



UNIVERSIDADE  
E D U A R D O  
MONDLANE

FACULDADE DE VETERINÁRIA  
DEPARTAMENTO DE PARA-CLÍNICAS

CURSO DE LICENCIATURA EM MEDICINA VETERINÁRIA

Trabalho de Culminação de Estudos

**Estudo da dinâmica de eliminação de ooquistos de *Eimeria spp.* em frangos de corte criados em sistemas intensivos**

**Autor:** Nelton Victor Frederico

**Supervisor:** Mestre Hermógenes Mucache

Maputo, Setembro de 2024

## DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Nelton Victor Frederico, declaro por minha honra que o presente trabalho é da minha autoria, produzido conforme a metodologia nele apresentada e que nunca foi apresentado em nenhuma outra instituição para além desta para obtenção de algum grau académico.

Maputo, Setembro de 2024

---

(Nelton Victor Frederico)

## DEDICATÓRIA

“Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pela força concedida para seguir meus sonhos e a serenidade para concluir este trabalho”.

As minhas mães Laina Almeida e Teresa Almeida e aos meus avós Almeida e Luísa (em memória), os quais não mediram esforços para ajudar-me em todas as etapas da minha vida. O amor que sinto por vocês é imensurável. E, a todas as pessoas da minha família e aos amigos pelas orações e pelo carinho.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, coragem e sustentação a cada dia e pela família que me concedeu.

Aos meus pais, em especial a minha mãe Teresa Almeida, pela educação, cumplicidade, saúde, motivação, conforto e aconselhamento que me proporcionou desde a minha infância até ao alcance desta grande conquista.

Aos meus irmãos e primos, que nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo superior, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

Ao meu supervisor Mestre Hermógenes Mucache pelos ensinamentos, paciência, compreensão, críticas construtivas e creio que sem ele este trabalho não seria uma realidade. Muito obrigado!

Aos técnicos do Laboratório de Parasitologia, dr. Basílio e Dona Olga pelos ensinamentos e apoio prestados durante o processamento das amostras.

Aos amigos e colegas: Filipe Marrocane, Frank Johnson, Rosália Vitorino, Taussira Amada, Cármen Machava, Argentina Mutemba, Edson Hartog, Paulo Massingue, Edsónia Nando, Arnaldo Quissimuço, Hilario Matiquite, Marita Matilde, Salimo Nhanala, Cristina Nhamtumbo, Iona Marques, companheiros de trabalhos e irmãos na amizade que fizeram parte da minha formação e vão continuar presentes em minha vida com certeza.

À Faculdade de Veterinária – Universidade Eduardo Mondlane e a todos os docentes e membros do Corpo Técnico e Administrativo (CTA) por todas as oportunidades que me concederam de aprender e por todos os ensinamentos que me transmitiram sobre a arte da Medicina Veterinária e postura profissional, bem como pela paciência e incentivo desde o primeiro dia.

A todos que directa ou indirectamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

**FAVET** – Faculdade de veterinária

**Fig** – Figura

**g** – Gramas

**Kg** – Quilogramas

**Km<sup>2</sup>** – Quilómetro quadrado

**L** – Margem de erro

**mg** – Miligramas

**mL** – Mililitro

**NaCl** – Cloreto de sódio

**n** – Número de amostras

**OOPG** – Ooquistos por gramas de fezes

**p** – Prevalência

**PCR** – Reacção em Cadeia de Polimerase

**Ppm** – Partes por milhão

**SCARs** – Regiões Amplificadas Caracterizadas por Sequências

**spp.** – Espécie

**UEM** – Universidade Eduardo Mondlane

**UP** – Unidade de produção

**µm** – Micrómetros

**z** – Nível de confiança

**°C** – Graus celsius

**%** – Percentagem

## LISTA DE FIGURAS

**Figura I:** Morfologia das espécies de *Eimeria* causadoras de coccidiose em aves .....5

**Figura II:** Ciclo evolutivo de *Eimeria* .....7

## LISTA TABELAS

**Tabela I:** espécies que infectam as aves domésticas e seus respectivos períodos pré-patentes em horas.....6

**Tabela II:** Lesões macroscópicas características das espécies de *Eimeria spp.* em galinhas.....9

**Tabela III:** Concentração de fármacos usados no tratamento da coccidiose aviária.....11

## LISTA GRÁFICA

**Gráfico I:** Percentagens de amostras positivas e negativas em todas as Unidades de Produção .....18

**Gráfico II:** Frequência de infecções por *Eimeria ssp.*, usando o método de Willis por cada Unidade de Produção.....19

**Gráfico III:** Contagem de ovos por gramas de fezes.....20

# Índice

<b>DECLARAÇÃO DE HONRA .....</b>	<b>ii</b>
<b>DEDICATÓRIA.....</b>	<b>iii</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>iv</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....</b>	<b>v</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA TABELAS.....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA GRÁFICA.....</b>	<b>vi</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>ix</b>
<b>1.INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. OBJECTIVO .....</b>	<b>2</b>
1.1. Geral.....	3
1.1.2. Específicos.....	3
<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
2.1. Caracterização de Coccidiose e hospedeiros .....	3
2.1.1. Ciclo de vida e patogenia .....	5
2.2. Epidemiologia .....	7
2.3. Patogenicidade.....	8
2.4. Lesões histopatológicas .....	8
2.5. Sinais clínicos.....	9
2.6. Diagnóstico .....	10
2.7. Tratamento.....	11
<b>2.8. Controlo e profilaxia .....</b>	<b>11</b>
2.8.1. Quimioprofilaxia .....	11
2.8.2. Imunoprofilaxia.....	12
2.8.3. Medidas sanitárias .....	13
2.9. Importância económica.....	13
<b>3. MATÉRIAS E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
3.1. Caracterização da área de estudo .....	14
3.2. Amostragem de fezes e quantificação de oocisto .....	15
3.3. Colecta de amostra.....	16
3.4. Análise de dados .....	17
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>18</b>
4.1. Teste qualitativo de Willis .....	18
4.3. Avaliação da carga parasitária pelo método de MacMaster .....	19
<b>5.1 Discussão.....</b>	<b>21</b>
<b>6. Conclusão e Recomendações .....</b>	<b>25</b>

6.1. Conclusão .....	25
<b>6.2 Recomendações .....</b>	<b>26</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>27</b>
<b>8.ANEXOS.....</b>	<b>31</b>



## RESUMO

A coccidiose aviária é uma doença causada por protozoários do gênero *Eimeria spp.* É considerada uma das doenças de maior importância na avicultura de corte devido ao impacto directo que causa no desempenho zootécnico das aves e pelos grandes prejuízos econômicos. As lesões causadas pelas *Eimerias* resultam em redução na capacidade de absorção de nutrientes, afectando o ganho produtivo dos frangos e, representam ainda uma porta de entrada para outros enteropatógenos. O presente estudo teve como objectivo determinar a dinâmica de eliminação de ooquistos de *Eimeria spp.* em frangos de corte durante o ciclo de produção de frangos de corte criados em sistemas intensivos. Realizou-se um estudo longitudinal, durante o período de Fevereiro a Abril de 2022. A população de estudo consistiu em frangos de corte criados em sete (07) unidades avícolas. Foram colhidas 150 amostras de fezes em frangos de corte nas unidades de produção (UP) incluídas no estudo. As amostras foram processadas pela técnica de Willis para avaliar a presença de ooquistos de *Eimeria spp.*, e foram observados ooquistos de *Eimeria spp.* em 45 amostras (30%), que corresponde a três unidades (UP4, UP6 e UP7). A intensidade de infecção foi determinada por contagem de ooquistos por grama de fezes (OOPG), através da técnica de MacMaster. O OOPG variou de 0-96.800 e a eliminação de ooquistos, durante o ciclo de produção foi caracterizada por uma elevação continua a partir do décimo oitavo dia e atingiu o pico de excreção no vigésimo sexto dia. Após a realização do presente estudo, conclui-se que ocorre parasitismo gastrointestinal por género de *Eimeria spp.*, e a dinâmica de eliminação de ooquistos de *Eimeria spp.*, em frangos de corte criados em sistemas intensivos, foi caracterizada por um aumento progressivo a partir do 18º dia e atingindo o pico no 26º dia e apesar do uso de drogas anticoccídicas na ração, foi possível observar níveis de infecções por coccídeos do género *Eimeria spp.*, no presente estudo.

**Palavras-chave:** coccidiose aviária; *Eimeria spp.*; frangos de corte; avicultura

# 1.INTRODUÇÃO

A produção avícola e suinícola industrial são as principais actividades pecuárias que com rapidez fornecem proteína animal para o consumo humano (Almeida e Cardoso, 2001; Fornace *et al.*, 2013). Em Moçambique, a produção de frangos de corte tem um merecido lugar de destaque na economia nos últimos tempos, pois para além de constituir uma fonte de emprego e rendimento, contribui para a segurança alimentar da população rural e urbana (IIAM, 2012).

O aumento da produção avícola, buscando qualidade e baixo custo, impõe a necessidade de utilização de sistemas intensivos de criação. Contudo, adopção de métodos intensivos de produção com sistemas de biossegurança limitados, leva a um aumento da pressão de infecção por parte dos organismos patogénicos e desta forma bactérias, vírus, fungos, protozoários, endo e ectoparasitas, entre outros agentes patogénicos, passam a ter uma importância neste sistema de criação (Tomasi, 2006; Fornace *et al.*, 2013). Dentre várias doenças que acometem as aves em Moçambique, a coccidiose assume grande importância sanitária e económica.

A coccidiose é causada por protozoários intracelulares do género *Eimeria* (Urquhart *et al.*, 1998; Dinka e Tolossa, 2012). A transmissão da infecção ocorre através da ingestão de ooquistos esporulados nas fezes, água ou alimentos contaminados (Trees, 2002; Saif, 2008; Musa *et al.*, 2010). Os protozoários do género *Eimeria* multiplicam-se no tecido epitelial do intestino das aves, causando, desta forma, lesões graves na mucosa que levam a alterações no processo digestivo, comprometendo processo normal de absorção de nutrientes, resultando em altas taxas de mortalidade, morbidade e perda de peso das aves afectadas (Thebo *et al.*, 1999; Dinka e Tolossa, 2012; Kheirabadi *et al.*, 2014).

Apesar da grande variedade de fármacos anticoccidianos e vacinas usadas no controle e prevenção desta parasitose, os prejuízos directos causados por esta doença em aviários incluem aumento da frequência de infecções secundárias e dos custos com os tratamentos quimioterápicos (Williams, 2002; McDonald e Shirley, 2009). Os custos indirectos estão relacionados com o uso de fármacos anticoccidianos e vacinas na prevenção da infecção (Shirley *et al.*, 2005).

