

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

MORFOMETRIA DE OOCISTOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO
Eimeria **DE BEZERRAS DE DUAS FAIXAS ETÁRIAS E DE ACORDO**
COM A INTENSIDADE DE INFECÇÃO

LETÍCIA GABRIELA POBLETE VIDAL

2013



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

DISSERTAÇÃO

**MORFOMETRIA DE OOCISTOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO
Eimeria DE BEZERRAS DE DUAS FAIXAS ETÁRIAS E DE ACORDO
COM A INTENSIDADE DE INFECÇÃO**

LETÍCIA GABRIELA POBLETE VIDAL

Sob a orientação da Professora
Rita de Cássia Alves Alcantara de Menezes

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2013

636.208969

6

V648m

T

Vidal, Letícia Gabriela Poblete,
1986-

Morfometria de oocistos de espécies do gênero Eimeria de bezerras de duas faixas etárias e de acordo com a intensidade de infecção / Letícia Gabriela Poblete Vidal - 2013.

37 f.: il.

Orientador: Rita de Cássia Alves Alcântara de Menezes.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2013.

Bibliografia: f. 25-29.

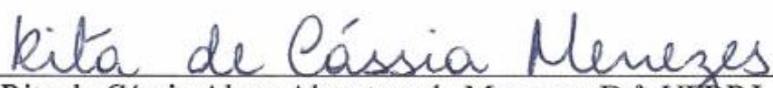
1. Bezerra - Parasito - Teses. 2. Bezerra - Infecções - Teses. 3. Eimeria - Teses. 4. Fezes - Exame - Teses. 5. Parasitologia veterinária - Teses. I. Menezes, Rita de Cássia Alves Alcântara de, 1962-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

LETÍCIA GABRIELA POBLETE VIDAL

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção de grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

DISSERTAÇÃO APROVADA em 28/02/2013



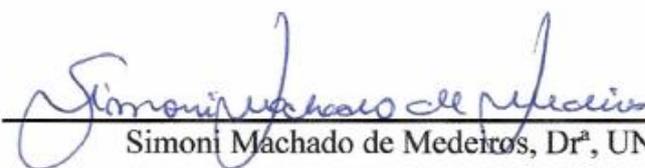
Rita de Cássia Alves Alcantara de Menezes, Dr^a, UFRRJ
(Orientadora)



Izabella Cabral Hassum, Dr^a, Embrapa Meio-Norte



Sergian Vianna Cardozo, Dr., UNIGRANRIO



Simoni Machado de Medeiros, Dr^a, UNIABEU

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Maria Imaculada Poblete
Vidal e Eduardo Antônio Poblete
Sepúlveda, que me presentaram com a
vida e que sempre estão ao meu lado nas
minhas escolhas.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as minhas conquistas e pela sabedoria dada a mim, para saber ter humildade e discernimento no momento das minhas escolhas, para que elas sejam proveitosas e assim poder aprender muito com alguns obstáculos e pensar sempre em fazer o melhor.

A professora Rita de Cássia Alves Alcantara de Menezes pela oportunidade e confiança que me foram dadas e por todo o ensinamento durante os anos de trabalho no laboratório.

A Thais Fagundes, colega de laboratório, pela convivência e cumplicidade no decorrer do curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias. E ao servidor técnico-administrativo Ivan Serafim pelo companheirismo e apoio imprescindível para a realização das coletas.

Aos professores do curso pela contribuição que me deram durante esta trajetória, me acrescentando conhecimento.

Aos meus amigos do curso de pós – graduação Bianca Soares, Maristela Peckle e Fabiano Paschoal por terem sido grandes companheiros.

A todas as pessoas que realmente gostam de mim e desejam que eu consiga realizar todos os meus sonhos e realizações profissionais e pessoais, pessoas queridas como Luiz Henrique Correa companheiro inseparável, meu irmão Eduardo Henrique Poblete Vidal e aos meus queridos e verdadeiros amigos que sempre estão ao meu lado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Enfim, a todos que direta e indiretamente contribuíram para conclusão deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

VIDAL, Letícia Gabriela Poblete. **Morfometria de oocistos de espécies do gênero *Eimeria* de bezerras de duas faixas etárias e de acordo com a intensidade de infecção.** 2013. 29f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

