utilizada como método específico de concentração de oocistos, principalmente considerando-se que os animais assintomáticos eliminam poucos oocistos nas fezes ou não apresentam oocistos; assim como a coleta das amostras das fezes podem ser realizadas entre os picos de descarga parasitária de oocisto. Portanto, são necessários cuidados preventivos por parte dos criadores para com os suínos nativos, principalmente durante o período chuvoso, onde o confinamento favorece a transmissão da coccidiose, apesar de demonstrarem um equilíbrio de parasito/hospedeiro devido uma boa nutrição, no entanto durante o período seco existe um déficit de alimento, cujos animais ficam a deriva nos campos, onde realizam longas caminhadas em busca de alimentação, ocasionando um desequilíbrio fisiológico pelo gasto de energia, não existindo assim uma boa conversão alimentar necessária a seu organismo, ocorrendo um elevado parasitismo pelo déficit nutricional/gasto energético.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, P.C. Aspectos epidemiológicos das parasitoses gastrintestinais em suínos naturalizados de criações familiares do Distrito Federal, 2009. 117f. *Dissertação* (Mestrado em Saúde Animal) Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinaria. Brasília, 2009.

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

BALICKA-RAMISZ, A. Influence of environmental conditions on the course of coccidia infections in pigs. **Zesyty Naukowe Akademii Rolniczej W Szczecinie, Zootechnika**, v. 31,n. 1, p. 87-93, 1995.

BERTO, B. P.; McINTOSH, D.; LOPES. C.W.G. Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 1, p. 1-15. 2014.

CALDERARO, F.F.; BACCARO, M.R.; MORENO, A.M.; FERREIRA, A.J.P.; JEREZ, A.J.; PENA, H.J.F. Frequência de agentes causadores de enterites em leitões lactentes provenientes de sistemas de produção de suínos do Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.68, n.1, p.29-34. 2001.

CAMPOS, T.M.; CARVALHO, T.A.; CARVALHO, G.D.; PINTO, R.; MOLINO, J.P.; SOUZA, M.R. Coccidiose suína. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 9, n. 2 p.1726- 1739, Mar./Abr., 2012.

CAVALCANTE, A.C.R. Espécies do gênero *Eimeria* Schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) parasitos de caprinos leiteiros na Microrregião de Sobral, Ceará. 1996. 64p. *Dissertação* (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1996. DAUGSCHIES, A.; IMAROM, S.; GANTER, M.; BOLLWAHN, W. Prevalence in Eimeria spp. in sows at piglet-producing farm in Germany. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 51, n. 3, p. 135-139, 2004.

ENEMARK, H.L.; AHRENS, P.; BILLE HANSEN, V.; HEEGAARD, P.M.H.; VIGRE, H.; THAMSBORG, S.M.; LIND, P. *Cryptosporidium parvum*: infectivity and pathogenicity of the "porcine" genotype. **Parasitology**, v. 126, n. 5, p. 407-416, 2003.

ERNST, J.V. Pathogenicity in pigs experimentally infected with *Eimeria spinosa*. **Journal Parasitology**, v. 73, p. 1254-1256, 1987.

FAYER, R.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. Zoonotic protozoa: from land to sea. **Trends Parasaitology**., v. 20, n.11, p. 531-536, 2004.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S.J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 1, p. 12-13, 2000.

FAYER, R. Epidemiology of Protozoan Infections: The Coccidia. **Veterinary Parasitology**, v. 6, p. 75-103, 1980.

GOMES, A.I.J.G. Contribuição para a caracterização do parasitismo gastrintestinal e pulmonar em suínos de raça alentejana no Distrito de Évora. 2009. 142f. *Dissertação* (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Técnica de Lisboa – Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2009.

GONÇALVES, L.R. Frequência de endoparasitos e considerações sobre as espécies do gênero *Eimeria* schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) em suínos do município de Rio Claro, microrregião do Vale do Paraíba sul fluminense, Estado do Rio de Janeiro. 2008. 72p. *Dissertação* (Mestrado em Microbiologia Veterinária) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

GRAIG, T.M. Epidemiology and control of coccidia in goats. **Veterinary Clinical North America Food Animal Practice**, v. 2, n. 2, p. 389-395, 1986.

HAMNES, I.S.; GJERDE, B.K.; FORBERG, T.; ROBERTSON, L.J. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in in dairy calves in three areas of Norway. **Veterinary Parasitology**, v. 144, p. 222-233. 2007.

HOEFLING, D.C. Porcine coccidiosis incidence and current knowledge. **Proctozoological Unitade State Health Association,** v. 85, p. 459-461, 1981.

HOFF, G.; SILVA, A.S.; MONTEIRO, S.G. Avaliação do parasitismo e comparação de técnicas de analise fecal em suínos de granjas da região oeste do estado de Santa Catarina. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia,** v. 12, n. 1, p. 106-115, 2005.

JOYNER, L.O. Host and Site specificity. In: LONG, P.L.(ED.), **The Biology of the Coccidia**, 1982, Baltimore. University Park Press, 1982. p.35-62.

KENNEDY, G.A.; KREITNER, G.L.; STRAFUSS, A.C. Cryptosporidiosis in three pigs. **Journal of the American Veterinary Medical Association,** v. 170, n. 3, p. 348-350, 1977.

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

LEITE, D.M.G. PEREIRA, N.W; COSTA, A.O.D. et al. Parasitoses em suínos ao ar livre. **A Hora Veterinária,** Porto Alegre, v. 19, n. 114, p. 8-10, 2000.