O controlo preventivo e monitoramento da doença são estratégias que podem contribuir na redução da infecção, mortalidade e custos de produção. O método de diagnóstico rotineiramente utilizado em aviários é centrado na classificação e nas características das lesões intestinais causadas pelas diferentes espécies (*E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*, *E. brunetti* e *E. necatrix*) consideradas importantes na produção avícola por causarem lesões intestinais e alterações patológicas características nos locais de predileção ao longo do intestino, facilitando assim o seu diagnóstico (Saif, 2008; Gerhold Jr, 2014), no entanto esta técnica apresenta desvantagens, uma

vez que não possibilita definir a presença de algumas espécies (*E. praecox* e *E. mitis*), por não causarem lesões macroscópicas que facilitem o seu diagnóstico. Infecções experimentais em aves por estas espécies resultaram em enterites, diarreia e redução da eficiência alimentar, o que indica que estas duas espécies também são responsáveis pelas perdas verificadas na produção avícola (Allen e Fetterer, 2002; Vertommen, 2004).

Coccidiose como uma das doenças que causa perdas consideráveis na produção avícola, e com impacto negativo na indústria nacional de frango, demanda mais pesquisas que contribuam no seu controle. O controle eficiente desta e outras doenças pode melhorar a oferta de carne de frango, empregabilidade e rentabilidade dos empreendimentos avícolas ao longo da cadeia de valor. Desta forma, o conhecimento da evolução da doença pode contribuir no aumento da eficiência do controle, por permitir a detecção precoce e tomada de decisões de manejo antes de ocorrer acentuadas infecções. Assim, o objectivo do presente estudo foi determinar a dinâmica de eliminação de ooquistos de *Eimeria* spp. em frangos de corte criados em sistemas intensivos.

## 1.1. OBJECTIVOS

## 1.1. Geral

- Determinar a dinâmica de eliminação de ooquistos de *Eimeria* ssp. em frangos de corte criados em sistemas intensivos.

### 1.1.2. Específicos

- Determinar a ocorrência de *Eimeria* ssp. em frangos de corte criados em sistemas intensivos;
- Analisar a dinâmica de eliminação de ooquistos de *Eimeria* ssp. em função da idade de frangos de corte criados em sistemas intensivos.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Caracterização de Coccidiose e hospedeiros

A coccidiose é um termo genérico usado para designar a invasão, em geral aguda, com destruição da mucosa intestinal por protozoários dos gêneros *Eimeria*, *Isospora*, *Cystoisospora* ou *Cryptosporidium*. É uma doença de grande importância em animais domésticos de produção, como aves, ruminantes, suínos e coelhos, a doença clínica ocorre em condições sanitárias inadequadas, superlotação, nutrição inadequada ou *stress* (Fraser *et al.*, 1997).

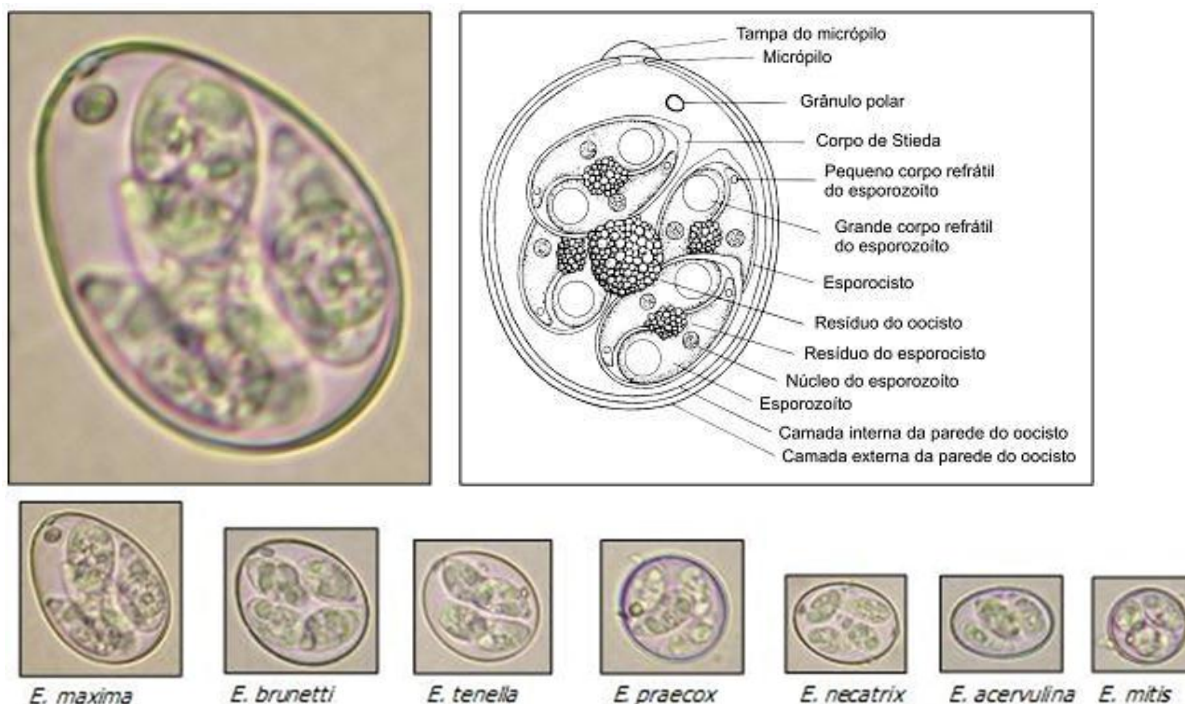
Em aves, os protozoários do gênero *Eimeria* são responsáveis pela coccidiose, que atinge principalmente frangos de corte, matrizes e aves de postura provocando a destruição do tecido intestinal, levando alterações no processo digestivo que culminam com a redução da ingestão de alimentos, perda de peso, absorção de nutrientes, bem como aumento da suscetibilidade a infecções secundárias (Kawazoe, 2000; Morris *et al.*, 2007; Bostvronnois e Zadjan, 2011).

Algumas doenças virais imunossupressoras como a bursite infecciosa e a anemia viral das galinhas, podem exacerbar a coccidiose (Lanckriert *et al.*, 2010). As infecções subclínicas são as mais comuns em frangos de corte e apesar de serem subestimadas resultam na redução da conversão alimentar, baixa uniformidade do lote e redução no crescimento das aves (Hafez, 2008).

O agente etiológico da coccidiose aviária pertence ao filo Apicomplexa, caracterizado por apresentar um complexo apical (auxilia na penetração dos estágios invasivos nas células dos hospedeiros), subfilo Sporozoa, classe Coccídea, Família Eimeridae, gênero *Eimeria* (Uqurhart *et al.*, 1998; Taylor *et al.*, 2007; Dinka e Tolossa, 2012).

O gênero é constituído por nove espécies descritas em aves, sendo sete as que afectam as galinhas causando coccidiose, nomeadamente: *E. acervulina*, *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. maxima*, *E. brunetti*, *E. mitis* e *E. praecox*. E as três primeiras espécies são causadoras de infecções mais severas (Saif, 2008; Gerhold Jr, 2014). As espécies *E. acervulina*, *E. tenella* e *E. máxima* são as mais comuns em frangos de corte, seguidas de *E. mitis*, *E. praecox* e *E. brunetti*. Nas matrizes reprodutoras, a espécie *E. necatrix* é considerada como a causa mais comum de coccidiose (Cornelissen *et al.*, 2009).

As espécies do gênero *Eimeria* apresentam grande especificidade em relação ao hospedeiro, sendo específicas para aves, não são transmitidas a outros animais e vice-versa, porém, mais de uma espécie pode infectar o mesmo indivíduo simultaneamente (Urquhart *et al.*, 2005). A **Figura I** ilustra a morfologia de *Eimeria ssp.* causadoras de Coccidiose aviária.



**Figura I:** Morfologia das espécies de *Eimeria* causadoras de coccidiose em aves (Levine, 1961; Castañón, 2006).

Durante o ciclo evolutivo, os parasitas apresentam várias formas morfológicas (esporozoíto, trofozoíto, esquizonte, merozoíto, macro e microgametócito) que são os estágios teciduais encontrados nas células intestinais do hospedeiro e o ooquisto – forma infectante – é encontrado no meio ambiente (Trees, 2002; Saif, 2008; Gerhold Jr, 2014).

O ooquisto apresenta diversas formas morfológicas, nomeadamente: oval, esférica e elipsóide. O seu tamanho varia de 15 a 50  $\mu\text{m}$  dependendo da espécie, quando esporulado apresenta quatro esporoquistos com dois esporozoítos (Soulsby, 1987; Urquhart *et al.*, 1998). Os parâmetros usados na diferenciação das espécies de *Eimeria*, incluem: morfologia e tamanho de ooquisto, localização e aspetos macro/microscópicos das lesões no hospedeiro, localização do parasita nos tecidos, tamanho dos estágios evolutivos (esquizontes, merozoítos, gametócitos) e período pré-patente mínimo em infecções experimentais (Duszynski e Wilber, 1997; Saif, 2008).

### 2.1.1. Ciclo de vida e patogenia

Os coccídeos do género *Eimeria* apresentam um ciclo de vida directo com duas fases, *i*) a **endógena**: ocorre a multiplicação do parasita no interior das células intestinais do hospedeiro, é constituída por uma etapa de reprodução assexuada (esquizogonia) e outra sexuada (gametogonia) que origina a formação do zigoto. *ii*) **exógena**: ocorre a esporulação dos ooquistos

no meio ambiente (Urquhart *et al.*, 1998; Gerhold Jr, 2014).