A presença de oocistos do gênero *Eimeria* nas fezes de bovinos é muito frequente e afeta principalmente os animais jovens. Em geral a infecção é multiespecífica e a ocorrência das espécies varia de acordo com a idade dos animais hospedeiros. Este trabalho teve como objetivos avaliar a variação média no tamanho dos oocistos de *Eimeria*, segundo as categorias das variáveis: faixa etária das bezerras (0 a 100 e 101 a 180 dias de idade) e intensidade de infecção. E caracterizar através de duas técnicas de morfometria as espécies do gênero *Eimeria*, no Município de Piraí, RJ. No período de agosto de 2010 a junho de 2011 foram coletadas, semanalmente, amostras fecais direto da ampola retal e acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados, e mantidas sob refrigeração até o momento de serem examinadas. No final do período de estudo foram obtidas 1512 amostras de fezes. Uma parte das fezes foi processada seguindo a técnica de centrífugo-flutuação em solução saturada de açúcar para a contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG). À outra parte foi acrescentada solução de dicromato de potássio a 2,5% na proporção de (1:2) para que ocorresse a esporulação em temperatura ambiente para posterior identificação percentual das espécies do gênero *Eimeria*. Com base nas características morfológicas e morfométricas dos oocistos esporulados identificaram-se nove espécies de *Eimeria*: *E. ellipsoidalis* (39,7%), *E. alabamensis* (18,4%), *E. bovis* (12,1%), *E. zuernii* (11,4%), *E. subspherica* (7,3%), *E. cylindrica* (6,0%), *E. auburnensis* (3,6%), *E. wyomingensis* (1,0%) e *E. canadensis* (0,6%). No presente estudo as bezerras de até 100 dias apresentaram maior intensidade de infecção (%) e, nas duas faixas etárias houve menos amostras classificadas como de alta intensidade. Após a análise estatística pode-se observar que não houve correlação ($p>0,05$) entre as técnicas de medidas aplicadas, mostrando que uma independe da outra. Com base na análise dos oocistos da espécie *E. ellipsoidalis*, pode-se observar que a idade dos animais influenciou na forma dos oocistos em ambos os recursos de medida. Entretanto, não houve diferença significativa ($p>0,05$) na morfometria dos oocistos de acordo com a intensidade de infecção.

Palavras-chave: bovinos, estudo morfométrico, prevalência de coccídio.

ABSTRACT

VIDAL, Letícia Gabriela Poblete. **Morphometry of oocysts of the genus *Eimeria* of calves from two age groups and according the intensity of infection** 2013. 29p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

The presence of eimerian oocysts in the feces of cattle is very frequent and affects especially young animals. In general the infection is multispecific and the occurrence varies according the age of the host animals. The aim of this study was evaluate the average variation in the size of oocysts of *Eimeria*, according to the categories of variables: age of the calves (0 to 100 and 101 to 180 days of age) and intensity of infection. And through two techniques to characterize the morphometry of the genus *Eimeria*, in the municipality of Pirai, RJ. From August 2010 to June 2011 weekly were collected fresh fecal samples and placed in indented plastic bags under refrigeration until processing. At the end of the study were collected 1512 fecal samples. A portion of feces was processed following the technique of centrifugal flotation in sugar saturated solution for counting oocyst per grams of feces (OPG). Another portion was added solution of potassium dichromate at 2.5% in the proportion (1:2) to sporulation that occurred at room temperature for identification percentage of the genus *Eimeria*. Based on morphological and morphometric characteristics of oocysts were identified nine species of *Eimeria*: *E. ellipsoidalis* (39,7%), *E. alabamensis* (18,4%), *E. bovis* (12,1%), *E. zuernii* (11,4%), *E. subspherica* (7,3%), *E. cylindrica* (6,0%), *E. auburnensis* (3,6%), *E. wyomingensis* (1,0%) and *E. canadensis* (0,6%). In the present study, calves up to 100 days showed higher infection intensity (%) and in both age groups there was fewer samples classified as high intensity. After statistical analysis can be seen there was no correlation ($p > 0.05$) among the technical measures, showing that one is independent from other. Based on the analysis of the oocysts of the species *E. ellipsoidalis*, can observe that the age of the animals influence the shape of oocysts in both measurement resources. However, no significant difference ($p > 0.05$) in the morphometry of oocysts according to the intensity of infection.

Key-words: bovine, morphometric analysis, coccidial prevalence

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1	Espécies do Gênero <i>Eimeria</i> que Infectam Bovinos	2
2.2	Características Morfológicas e Morfométricas das Espécies de <i>Eimeria</i> em Bovinos	2
2.3	Epidemiologia das Infecções por Espécies de <i>Eimeria</i> em Bovinos	4
2.3.1	Faixa etária e intensidade de infecção	6
2.4	Importância Econômica	8
3	MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1	Localização e Instalações do Criatório	10
3.2	Animais do Estudo	11
3.2.1	Manejo das bezerras até 100 dias	11
3.2.2	Manejo das bezerras de 101 até 180 dias	12
3.3	Material fecal e Exames Laboratoriais	13
3.3.1	Morfometria dos oocistos	14
3.4	Análise Estatística dos Dados	14
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4.1	Espécies do Gênero <i>Eimeria</i> Identificadas	15
4.2	Faixa Etária e Intensidade de Infecção	16
4.3	Morfometria por Meio de Dois Métodos de Medida	17
5	CONCLUSÕES	24
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1 INTRODUÇÃO

No Brasil o uso da biotecnologia na reprodução de bovinos aumentou bastante nas últimas décadas, assim como o emprego de práticas zootécnicas no sentido de intensificar a criação de animais com aptidão leiteira. No entanto, muitas vezes o criador não verifica os prejuízos causados pelas parasitoses, em especial pela infecção por espécies do gênero *Eimeria*.