LEVINE, N.D. **Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man.** 2. ed. Minneapolis: Burgess Publishing, 1963, 406 p.

LIMA, J.D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária,** v. 13, supl. 1, 2004.

LONG, P.L.; JOYNER, L.P. Problems in the identification of species of *Eimeria*. **Journal of Protozoology**, v. 31, p. 535-541, 1984.

MATOS, D. J. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. (TYZZER, 1907) e *Giardia* spp. (KUNSTLER, 1882) em leitões ao desmame. 2009. 75F. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Odontologia e Medicina Veterinária, Araçatuba, 2009.

McORIST, S. Defining the full costs of endemic porcine proliferative enteropathy. **Veterinay Journal**, v.170, n.1, p.8-9, 2005.

MORENO, A.M.; LINHARES, G.F. C.; SOBESTIANSKY, J. et al. Endoparasitoses. In: SOBESTIANSKY, J. & BARCELLOS, D. **Doenças dos Suínos.** Cânone Editorial. Goiânia, 2007, p. 373-377.

MORÉS, N.; AMARAL, A. L. **Patologias associadas ao desmame.** Embrapa Suínos e Aves – CNPSA, Concórdia-SC, p. 1-10, 2006.

MUNDT, H.C.; KOUDELA, B. Coccidiose em Suínos: Cuidados. Guia Xclusive: Aves e Suínos. Edição 15. 2005, p. 118-120.

MUNDT, H.C. *Isospora suis* Infection in piglets. **Journal of Animal Protozoonoses**, v. 20, n. 1. 2005.

MUNDT, H.C.; DAUGSCHIES, A. Coccidiose em Leitões – Uma atualização. **Bayer Health Care**, v. 2, p. 1-5, 2004.

NISHI, S.M. GENNARI, M.N.T.S.; LISBOA, A.; SILVESTRIM, L.; CAPRONI, J.R.; UMEHARA, O. Parasitas intestinais em suínos confinados nos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 199-203. 2000.

PAIVA, D.P.; **Isosporose suína.** Periódico técnico-informativo EMBRAPA-CNPSA, Concórdia-SC, Ano V, n. 18, p. 1-6, Agosto, 1996.

PUTIGNANI, L.; MENCHELLA, D. Global distribuition, public health and clinical impact of the protozoan pathogen *Cryptosporidium*. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 1, p. 1-39, 2010.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 10. Ed. Saunders – Elsevie: Veterinary Medicine, 2007.

RAMIREZ, L.; FILHO, W.L.T; FLAUSINO, W.; BERTO, B.P.; ALMEIDA, C.R.R.; LOPES, C.W.G. Contribuição Sobre a Morfologia das Espécies do Gênero *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) de Suínos do Município de Rio Claro, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 30, supl. 4, p. 238-242, 2008.

RAMOS, C.A.N.; FAUSTINO, M.A.G.; OLIVEIRA FILHO, E.F. et al. Levantamento de parasitos gastrintestinais em suínos criados na Região Metropolitana do Recife e Zona da Mata do Estado de Pernambuco. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12. 2002, Recife. **Anais...** Recife: UFRPE, 2002. p. 203-204.

RYAN, U.M.; SAMARASINGHE, B.; READ, C.; BUDDLE, J.R.; ROBERTSON, I.D.; THOMPSON, R.C.A. Identification of a Novel *Cryptosporidium* Genotype in Pigs. **Applied** and Environmental Microbiology, v. 69, n. 7, p. 3970-3974, 2003.

SANTOS, N.M.; LOPES, C.W.G. Diagnóstico da coccidiose suína relacionado ao manejo e idade dos animais. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.1, n. 1, p. 17- 20, 1994.

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

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

SEQUEIRA, T.C.G.O.; AMARANTE, A. F. T. Parasitologia Animal: Animais de Produção. **Editora de Publicações Biomédicas**, v. 1, p. 58-61, 2001.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.E.S.; MORES, N. et al. **Clínica e patologia suína**. 2a ed. Goiânia: J. Sobestiansky. 1999. 464p.

SCOTT, M.E., KOSKI, K.G. Zinc deficiency impairs immune responses against parasitic nematode infections at intestinal and system atic sites. **Journal of Nutrition,** v. 130. p. 1412-1420, 2000.

SOULSBY, E.J.L. **Helmints, arthropode, and protozoa of domestical animals.** 6. ed. London: Ballière Tindall, 1968.

SRÉTER, T.; VARGA, I. Cryptosporidiosis in birds – A review. **Veterinary Parasitology**, v. 87, p. 261 – 279, 2000.

SUNNOTEL, O.; LOWERY, C.J.; MOORE, J.E.; DOOLEY, J.S.G.; XIAO, L.; MILLAR, B. C.; ROONEY, P.J. SNELLING, W.J. *Cryptosporidium*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 7-16, 2006.

URQUHART, G.M. et al. **Veterinary Parasitology.** 2th. ed. Oxford: Blackwell Science Ltd. 2001.

VANNUCCI, F.A.; GUEDES, R.M.C. Fisiopatologia das diarreias em suínos. **Revista Ciência Rural,** v. 39, n. 7, p. 2233-2242, 2009.

XIAO, L.; FAYER, R.; RYAN, U.; UPTON, S. *Cryptosporidium* taxonomy: Recent advances and Implications for public health. **Clinical Microbiological Reviews**, v.17, n.1, p.72-92. 2004.