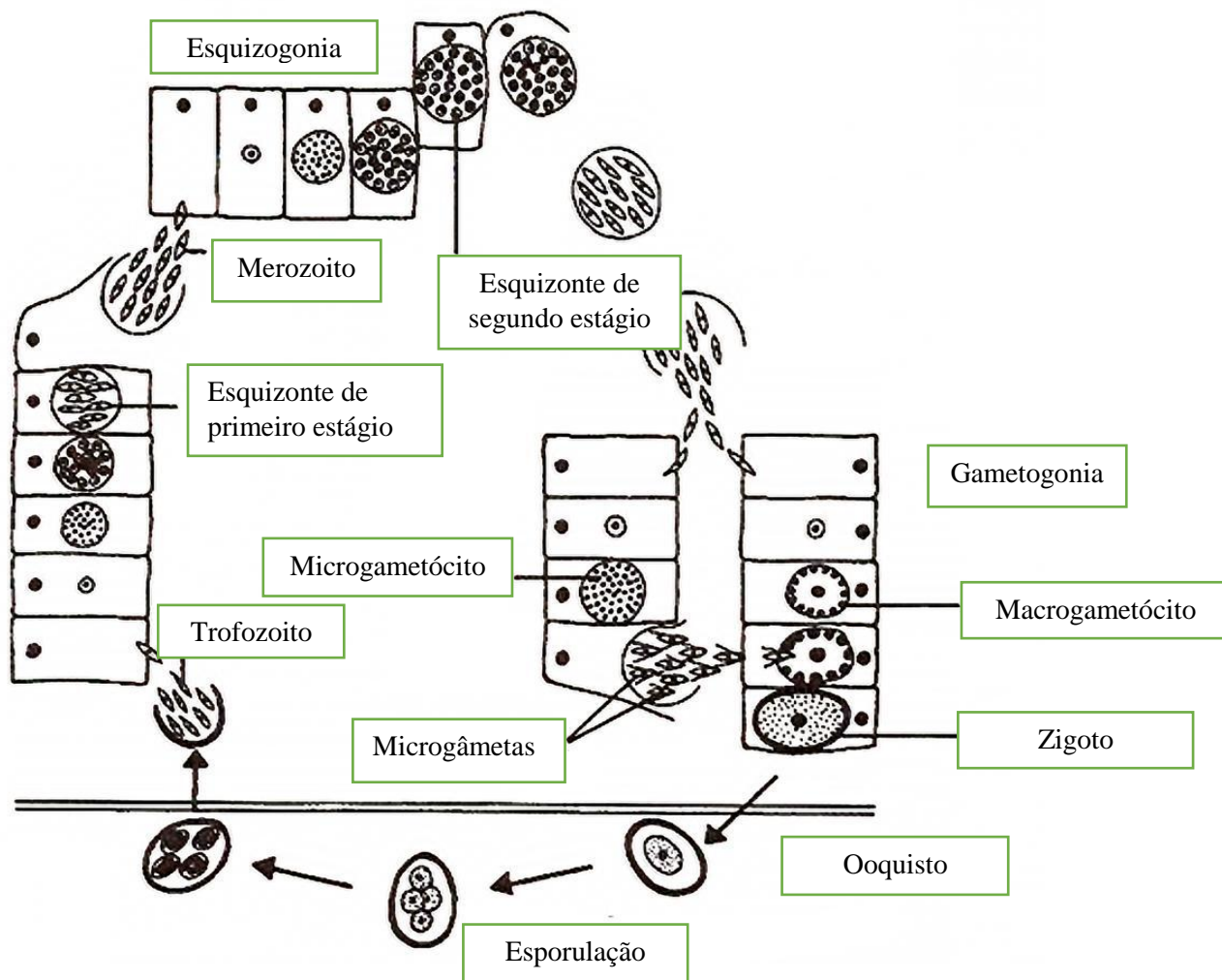
O ciclo de vida inicia com a ingestão do estágio infectante (ooquisto esporulado contendo esporozoítos) pelo hospedeiro suscetível (**Figura II**), este sofre ação mecânica e química (saís biliares e tripsina) que levam a libertação dos esporozoítos no lúmen intestinal. Os esporozoítos exercem ação sobre a parede intestinal, invadindo as células epiteliais na mucosa intestinal. Estes podem desenvolver-se nas células dos locais de penetração (*E. brunetti* e *E. praecox*) ou serem levados para outros locais (criptas) (*E. máxima*, *E. necatrix*, *E. tenella* e *E. acervulina*) onde formam os trofozoítos (Allen e Fetterer, 2002; Gerhold Jr, 2014). Desta forma, iniciam a fase intracelular de crescimento e multiplicação assexuada (esquizogonia) que culmina com a formação dos esquizontes e libertação dos merozoítos. A esquizogamia pode repetir-se e formar novas gerações de merozoítos, dependendo da espécie (Urquhart *et al.*, 1998; Saif, 2008; Gerhold Jr, 2014).

A fase sexuada (gametogonia) inicia ao final da fase assexuada, na qual os merozoítos maduros são libertos e invadem novas células e diferenciam-se em macro e microgametócitos, estimulados por factores desconhecidos, e estes sofrem um processo de diferenciação em que cada macrogametócito dá origem a um macrogâmeta e cada microgametócito origina um grande número de microgâmetas biflagelados. Após a maturação dos microgâmetas há rotura das células hospedeiras, fertilização dos macrogametócitos pelos microgametócitos e fusão dos núcleos originando o zigoto. Este, forma uma parede quística em seu redor, dando origem ao ooquisto que é posteriormente expulso para o exterior da célula hospedeira atingindo o lúmen intestinal, sendo então eliminado nas fezes (Urquhart *et al.*, 1998; Trees, 2002; Saif, 2008). O período pré-patente pode ser de 4-6 dias dependendo da espécie (**Tabela I**) (Urquhart *et al.*, 1998; Trees, 2002; Saif, 2008).

**Tabela I** – espécies que infectam as aves domésticas e seus respectivos períodos pré-patentes em horas.

<b>Espécie</b>	<b>Período pré-patente (h)</b>
<i>Eimeria acervulina</i>	96
<i>Eimeria brunetti</i>	120
<i>Eimeria maxima</i>	123
<i>Eimeria mitis</i>	138
<i>Eimeria necatrix</i>	99
<i>Eimeria praecox</i>	84
<i>Eimeria tenella</i>	128

**Legenda:** h – hora (s). **Fonte:** Kawazoe, 2009.



**Figura II:** Ciclo evolutivo de Eimeria (Urquhart *et al.*, 1998).

## 2.2. Epidemiologia

A coccidiose aviária possui uma distribuição cosmopolita, sendo reportada em vários países do continente Americano, Asiático, Europeu e Africano (Anders e Jorgen, 1998; Saif, 2008). Klein (1996), isolou e caracterizou cinco espécies de Eimeria (*E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. mitis*, *E. máxima* e *E. tenella*) encontradas em infecções mistas e mono específicas em 74 granjas de frangos de corte na Europa, América central e do Sul, Estados Unidos da América e Tailândia.

Os factores como alta densidade de animais, elevada humidade relativa, aves de diferentes categorias no mesmo espaço (principalmente aves de idades diferentes), alteração na alimentação, qualidade da ração e outros factores que comprometem o sistema imunológico do hospedeiro e o bem-estar das aves contribuem para aumento da distribuição e prevalência da coccidiose (Trees, 2002).

A coccidiose é endêmica em regiões tropicais e subtropicais, devidos as condições ambientais e



ecológicas que favorecem o desenvolvimento e propagação *Eimeria ssp.* ao longo de todo ano (Obasi *et al.*, 2006). Aves de todas as idades são suscetíveis a coccidiose, mas a maior parte é infectada nas primeiras 3 a 6 semanas de vida devido a falta de maturidade do seu sistema imunitário, sendo muitas vezes os animais adultos portadores assintomáticos que disseminam o parasita (Trees, 2002; Saif *et al.*, 2003; Chookyionix *et al.*, 2009).

A transmissão entre as aves ocorre pela via fecal-oral, através da ingestão do estágio infectante juntamente com água e alimentos contaminados por fezes de animais infectados. Os ooquistos são disseminados por via mecânica através de equipamentos, vestuário, insectos, veículos e outros animais para outros pavilhões e granjas (Taylor *et al.*, 2007; Saif, 2008; Gerhold Jr, 2014). Os trabalhadores são considerados como os vectores mais importantes na disseminação dos ooquistos através das roupas e utensílios (Charlton, 2006).

Os ooquistos são extremamente resistentes as variações ambientais e desinfectantes, podendo permanecer viáveis no ambiente por vários meses (Saif *et al.*, 2003; Hafez, 2008; Gerhold Jr, 2014). Os ooquistos não esporulados são menos resistentes em relação aos esporulados, contudo estes últimos podem tornar-se inviáveis quando expostos a altas bem como baixas temperaturas, exposições acima de 55°C ou temperaturas abaixo dos 0°C eliminam rapidamente os ooquistos (Saif *et al.*, 2003).

### **2.3. Patogenicidade**

Diversos factores concorrem para a patogenicidade das espécies dentre os quais destaca-se a idade, genética, factores nutricionais do hospedeiro e as espécies de coccídeas. Das sete espécies do género *Eimeria* que afectam as aves domésticas, são reportadas como altamente patogénicas as seguintes: *E. brunetti*, *E. máxima*, *E. necatrix*, *E. tenella*, e *E. acervulina*. As espécies *E. mitis* e *E. praecox* são consideradas pouco patogénicas (Soulsby, 1987; Urquhart *et al.*, 1998). As espécies *E. necatrix* e *E. tenella* são as mais patogénicas devido a esquizogamia que ocorre na lâmina própria e nas criptas do epitélio do intestino delgado e ceco, causando hemorragias extensas, desprendimento da superfície da mucosa, resultando na perda contínua de fluidos e maior susceptibilidade a invasão bacteriana (Kahn, 2005; Gerhold Jr, 2014).

### **2.4. Lesões histopatológicas**

As infecções causadas por uma única espécie de *Eimeria ssp.* são raras em condições naturais, sendo as infecções mistas mais comuns, porém muitos surtos de infecção clínica são atribuídos a uma espécie e ocasionalmente a combinação de duas a três espécies (McMullin, 2001). Ao longo do ciclo de vida do parasita, os diferentes estágios evolutivos de cada espécie desenvolvem-se

em locais de predileção no trato gastrointestinal e dependendo da magnitude da infecção pode causar lesões leves a graves (Gerhold Jr, 2014). Em algumas espécies, o máximo dano tecidual ocorre quando a segunda geração de esquizontes se rompe libertando os merozoítos, outras espécies podem apresentar esquizontes dispersos, o que causa poucos danos a mucosa, porém os gametócitos podem provocar uma forte reação inflamatória com infiltração tecidual (Urquhart *et al.*, 1998; Saif, 2008; Rama *et al.*, 2011).

Alterações microscópicas podem ser observadas na mucosa e, estas consistem em descamação e degeneração do epitélio, atrofia das vilosidades intestinais, hiperplasia difusa ou focal das paredes do intestino, edema, hemorragia, hiperemia, infiltração leucocitária junto as aéreas de necrose, destruição das criptas e presença de esquizontes e gametócitos na mucosa e submucosa (Marquardt *et al.*, 2000). As características das espécies de *Eimeria ssp.* em aves são descritas na **Tabela II**.

**Tabela II:** Lesões macroscópicas características das espécies de *Eimeria spp.* em galinhas.

<b>Espécie</b>	<b>Localização</b>	<b>Lesão</b>
<i>E. tenella</i>	Ceco	Hemorragia com manchas vermelhas brancas na parte do intestino.
<i>E. necatrix</i>	Intestino delgado	Hemorragia, descarga mucóide e manchas brancas na parede do intestino.
<i>E. brunetti</i>	Parte inferior do intestino delgado	Hemorragias leves, descarga mucóide, áreas necróticas e distensão do intestino.
<i>E. máxima</i>		Intestino distendido com pontos hemorrágicos e secreção mucóide.
<i>E. acervulina</i>		Faixas transversais brancas na superfície intestinal serosa, hemorragia e exsudado mucoso.
<i>E. praecox</i>	Duodeno	Sem lesão, mas ligeiramente hemorrágica, na superfície intestinal do duodeno com ligeira secreção mucoide.

**Adaptado:** Saif (2008); Gerhold Jr. (2014)

## 2.5. Sinais clínicos

A coccidiose pode apresentar-se em três níveis crescentes de gravidade: uma infecção leve (não causando efeitos adversos), subclínica e clínica (Williams, 2002). De acordo com Urquhart *et al.* (1998), a coccidiose em aves pode ser dividida em:

- **Cecal:** causada pela *E. tenella*, estágios gametogônicos (*E. necatrix* e *E. brunetti*);
- **Intestinal:** causada pela *E. brunetti*, *E. acervulina*, *E. máxima*, *E. necatrix*, *E. mitis* e *E. praecox*.

Os sinais clínicos da doença estão associados à destruição do tecido durante a libertação dos esquizontes e merozoítos maduros da superfície da mucosa durante as últimas gerações de esquizogamia e ao longo da gametogonia. Segundo Urquhart *et al.* (1998); Amer *et al.* (2010); Gerhold Jr (2014), a sintomatologia clínica observada caracteriza-se por:

- a) **Coccidiose cecal:** apresenta clinicamente diarreia amarelada, e a medida que a doença progride as fezes tornam-se avermelhadas, as aves apresentam anemia, tendem a amontoar-se, ficam com as penas eriçadas, com sinais de depressão, redução acentuada no consumo de alimento frequentemente seguido pela morte dos animais devido as hemorragias.
- b) **Coccidiose intestinal:** apresenta um decurso crónico, os sinais clínicos observados são os mesmos que na coccidiose cecal, porém apenas algumas espécies (*E. brunetti*, *E. necatrix*) causam lesões que culminam com aparecimento de sangue nas fezes.

Para além dos sinais clínicos acima referidos, aumenta a susceptibilidade a outros agentes patogénicos como *Clostridium spp.*, *Salmonella* e *E. coli*, devido as lesões e a redução da imunidade das aves, sendo as aves geralmente mais susceptíveis, apresentam rapidamente os sinais de doença (Williams, 2005; Bostvironnois e Zadjian, 2011).

## 2.6. Diagnóstico

O diagnóstico da coccidiose é feito com base na observação da história clínica, sinais clínicos dos animais afectados e sustentado pela identificação de ooquistos no exame coprológico. Porém, a presença de ooquistos nem sempre está correlacionada a presença de doença clínica. Outros factores devem ser tidos em conta para essa conclusão, como o nível da lesão da mucosa intestinal, sinais clínicos ou maus índices produtivos (Gussem, 2007).

A identificação dos ooquistos de *Eimeria ssp.* é feita pelo exame microscópico das fezes através da técnica qualitativa de flutuação baseada na utilização de soluções saturadas de cloreto de sódio (NaCl) ou de açúcar onde observa-se os ooquistos. A determinação da carga parasitária é feita através da técnica quantitativa de MacMaster para contagem de ooquistos por gramas de fezes (OOPG) (Ueno e Gonçalves, 1998; Gussem, 2007; Zajac *et al.*, 2012).

A identificação das espécies é feita com base nos seguintes parâmetros: morfologia, localização, aspetos macro/microscópicos das lesões no hospedeiro, localização do parasita nos tecidos, tamanho dos estágios evolutivos e período pré-patente mínimo nas infeções experimentais a partir de ooquistos esporulados (Allen e Fetterer, 2002; Saif, 2008). Para tal, as amostras de fezes positivas para ooquistos de *Eimeria ssp.*, são misturadas com uma solução de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) a 2,5%, filtradas e acondicionadas em placas de Petri a temperatura ambiente até que os ooquistos esporulem (Soulsby, 1987; Duszynski e Wilber, 1997).

Para além da observação destes parâmetros, foram desenvolvidas novas técnicas, baseadas na Reacção em Cadeia da Polimerase (PCR), como a técnica de PCR multiplex baseada em marcadores moleculares Regiões Amplificadas Caracterizadas por Sequências (SCARs) que permitem a diferenciação e diagnóstico das setes espécies de *Eimeria* e PCR em tempo real (Fernandez *et al.*, 2003; Kawahara *et al.*, 2008; Morgan *et al.*, 2009).

## 2.7. Tratamento

O tratamento é, preferencialmente, feito pela administração de fármacos (**Tabela III**) na água de beber ou na ração, podendo também ser associada a antibioterapia e administração de níveis mais elevados das vitaminas A e K, para acelerar a recuperação das aves e para prevenção de infecções bacterianas secundárias (Gerhold Jr, 2014).

As espécies *Eimeria ssp.* responsáveis pela coccidiose são capazes de desenvolver resistência para todos os fármacos. O desenvolvimento de estirpes resistentes é facilitado pelo uso de doses baixas por longos períodos de tempo. Quando ocorrem surtos clínicos devido ao desenvolvimento de estirpes resistentes é aconselhável realizar um teste de sensibilidade para estabelecer o tratamento (Hafez, 2008; Gussem, 2007).

**Tabela III:** Concentração de fármacos usados no tratamento da coccidiose aviária.

Fármaco	Veículo	Nível	Duração do tratamento
<b>Amprolium</b>	Água	0.012 – 0.024 %	3-5 dias; 1-2 semanas
<b>Clortetraciclina</b>	Ração	0.022 % + 0.8 % de Ca	Não mais de 3 semanas
<b>Oxitetraciclina</b>		0.022 % + 0.5 – 0.8% de Ca	Não mais que 5 dias
<b>Toltrazurila</b>	Água	2 ppm	2 dias
<b>Sulfadimetoxina</b>		0.05 %	6 dias
<b>Sulfametazina</b>		0.1 %; 0.05%	2-4 dias

**Fonte:** Spinoza *et al.* (2011); Gerhold Jr (2014).

## 2.8. Controlo e profilaxia

Segundo Gussem (2007), o controlo da coccidiose aviária passa pela adopção de uma série de medidas sanitárias e de manejo adequadas, quimioprofilaxia e imunoprofilaxia das aves.

### 2.8.1. Quimioprofilaxia

Esta é feita com base em fármacos administrados na ração das aves, denominados anticoccídicos, muitas vezes alguns desses fármacos são usados no tratamento das aves doentes, através da administração destes preferencialmente na água de bebida (Gerhold Jr,

2014).

Estes consistem em dois grupos usados actualmente na indústria avícola, *i*) fármacos sintéticos: Amprolium, nicarbazina, robendina, diclazuril, zoaleno, decoquinato e halofuginona; *ii*) antibióticos ionóforos: salinomina, narasina, maduramicina, semduramicina e lasalocido (Chapman, 2007; Gussem, 2007; Gerhold Jr, 2014).

Os fármacos usados no controle da coccidiose são únicos quanto ao seu modo de acção, a forma como o crescimento intracelular dos parasitas é interrompida ou eliminados (efeitos coccidiostáticos e coccidiocida), bem como o seu efeito sobre o crescimento e desempenho das aves, sendo muito poucos os que são igualmente eficazes contra todas as espécies de *Eimeria ssp* (McDougald, 2003).

A eficiência do uso de anticoccídicos pode ser afectada pelo surgimento do fenómeno de resistência. Para evitar o surgimento desse fenómeno e obter melhores resultados na saúde e alimentação das aves, recomenda-se o uso de programas de rotação de medicamentos acompanhada de monitoramento constante dos ooquistos nas fezes (Hafez, 2008; Spinoza *et al.*, 2011).

### 2.8.2. Imunoprofilaxia

A *Eimeria spp.* produz uma resposta imune multifactorial e complexa, estando a infecção circunscrita ao trato intestinal, o tecido linfoide associado ao intestino (GALT) actua como primeira linha de defesa (processamento e apresentação de antígenos, produção de anticorpos intestinais e activação da imunidade celular) (Lilehoj *et al.*, 2000; Shirley *et al.*, 2007). Segundo Shirley *et al.* (2007), a resposta imunológica de maior importância contra a coccidiose é fundamentalmente celular, através das células T, enquanto as células B e as “*natural killers*” tem função menos relevante (Klotz *et al.*, 2007).

As vacinas usadas na indústria avícola podem ser classificadas em: vivas, inactivadas e de proteínas e DNA recombinantes (Martins *et al.*, 2012). A imunidade desencadeada pelas vacinas é específica para as estirpes da vacina, isto é, as vacinas não imunizam contra espécies de *Eimeria ssp.* que não estão incluídos na fórmula de vacina (David, 2000; Saif, 2008). As vacinas vivas podem ser divididas:

- **Vacinas de estirpes virulentas:** foram as primeiras a ser usadas contra a coccidiose, destacando-se a Coccivac<sup>®</sup> (1955) e a Imunocox<sup>®</sup> (1985). Ainda hoje são usadas em diferentes formas e veículos como através da água de beber, em gel e em *spray*, sendo a sua patogenicidade modulada por vários métodos como a co-administração com anticoccídicos e administração em baixas doses (Lilehoj *et al.*, 2000).
- **Vacinas atenuadas:** obtidas por meio de passagens sucessivas em ovos embrionados,

selecção de estirpes precoces e irradiação (Lilehoj *et al.*, 2000). Nesta classe estão incluídas as vacinas de nome comercial Paracox<sup>®</sup> (1989) e Livacox<sup>®</sup> (1992). As vacinas atenuadas oferecem a desvantagem de reversão da atenuação, que podem resultar em lesões intestinais intensas que causam perda de peso; além disso, estas vacinas não devem ser administradas em simultâneo com agentes coccidiostáticos, pois, estes últimos inibem o ciclo do parasita, resultando em não imunização das aves, pelo facto de só haver estimulação do sistema imunitário quando há invasão das células intestinais pelo agente atenuado da vacina (Martins *et al.*, 2002).

### **2.8.3. Medidas sanitárias**

A quimioprofilaxia e a imunoprofilaxia são inúteis quando não são acompanhadas de práticas sanitárias adequadas, pois certos tipos de manejo nos aviários criam condições ideais (temperatura e humidade) para que ocorra a esporulação de ooquistos, que quando associadas as altas densidades de animais aumentam o risco de infecção. Deste modo, a prevenção da coccidiose baseia-se na combinação de boas práticas de manejo e dos métodos acima referidos (Urquhart *et al.*, 1998; Gussem, 2007).

As boas praticas de manejo visam impedir ou reduzir a ingestão de ooquistos esporulados pelos animais, devendo-se desta forma dar mais atenção a higiene e desinfecção das instalações. As boas práticas de manejo consistem em fazer gestão de sistemas de abastecimento de água, garantindo desta forma que a água provenha de fontes seguras, utilizar bebedouros que impeçam que a água atinja a cama, usar sistemas de ventilação adequados para reduzir a humidade e manter a cama seca, fazer um bom controlo da qualidade da ração e manter a densidade recomendada para os animais (Urquhart *et al.*, 1998; Taylor *et al.*, 2007; Hafez, 2008).

### **2.9. Importância económica**

A coccidiose é favorecida pelo sistema intensivo de produção de frangos. Como a doença leva a grande comprometimento da absorção de nutrientes pelas aves por causa das lesões que provoca nos intestinos modificando o processo de digestão. A falta de nutrientes nas aves por sua vez os leva a uma queda no desempenho zootécnico (FEDDERN *et al.*, 2016).

A coccidiose refere-se a uma das doenças de maior relevância económica da avicultura industrial, além do impacto negativo no desempenho zootécnico, ocasiona também mortalidade. Ela gera déficite económico em todo o mundo, estimado em US\$ 3 bilhões ao ano, incluso nesse valor gastos com medicamentos profiláticos anticoccidianos ou terapêuticos incorporados na ração, perdas de carne, consumo de ração e além disso o efeito da doença nas aves. Este parasita causa tanto prejuízo que, o meio exclusivo economicamente possível de produzir frangos é

fazendo a utilização de produtos preventivos (FEDDERN *et al.*, 2016).

### 3. MATÉRIAS E MÉTODOS

#### 3.1. Caracterização da área de estudo

A província de Maputo está localizada no extremo do Sul do País. A norte faz fronteira com a província de Gaza, numa extensão de 186,6 Km, a Sul e Oeste com a África do Sul e Reino da Suazilândia, numa extensão de 394,3 Km, e a Este com o Oceano Índico e a cidade de Maputo, com 174,2 e 26 Km de extensão, respetivamente (INE, 2009). A província possui um clima tropical seco e apresenta duas estações predominantes, sendo uma quente, onde se regista maior pluviosidade que vai de Outubro a Março e a outra fresca e seca que vai de Abril a Setembro. A temperatura média anual é de 23 °C durante o verão, onde também ocorrem, esporadicamente, temperaturas na ordem dos 40 °C e na época fresca, raramente atingem níveis abaixo de 10 °C, excepto na cadeia dos Libombos, onde chegam a descer abaixo de 5 °C, mas nunca abaixo dos 0 °C (INE, 2009).

O estudo foi realizado em sete (7) unidades de produção (UP), nomeadamente:

- **UP1:** localizado no bairro de Bobole com 15.000 aves alojadas no dia 10 de Março de 2022. Foram colhidas 5 amostras;
- **UP2:** localizado em Mafavuka no distrito de Namaacha com 56.500 aves alojadas no dia 14 de Fevereiro de 2022. Foram colhidas 30 amostras;
- **UP3:** localizado em Mafavuka no distrito de Namaacha com 56.500 aves alojadas no dia 21 de Fevereiro de 2022. Foram colhidas 20 amostras;
- **UP4:** localizado em Kufa no distrito de Katembe com 25.200 aves alojadas no dia 24 de Fevereiro de 2022. Foram colhidas 30 amostras;
- **UP5:** localizado em Mahubo no distrito de Matutuine com 9.300 aves alojadas no dia 24 de Fevereiro de 2022. Foram colhidas 15 amostras;
- **UP6:** localizado em Chimara no distrito de Marracuene com 18.500 aves alojadas no dia 17 de Fevereiro de 2022. Foram colhidas 20 amostras;
- **UP7:** localizado na Mozal no distrito de Boane com 12.000 aves alojadas no dia 17 de Março de 2022, localizados na província de Maputo, foram colhidas 30 amostras.

As aves do presente estudo não foram vacinadas contra coccidiose, porém usou-se um programa anticoccidiano na ração cujo a sua composição não foi partilhada devido o sigilo comercial.

O maneo das unidades de produção (UP), consistiu em retirada da cama e depositadas em sacos para venda ou uso em machambas, de seguida era feito a lavagem do aviário e dos

equipamentos com água e um detergente (BIOGEN).

O processo de desinfecção era feito com alguns produtos disponíveis nas unidades de produção (UP), paragon, formalina, pharnguard e virukil e depois ficavam em vazio sanitário por um período que varia de 7 a 15 dias.

O programa de controle e prevenção de doenças era feito com base em boas praticas de biossegurança como: uso de rodaluvios e pé deluvios, evitar entrada de pessoas estranhas no aviário e garantir a higiene das instalações e cumprir com o programa de vacinação.

Em casos de doença, faz-se o diagnóstico presuntivo e o tratamento de acordo com a suspeita, que pode consistir na administração de antibióticos, vitaminas, pulverização do aviário, isolamento e eliminação de aves doentes.

As unidades de produção (UP1, UP4, UP5, UP6 e UP7), usam aviários convencionais semiabertos com 9-10 aves por  $m^2$ , enquanto que as unidades de produção (UP2 e UP3), usam aviários fechados automatizados com 24 aves por  $m^2$ .

### 3.2. Amostragem de fezes e quantificação de ooquisto

Para elaboração do presente estudo, foi feito um estudo longitudinal e foi conduzido durante o período de Fevereiro a Abril de 2022. A população de estudo consistiu em frangos de corte criados em sete (7) unidades avícolas incluídas no estudo.

O tamanho da amostra de frangos desejado foi determinado com base na **Equação 1** descrita por Thrustfield (2005), de amostragem aleatória simples para populações infinitas com o cálculo em um intervalo de confiança de 95%.

$$\text{Equação 1: } N = \frac{1,96^2 \cdot Pesp(1-Pesp)}{d^2} = \frac{1,96^2 \cdot 0,5 \cdot (1-0,5)}{0,08^2} = \frac{3,8416 \cdot 0,25}{0,0064} = \frac{0,9604}{0,0064} = 150$$

Onde:

- N - é o tamanho da população;
- Pesp – prevalência esperada de 50%;
- d – grau de precisão de 8%



### 3.3. Colecta de amostra

Para análise coprológica, foram colectadas amostras fecais (cerca de 100 g) aleatoriamente em três posições (frente, meio e fundo do aviário) em um sistema de *Zig-Zag*. As amostras foram colhidas em sete (7) unidades de produção avícolas deste estudo. Em cada Unidade, foram colhidas em média quatro (4) amostras e em algumas Unidades foram colhidas mais de quatro amostras. A colheita de amostra era feita semanalmente no período da manhã, porém em idades diferentes das aves. As colheitas referentes a todo o período experimental foram totalizadas em 30 colectas.

As amostras colectadas foram depositadas em sacos plásticos devidamente identificados (número da amostra, idade das aves, proveniência e data da colecta) e acondicionadas em recipiente térmico com gelo e encaminhadas de imediato ao Laboratório de Parasitologia, Departamento de Para-clínicas da Faculdade de Veterinária (FAVET) – Universidade Eduardo Mondlane (UEM) onde foram imediatamente processadas. Amostras que não puderam ser processadas no mesmo dia da colecta foram submetidas a uma temperatura de refrigeração a 4°C para manter a integridade dos ooquistos e foram processadas no dia seguinte segundo recomenda Ueno e Gonçalves (1998) e Zajac *et al.* (2012).

#### 3.3.1. Quantificação de ooquistos e avaliação da dinâmica de eliminação de *Eimeria ssp.*

As amostras fecais foram processadas de acordo com a técnica de Willis, que consiste em flutuação de ooquistos em solução saturada de Cloreto de Sódio (NaCl). Para tal, foram pesadas 2 g de cada amostra de fezes e misturadas a 20 mL de solução saturada de NaCl, e posteriormente filtrada e colocada num copo de Borel. Sobre este foi colocada uma lamela e deixada em repouso durante 15 minutos, posteriormente a lamela foi retirada e colocada sobre uma lâmina e observada ao Microscópio Óptico na objectiva de 10X. Foi considerada como amostras positivas todas as que apresentaram pelo menos um ooquisto de *Eimeria spp.*, por esta técnica. As amostras positivas foram posteriormente submetidas a contagem de ooquistos, (**Anexo I**).

A contagem de ooquistos por grama de fezes (OOPG) foi realizada pela técnica de McMaster de flutuação em solução salina saturada, desenvolvida por Gordon e Whitlock (1939) e modificada por Ueno e Gonçalves (1998). Para tal, foram pesados 2 g de fezes de cada amostra, maceradas e adicionadas a 28 ml de solução saturada de NaCl, em seguida o material em suspensão foi filtrado em gaze, onde uma parte foi utilizada para preencher as retículas da câmara de contagem de McMaster e deixada em repouso durante 5 minutos. Em seguida, foram feitas as leituras no Microscópio Óptico (10X), verificando a quantidade de ooquisto por grama de fezes (OOPG), sendo determinada pelo número de ooquistos do gênero *Eimeria spp.* encontrados e multiplicados

por 100 (**Equação 2**), (**Anexo II**).

$$\text{Equação 2: OPG} = Y * 100$$

Onde:

- Y= corresponde ao número total de ooquistos observados.

### **3.4. Análise de dados**

Os valores da contagem do OOPG foram multiplicados por 100. os dados foram processados através do *Microsoft Office Professional Plus 2016* e um valor  $p < 0,05$  foi considerado significativo e, a partir dos resultados foram elaborados os gráficos para a dinâmica de infecção.

Os dados foram traduzidos em informação do tipo binária (positivo e negativo) para ocorrência de coccidiose, em forma de frequência para número de ooquistos em diferentes idades das aves.

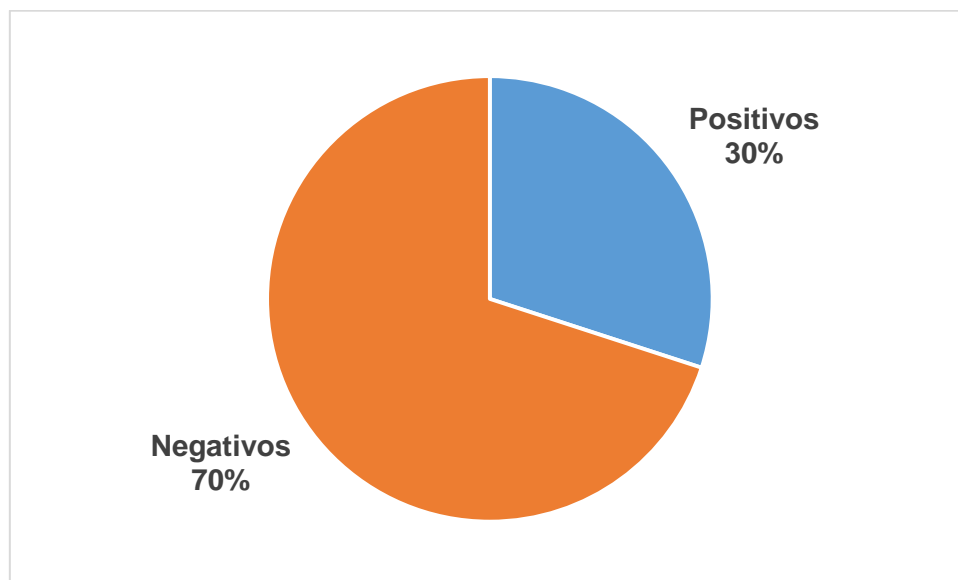
## 4. RESULTADOS

Durante o período de estudo (Fevereiro a Abril de 2022), foram colhidas 150 amostras de fezes de frangos de corte. As amostras provinham de sete Unidades de Produção (UP) avícolas da Província de Maputo.

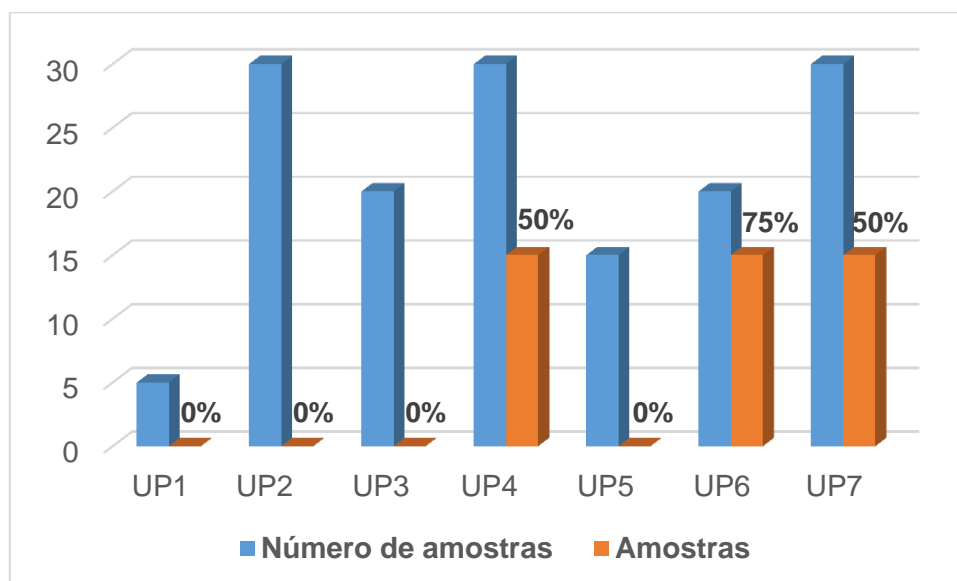
### 4.1. Teste qualitativo de Willis

Das 150 amostras de fezes de frangos de corte examinadas pelo teste de Willis, foram observados ooquistos de *Eimeria ssp.*, em 45 amostras e nas restantes 105 amostras não foram observadas (**Gráfico 1**). A ocorrência de *Eimeria ssp.*, foi observada nas seguintes unidades de produção: UP4, UP6 e UP7 e, a maior frequência de *Eimeria ssp.* foi observada na UP6 (**Gráfico 2**).

**Gráfico I:** Percentagens de amostras positivas e negativas em todas as Unidades de Produção (N=150).



**Gráfico II:** Frequência de infecções por *Eimeria ssp.*, usando o método de Willis por cada Unidade de Produção.



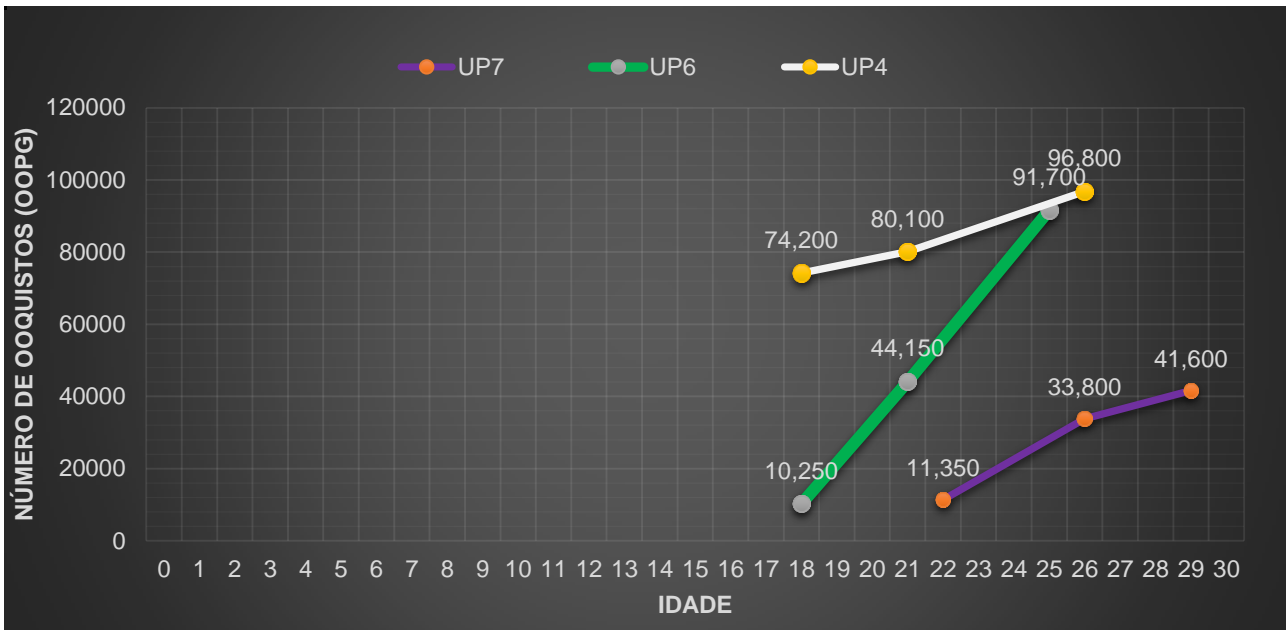
#### 4.3. Avaliação da carga parasitária pelo método de MacMaster

O método de MacMaster foi realizado nas amostras positivas a teste de Willis. O número de ooquistos por gramas de fezes (OOPG), das três (03) unidades de produção positivas, variou de zero a noventa e seis mil e oitocentos (0-96.800 OOPG) (**Gráfico III**).

A eliminação de ooquistos de *Eimeria ssp.* em frangos de corte criados em sistemas intensivos ocorreu durante as três últimas semanas do ciclo de produção, com presença de ooquistos em 30% das amostras fecais avaliadas.

Durante as primeiras eliminações, o comportamento de excreção caracterizou-se pelo aumento progressivo e relativamente rápido, no vigésimo sexto dia do ciclo foi observado os maiores picos individuais de eliminação de ooquistos.

**Gráfico III:** Contagem de ovos por gramas de fezes (OOPG).



## 5.1 Discussão

A coccidiose está presente na maioria das unidades de produção de frangos de corte, em pequena ou grande escala e em todo o mundo e, a maior ocorrência de coccidiose é geralmente observada em sistema intensivo de produção de frangos (Chapman, 2014). No presente trabalho, foi realizado um estudo sobre a dinâmica de eliminação de ooquistos de *Eimeria spp.* em frangos de corte criados em sistemas intensivos, em sete unidades de produção da Província de Maputo. A prevalência de *Eimeria spp.* encontrada foi de 30%.

A ocorrência de coccidiose (30%) neste estudo, pode estar relacionado às características climáticas do país, uma vez que os climas tropicais e húmidos oferecem condições de temperatura e humidade favoráveis para a esporulação dos ooquistos e para manutenção da sua viabilidade no meio ambiente, contribuindo para uma maior exposição das aves aos parasitas (Obasi *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007).

Por outro lado, o sistema de criação pode ser um factor interveniente na prevalência de animais infectados pela *Eimeria spp.*, uma vez que a alta densidade animal no sistema intensivo possibilita a ocorrência de infecção em massa (Hassum *et al.*, 2002), especialmente em animais jovens, os quais são bastante susceptíveis à infecção (Khan *et al.*, 2011). Em condições de criação intensiva, ocorre alta densidade populacional, dessa forma a transmissão da doença ocorre com maior facilidade e existe disponibilidade de grande quantidade de ooquistos (Lima, 2004).

Entretanto, em diversos estudos realizados em diferentes regiões, foi observada maior prevalência de coccidiose aviária comparativamente a prevalência de *Eimeria spp.* encontrada no presente estudo (30%). As ocorrências altas foram observadas por Huang *et al.*, (2017) na China que encontraram prevalência de 87,5%, Moraes *et al.* (2015), no Brasil de 96%, Györke *et al.* (2013) na Romênia de 92%, Oljira *et al.* (2012), na Etiópia de 70,9%, Shirzad *et al.* (2011) no Irã de 75%, Lee *et al.*, (2010) na Coreia do Sul de 78,7% e Al-Natour *et al.* (2002) que reportaram prevalência de 78% no norte da Jordânia. Esta variação de prevalência de *Eimeria spp.* pode estar relacionada a diversos factores ambientais de cada região como temperatura, precipitação pluviométrica, estado nutricional e manejo geral das aves (Ruas e Berne, 2001).

A ocorrência de altos níveis de coccidiose é observada na época chuvosa e é influenciada pela humidade que cria condições favoráveis para a esporulação de ooquistos, tornando-os infectantes (Etuk *et al.*, 2004). O que corrobora com o período de colheita de amostras no presente estudo, pois foi no mês de Fevereiro a Março, meses considerados chuvosos nesta região. Este nível médio de infecção observado pode ser também justificado pela tendência dos avicultores em manter a temperatura num nível ideal para as aves dentro dos aviários, alterando as condições ambientais dentro dos aviários e deste modo, criando condições favoráveis (temperatura e humidade) para a esporulação dos ooquistos (Urquhart *et al.*, 1998), o que pode contribuir para

níveis de infecções reportados.

Não obstante, o uso de coccidiostáticos na ração e alterações do ambiente podem contribuir para a ocorrência de altos níveis de infecção. A administração de baixas concentrações de coccidiostáticos na ração associadas a mudanças repentinas no ambiente interno dos aviários (humidade e temperatura) podem levar a esporulação massiva dos ooquistos e ingestão destes pelas aves a um nível em que o fármaco não consegue controlar (Urquhart *et al.*, 1998). Todos esses factores favoráveis à esporulação e dispersão de ooquistos, explicam os níveis de ocorrência de coccidiose, uma vez que os ooquistos são extremamente resistentes e podem permanecer viáveis por longos períodos no ambiente (Berchieri Jr e Macari, 2000; Shirley *et al.*, 2005).

A coccidiose afecta aves jovens entre duas a três semanas de idade (Urquhart *et al.*, 1998; Balestrin, 2020), achados observados no presente estudo, pois foi observada infecção a partir do 18º dia (3ª semana). Entretanto, a imunidade desenvolve-se rapidamente após a primeira exposição a determinada espécie, ficando protegidos contra infecções futuras. No entanto, como não existe imunidade cruzada entre as espécies de *Eimeria*, o mesmo animal mais tarde pode sofrer infecção por outras espécies. E é possível ocorrerem infecções concomitantes com duas ou mais espécies de *Eimeria* (Abdisa *et al.*, 2019; Galha *et al.*, 2008; Gharekhani *et al.*, 2014; Györke *et al.*, 2013).

No presente estudo, foi possível observar ainda, que as aves começaram a apresentar positividade a infecção de *Eimeria* a partir do 18º dia. O início de ocorrência de coccidiose com essa idade, pode ser associada a aumento de peso das aves, o que aumenta densidade populacional destas, com consequente dificuldade do manejo, aumentando o contacto com fezes e aos factores ambientais como a humidade e a temperatura, que também propiciam um aumento da manutenção e propagação da coccidiose nas criações (Gupta, 2009; Martins, 2019).

Os factores de estresse podem originar surtos de coccidiose, uma vez que a eliminação contínua ou intermitente de pequeno número de ooquistos no aviário é relativamente frequente. Os factores que causam estresse incluem: transporte/movimentação das aves, exposição ao calor, frio ou outras condições climáticas extremas e alterações na dieta. A determinação da influência destes factores sobre a coccidiose é extremamente difícil (Arguello e Cordero del Campillo, 1996). Pois, em todos os sistemas de criação semi-intensiva ou intensiva das aves, a partir do 21º dia há mudança da alimentação e, não obstante, em uma das unidades do estudo (UP7), os pintos em crescimento foram movimentados de um pavilhão para outro com vista a reduzir a densidade populacional, estes factores podem ter originado estresse e consequentemente redução da imunidade e aumento de taxa de infecção.

De acordo com Soulsby (1982) e Gerhold Jr (2014), a intensidade da infeção por ooquistos de

*Eimeria ssp.*, foi classificada como grave (contagens acima de 100.000 OOPGs) para maioria das amostras. Essa predominância de infecções graves pode ser atribuída aos mesmos factores que explicam o alto nível de infecção das aves no geral (tendência dos avicultores de manter a temperatura dos aviários num nível ideal), bem como por outros factores mais específicos, como o mau manuseamento dos bebedouros (pode levar ao aumento da humidade no interior dos aviários) associado a ineficiência das medidas de biossegurança das instalações (limpeza, desinfecção, não cumprimento do vazio sanitário, controlo do fluxo de pessoas), a ineficiência dos fármacos anticoccídicos (desenvolvimento de resistência ou doses ineficazes) e outras técnicas que auxiliam no controlo da coccidiose na avicultura industrial, aumentando desta forma a disponibilidade dos ooquistos no ambiente criando condições favoráveis para a esporulação e ingestão dos ooquistos pelas aves (Urquhart *et al.*, 1998; Trees, 2002).

Diante da resistência aos medicamentos e da falta de uniformidade na imunidade para a coccidiose, a liberação dos ooquistos de *Eimeria ssp.*, ocorre por períodos prolongados durante o crescimento do frango de corte (Jenkins *et al.*, 2019). Em geral, seguem um padrão, com os níveis de pico de ooquistos presentes nas fezes ocorrendo entre duas e quatro semanas de vida do lote (Graat *et al.*, 1996, Jenkins *et al.*, 2017). Os ooquistos possuem esporulação rápida, facilidade de disseminação no ambiente e grande potencial de reprodução. É muito difícil manter as aves totalmente livres do contacto com os ooquistos, especialmente sob condições actuais de criação intensiva (Allen e Fetterer, 2002; Abdisa *et al.*, 2019).

A coccidiose é endémica na maioria das regiões tropicais e subtropicais, onde as condições ambientais e de manejo favorecem o desenvolvimento e a propagação do agente durante todo o ano (Abdisa *et al.*, 2019). Pois, Moçambique possui o clima tropical o que explica a ocorrência de coccidiose nas unidades de produção.

Em um estudo realizado por Luchese (2007), em dois grupos de frangos, um experimental com uso de coccidiostáticos e outro controle, observou maior incidência de ooquistos nas fezes no grupo controle quando comparado com o experimental. O grupo com o uso de coccidiostáticos na ração foi diagnosticado também alta prevalência de coccídeos nas fezes dos animais. Esta observação evidencia a baixa eficácia exercida pelos medicamentos coccidiostáticos presentes na ração devido a resistência aos agentes infecciosos, desta forma, o uso de drogas coccidiostáticas na ração de frangos na forma de Premix, não elimina a possibilidade de existir infecções por agentes coccidianos. Esses dados corroboram com os resultados do presente estudo, pois na ração balanceada adicionou-se os fármacos coccidiostáticos, porém houve ocorrência de coccidiose.

A eliminação de ooquistos nas fezes dos frangos apresentou uma dinâmica relativamente comum, embora com pequenas variações, pois foi progressivo. Nos primeiros dias de vida, os pintos parecem ser refratários à infecção a *Eimeria ssp.* isso pode ser devido a protecção da imunidade



inata (Chartier e Paraud, 2012). A adição desses factores intrínsecos, proporciona a ausência de ooquistos nas fezes nos primeiros dias de vida. Na 3ª semana, aparecem os primeiros ooquistos (Saratsis *et al.*, 2011) no presente estudo foram observadas concretamente a partir do 18º dia, com expressivo incremento na 4ª semana de idade (Reeg *et al.*, 2005). Ao longo do estudo, foi observado aumento da eliminação dos ooquistos nas aves e o pico de eliminação foi observado no 26º dia. Diferentemente do estudo realizado por Souza (2014), em que houve oscilação na eliminação dos ooquistos em função da idade. Essas diferenças na dinâmica de eliminação de ooquistos em diferentes estudos é, provavelmente, devido a um conjunto de factores que envolvem as espécies parasitárias de cada região, capacidade imunológica dos animais e as condições ambientais, nas quais os animais estão submetidos.

Na coccidiose, a piora da conversão alimentar justifica-se pela passagem da ração no duodeno sem ser totalmente digerida e absorvida porque as células epiteliais estão danificadas pela infecção. Hammond e Long (1973) e Ruff (1999) comentaram que aves infectadas com coccidiose apresentam retardo no crescimento e consequentemente redução no ganho do peso, proporcional a gravidade da infecção. Os achados desses autores corroboram com os índices de desempenho zootécnico (peso e conversão alimentar) observados nestas unidades de produção (UP), antes da realização desse estudo.

Neste estudo surgiram maior número de resultados não conclusivos provavelmente devido ao reduzido número de amostras, número de amostras com idades desiguais das aves, variação do número total de colheitas de amostras nas sete unidades de produção e diferença na idade de início e fim de colheita de amostras.

## 6. Conclusão e Recomendações

### 6.1. Conclusão

Após a realização do presente estudo, conclui-se que:

- Ocorre parasitismo gastrointestinal por género de *Eimeria ssp.*, sendo um dos prováveis factores que causa redução no desempenho produtivo dos lotes de frango de corte produzidos nas sete unidades de produção;
- A dinâmica de eliminação de oocistos de *Eimeria ssp.*, em frangos de corte criados em sistemas intensivos, foi caracterizada por um aumento progressivo a partir do 18º dia e atingindo o pico no 26º dia;
- Apesar do uso de drogas anticoccídicos na ração, foi possível observar níveis de infecções por coccídeos do género *Eimeria ssp.*, no presente estudo.

Portanto, com esses resultados fica claro e evidente para os profissionais da área avícola que as monitorias devem ser realizadas rotineiramente contribuindo cada vez mais para decisões mais assertivas em tratamentos preventivos e/ou terapêuticos com foco na manutenção do desempenho produtivo dos frangos de corte, na busca da optimização do sistema de produção avícola.

É importante ressaltar que a coccidiose sempre estará presente na criação de aves comerciais, entretanto, deve-se sempre trabalhar para que essa não afecte demasiadamente a criação.

## 6.2 Recomendações

### À comunidade académica:

- Realização de mais estudos, com maior tamanho de amostra e abrangendo mais locais de estudo da província e cidade de Maputo por forma a se saber da situação epidemiológica da ocorrência da coccidiose em frangos de corte nesta província;
- Realização de um trabalho similar usando técnicas moleculares para identificação das espécies da *Eimeria* ssp.

### Aos avicultores

- Consciencialização sobre a importância da coccidiose e das perdas causadas pela doença de forma a investir na profilaxia uma vez que esta parece ser a melhor estratégia, pois o custo é menor comparado com o tratamento, além de minimizar a ocorrência de perdas significativas na produção.
- Uso de programas de rotação entre as vacinas e os anticoccídicos, visto que actualmente representam uma óptima estratégia de longo prazo para prevenir a coccidiose na produção e, também para melhorar os resultados zootécnicos, que é o objectivo final de todas as integrações de produção de aves.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AL-Natour, M.Q.; Suleiman, M.M.; Aboshehada, M.N. (2002). **Flock-level prevalence of Eimeria species among broiler chicks in northern Jordan**. Preventive Veterinary Medicine, n. 1670, pp. 1-6.
2. Allen, P.C.; Fetterer, R.H. (2002). **Recent advances in biology of Eimeria species and diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry**. Clinical Microbiology Revist. Vo. 15, pp. 58-65.
3. Almeida, A.; Cardoso, L.G.A. (2001). **African poultry-Limitations and development perspective**. Instituto de Investigação Científica Tropical – Centro de Veterinária e Zootecnia Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa. Portuga.
4. Amer, M.M.; Awaad, M.H.H.; El-Khateeb, M.; Abu-Elezz, N.; Sherein-Said, A.; Ghetas, M.M.; Kutkat, M.A. (2010). **Isolation and identification of Eimeria from field coccidiosis in chickens**. Journal of American Science. Vol. 6, n. 10, pp. 1107-1114.
5. Anders, P.; Jorgen, W.H. (1998). **Epidemiology, Diagnosis and Control of Poultry Parasites**. FAO Animal Health Manual. ISBN 92-5-104215-2.
6. Arguello, M.R.; Cordeiro del Campillo, M. (1996). **Ciclo biológico y epidemiologia**. Aula Veterinária Ovis. Vol. 45, pp. 19-29.
7. Ayana, D.; Mohammed. A.; Kelemwork, E.; Ashenafi, H.; Waktole, H. (2017). **Study on Poultry Coccidiosis in Different Production: Systems in and Around Bishoftu**. Oromia Region, Ethiopia Advances in Biological Research. Vol. 11, n. 4, pp. 190-197.
8. Bostvironnois, C.; Zadjian, C. (2011). **Coccidiose subcliniques en production de pullet de chair: Bilan et prospectives**. Neuvième Journée de Recherche Avicole, pp. 585 – 588.
9. Chapman, H.D. (2007). **Rotation programs for coccidiosis control**. International Poultry Production, n. 15, pp. 7-9.
10. Chapman, H.D. (2005). **Perspective for the control of coccidiosis in poultry by chemotherapy and vaccination**. IX international coccidiosis conference, September 19-23, 2005, Foz do Iguassu, Brazil, pp. 99-103.
11. Charlton, B.R. (2006). **Coccidiosis**. In: Avian disease manual. 5<sup>th</sup> ed. India: International book distributing company in association with American association of avian pathologist, USA. pp. 153-156.
12. Chookyinox, L.U.; Stella, U.; Sandy, O. (2009). **Coccidiosis. Backyard poultry information centre**. Php BB 2004-2009/backyard poultry.com Cocciforum (2007). [Http://www.cocciforum.org](http://www.cocciforum.org)COCCIDIA. *Eimeria* spp. Disponível em<[http://www.coccidia.icb.usp.br/disciplinas/BMP222/aulas/Aula\\_Pratica\\_1\\_Eimeria.pdf](http://www.coccidia.icb.usp.br/disciplinas/BMP222/aulas/Aula_Pratica_1_Eimeria.pdf)>. Acesso em: 10/08/2022.
13. Dinka, A.; Tolossa, Y.H. (2012). **Coccidiosis in Fayoumi Chlckens at Debre Zeit**

- Agricultural Research Center Poultry Farm.** Ethiopia Department of Pathology and Parasitology. College of Veterinary Medicine and Agriculture, European Journal of Applied Sciences ISSN 2079-2077.
14. Dos anjos, R.F. (2005). **Effect of the scavenging feed resource base on the occurrence of parasites in Sussundenga District, Mozambique.** M.Sc Thesis. Faculty of Veterinary Medicine, Eduardo Mondlane University, Maputo-Mozambique.
  15. Etuk, E.B.; Okoli, I.C; Uko, M.U. (2004). **Prevalence and management issues associated with poultry coccidiosis in Abak Agricultural Zone of Akwa Ibom State, Nigeria.** International Journal of Poultry Science. Vol. 3, n. 2, pp. 135-139.
  16. FAO. (2013). **Poultry Sector Mozambique.** FAO Animal Production and Health Livestock Country Reviews.
  17. Gharekhani, J.; Sadeghi-Dehkordi, Z.; Bahrami, M. (2014). **Prevalence of coccidiosis in broiler chicken farms in western Ira.** Journal of Veterinary Medicine, Article ID 980604, pp. 1-4.
  18. Gerhold Jr., R.W. (2014). **Overview of coccidiosis in poultry.** In The Merck Veterinary Manual. Ed. Aiello, S.E., Moses, M.A. [Consulta em: 10/08/2022. Disponível no URL:[http://www.merckvetmanual.com/mvm/poultry/coccidiosis/overviem\\_of\\_coccidiosis\\_in\\_poultry.html](http://www.merckvetmanual.com/mvm/poultry/coccidiosis/overviem_of_coccidiosis_in_poultry.html)
  19. Gussem, M.D.E. (2007). **Coccidiosis in poultry: review on diagnosis, control, prevention and interaction with overall gut health.** In: Proceedings of the 16<sup>th</sup> European Symposium on Poultry Nutrition. Strasbourg, France, pp. 253-261.
  20. Hafez, M.H. (2008). **Poultry Coccidiosis: Prevention and Control approaches.** Archive Geflugelk. ISSN0003-9098.
  21. IIAM. (2012). **Direção de Formação, Documentação e Transferência de Tecnologias.** Relatório Preliminar de Pesquisa Nº 1.
  22. INE. Instituto Nacional de Estatística (2009). **2ª Edição de Retrato da Província de Maputo 2009 (Delegação Provincial do Instituto Nacional de Estatística) Cidade da Matola-Moçambique.**
  23. Kahn, C.M. (2005). **The Merck Veterinary Manual.** 9<sup>th</sup> ed. White house station, N.J., U.S.A.: Merck e CO., INC, pp. 2201-2206.
  24. Kawazoe, U. (2000). **Coccidiose.** In: Berchieri júnior, A. Macari, M. Doenças das aves. Campinas: FACTA, pp. 391-405.
  25. Kawazoe, U. (2009). **Coccidiose.** In: Berchieri Jr, A., Silva, E.N., Di Fabio, J., Sesti, L., Zuanaze, M. A. F. (eds). Doenças das aves. 2. ed. Campinas: Editora Facta, pp. 837-855.
  26. Klein, U. (1996). **Sensitivity of Field Isolates of Avian Eimeria to Different Salinomycin Products.** Supplement World Poulyry Misset, Boetinchem, pp. 26-29.
  27. Klotz, C.; Gehre, F.; Lucius, R.; Pogonka, T. (2007). **Identification of Eimeria tenella**

- genes encoding for secretor proteins and evaluation of candidates by DNA immunization studies in chickens, Vaccine.** Vol. 25, n. 36, pp. 6625 – 6634.
28. Lanckriert, A.; Timbermont, L.; De Gussem, M.; Marien, M.; Vancraeynest, D.; Haesebrouk, F.; Ducatelle, R.; Van Immerseel, F. (2010). **Avian Pathology**, n. 39, pp. 63 – 68.
29. Lillehoj, E.P.; Yun, C.H.; Lillehoj, H.S. (2000). **Vaccines against the avian enteropathogens Eimeria, Cryptosporidium and Salmonella.** Animal Health Research Reviews. Vol. 1, n. 1, pp. 47 – 65.
30. Lima, J.D. (2004). **Coccidiose dos ruminantes dos ruminantes domésticos.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, n. 13, pp. 9-13.
31. Lobago, F.; Worku, N.; Wossene, A. (2005). **Study on coccidiosis in Kombolcha poultry farm, Ethiopia.** Tropical Animal Health and Production. Vol. 37, n. 3, pp. 245-251.
32. Lucheae, F.C.; Perin, M.; Aita, R.S.; Mottin, V.D.; Molento, S.G. (2007). **Prevalencia de especies de Eimeria em Frangos de criação industrial e alternativa.** Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science. Vol. 44, n. 2, pp. 81-86.
33. McDougald, L.R. (2003). **Coccidiosis.** In: Diseases of Poultry (eds). Y.M. SAIF, H. J. Barnes, J.R. Glisson, A. M. Fadly, L.R Mcdougald, And D. E. Swayne. Iowa State Press, Ames, Iowa, USA, pp. 974-991.
34. Marquardt, D.; Grieve, C.W.; Demaree, S.R.; Grieve, B.R. (2000). **Parasitology and vector biology.** 2<sup>nd</sup> ed. U.S.A.: San Diego, London, Boston, New York, Tokyo, Toronto, pp. 152.
35. McDonald, V.; Shirley, M.W. (2009). **Past and future: vaccination against Eimeria.** Parasitology, n. 136, pp. 1477-89.
36. Martins, G.F.; Bogado, A.L.G.; Guimaraes Jr., J. S.; Garcia, J.L. (2012). **Uso de vacinas no controle de coccidiose aviária.** Seminário: Ciências agrarias. Vol. 33, 3, pp. 1165-1176.
37. McMullin, J. (2001). **Paper presented at the European Coccidiosis discussion group organized by the Central Veterinary Laboratory.** E Weybride, and United Kingdom.
38. Nasim, R.A. (2016). **Occurrence of Eimeria species in native chickens of Shiraz, Southwestern Iran.** Global Journal of Poultry Farming and Vaccination. Vol. 4, n. 11, pp. 306-309.
39. Oljira, D.; Melaku, A.; Bogale, B. (2012). **Prevalence and risk factors of coccidiosis in poultry farms in and around ambo Town, western Ethiopia.** The American Eurasian Journal of Science Research. Vol. 7, n. 4, pp. 146-149.
40. Obasi, O.C.; Ifut, O.J.; Ekpo, E.B. (2001). **The response of naturally infected broiler to some brands of anticoccidials.** Proceedings of the 26<sup>th</sup> Annual Conference of Nigerian Society of Animal Production, n. 26, pp. 52-54.
41. Saif, Y.M. (2008). **Diseases of Poultry.** Saif, Y.M. (ed). Wiley-Blackwell, USA. ISBN-13: 1-

- 515-292-3348, pp. 883-904
42. Saif, Y. M., Barnes, H. J., Glisson, J. R. Fadly, A.M.; McDougald, L.R.; Swayne, D.E. (2003). **Diseases of poultry**. 11<sup>th</sup> edition, USA: Iowa State Press.
  43. Soulsby, E.J.L. (1992). **Parasitology Y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos**. Nueva Editorial Interamericana. México. 7<sup>a</sup> Edição, pp. 11.
  44. Shirley, M.W.; Smith, A.L.; Tomley, F.M. (2005). **The biology of avian *Eimeria* with an emphasis on their control by vaccination**. Adv Parasitology n. 60, pp. 285-330.
  45. Shirley, M.W.; Smith, A.L.; Blake, D.P. (2007). **Challenges in the successful control of the avian coccidiosis**. Vaccine. Vol. 25, n. 30, pp. 5540-5547.
  46. Spinoza, H.S.; Górnaiak, S.L.; Bernardi, M.M. (2011). **Farmacologia aplicada a Medicina Veterinária**. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 5<sup>a</sup> Edição, pp. 532 – 54.
  47. Taylor, M.A.; Coop, R.L. (2007). **Veterinary Parasitology**. 3<sup>rd</sup> ed. Blackwell Publishing, pp 224-234.
  48. Tomasi, P.H.D. (2006). **Avaliação de vacinas contra coccidiose e utilização de peptídeos em frangos de corte**. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná- Curitiba, Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/TesePedroFinal.pdf>
  49. Thebo, P.; Uggla, A.; Hooshmand-Rad, P. (1998). **Identification of seven *Eimeria* species in Swedish domestic fowl**. Avian Pathology. Vol. 27, n. 6, pp. 613-617.
  50. Thrustfield, M. (2007). **Veterinary Epidemiology**. Black well Publishing. Oxford. 3<sup>a</sup> ed., pp. 273-310.
  51. Trees, A.J. (2002). **Parasitic diseases, coccidiosis**. In: Poultry Diseases. 5<sup>th</sup> ed. WB Saunders, London, UK, pp. 404-420
  52. Urquhart, G.M.; Armour, J.; Duncan, J.L.; Dunn, A.M.; Jennings, F.W. (1998). **Veterinary Parasitology**. 2<sup>nd</sup> ed. Scotland: Blackwell Science Ltd.
  53. Ueno, H.; Gonçalves, P.C. (1998). **Manual para o Diagnóstico da Helmitoses de Ruminantes**. 4<sup>a</sup> edição, Japan International Cooperation Agency, pp. 149.
  54. Williams, R.B. (2005). **Intercurrent coccidiosis and necrotic enteritis of chickens: rational, integrated disease management by maintenance of gut integrity**. Avian Pathological, n. 34, pp. 159-180.
  55. Williams, R.B. (2002). **Anticoccidial vaccines for broiler chickens: pathways to success**. Avian Pathological, n. 31, pp. 317-353.
  56. Zajac, A.M.; Conboy, G.A.; Greiner, E.C.; Smith, S.A.; Snowden, K.F. (2012). **Fecal Examination for the Diagnosis of Parasitism**. Veterinary Clinical Parasitology. 8<sup>th</sup> ed, Wiley-Blackwell, pp. 3-14.

## 8.ANEXOS

### **Anexo I: Protocolo para realização da técnica de flutuação pelo método de Willis (Ueno e Gonçalves, 1998)**

#### **Procedimento**

1. Misturar, usando uma espátula, de 2-5 g de fezes com aproximadamente 20 ml de solução saturada de cloreto de sódio em copo;
2. Filtrar a suspensão de fezes para outro copo;
3. Colocar a solução de fezes num copo de Borel e completar o volume com solução saturada de cloreto de sódio, até formar um menisco nas bordas do copo;
4. Colocar uma lamela sobre o copo de Borel, para que entre em contacto com o menisco convexo e deixar durante 15 minutos;
5. Remover a lamela, invertendo a sua posição, rapidamente, para evitar a quebra dos ovos. Findo o tempo levar a observar ao microscópio na objetiva de 10x.



**Anexo II: Protocolo para realização de contagem de ovos por gramas de fezes pelo método de MacMaster (Ueno e Gonçalves, 1998).**

**Procedimento**

1. Pesar 2 g de fezes;
2. Com uma espátula, macerar e homogeneizar as fezes em 28 ml de solução saturada de cloreto de sódio;
3. Filtrar a solução com coador de malha fina para outro copo;
4. Com ajuda de uma pipeta, retirar uma pequena quantidade da amostra e preencher as duas áreas da câmara de MacMaster e deixar a câmara em repouso por 5 minutos, para realização da contagem;
5. Findo o tempo realizar a contagem de ooquistos em Microscópio óptico utilizando a objetiva 10X;
6. Para determinação do número de ooquistos por grama de fezes (OPG), multiplicar a soma dos ovos encontrados em ambos compartimentos por 100.

**Equação:**  $OPG = Y \times 100$

**Onde:**

- Y – Corresponde ao número total de ovos observados.