A presença de oocistos do gênero *Eimeria* nas fezes de bovinos é muito frequente, mas nem sempre está associada à doença clínica. A ocorrência da infecção é uma condição comum a rebanhos principalmente confinados ou criações que não adotam medidas sanitárias ou de manejo adequadas, afetando principalmente os animais jovens.

Na literatura mundial há poucos relatos acerca da morfometria do coccídio relacionada à intensidade de infecção, traduzida pela quantidade de oocistos por grama de fezes (OoPG), em bezerras. Tal fato assume relevância, ao considerar que os oocistos são utilizados para o diagnóstico e avaliação do potencial patogênico das espécies envolvidas na infecção.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos identificar as espécies do gênero *Eimeria* que infectam bezerras e avaliar a morfometria dos oocistos esporulados de acordo com as variáveis, faixa etária (de 0 a 100 e de 101 a 180 dias de idade) e intensidade de infecção. Visou também caracterizar morfológicamente as espécies de *Eimeria* de bezerras e correlacionar a morfometria obtida por meio de ocular micrométrica com a do sistema de digitalização de imagem.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Espécies do Gênero *Eimeria* que Infectam Bovinos

Coccídios do gênero *Eimeria* Schneider, 1985 nos ruminantes, infectam preferencialmente células intestinais (REBOUÇAS et al., 1994). Estes animais são parasitados por um grande número de espécies de *Eimeria* que apresentam acentuada especificidade em relação ao seu hospedeiro. Em geral a infecção é multiespecífica (FIGUEIREDO et al., 1984; REBOUÇAS et al., 1994; MENEZES; LOPES, 1995), e a ocorrência das espécies varia de acordo com a idade dos animais hospedeiros (MENEZES; LOPES, 1995).

A identificação das espécies de *Eimeria* é feita com base nas características morfológicas do oocisto, biológicas (DAUGSCHIES; NAJDROWSKI, 2005) e moleculares. As técnicas de biologia molecular têm permitido não só o diagnóstico, mas também o estudo sobre a variabilidade genética de patógenos com base em pequenas quantidades de oocistos através de marcadores moleculares (SCHNITZLER et al, 1998; COSTA et al, 2001). Segundo Levine (1985) são treze as espécies de *Eimeria* que infectam bovinos:

E. alabamensis Christenses, 1941

E. auburnensis Christenses e Poeter, 1939

E. bovis (Züblin, 1908) Fiebiger, 1912

E. brasiliensis Torres e Ramos, 1939

E. bukidnonensis Tubangui, 1931

E. canadensis Bruce, 1921

E. cylindrica Wilson, 1931

E. ellipsoidalis Becker e Frye, 1929

E. illinoisensis Levine e Ivens, 1967

E. pellita Supperer, 1952

E. subspherica Christenses, 1941

E. wyomingensis Huizinga e Winger, 1942

E. zuernii (Rivolta, 1878) Martin, 1909

Em bezerras a parasitose se caracteriza por diarreia, desidratação, anorexia, apatia e perda de peso, sendo que a forma mais severa se manifesta por diarreia sanguinolenta intensa, enfraquecimento rápido e alta taxa de mortalidade (DAUGSCHIES; NAJDROWSKI, 2005). E a infecção em bovinos é particularmente um problema de confinamento e mais comum nos recintos dos animais que no pasto (ABEBE et al. 2008).

2.2 Características Morfológicas e Morfométricas das Espécies de *Eimeria* em Bovinos

A infecção por espécies do gênero *Eimeria* pode ser diagnosticada a partir da observação dos oocistos nas fezes dos animais, sendo a descrição das espécies baseada na morfologia dessas formas exógenas (FAYER 1980). No Quadro 1 estão apresentadas algumas características morfológicas descritas por Levine (1985).

No entanto, vários fatores podem alterar a morfologia dos oocistos dentro de uma mesma espécie, assim como, espécies distintas podem possuir estádios evolutivos com morfologia semelhante (TODD; ERNST, 1977).

Contudo, o tamanho do oocisto não é constante conforme citado por Long e Joyer (1984), podendo variar de acordo com o período de patência do protozoário, sendo

Quadro 1 - Características morfológicas das espécies de *Eimeria* que infectam bovinos, de acordo com Levine (1985).

Espécies	Diâmetros (μm)		Forma	Outras Características
	maior	menor		
<i>E. alabamensis</i>	13-25	11-17	Ovoide ou piriforme	Parede espessa, sem micrópila
<i>E. auburnensis</i>	32-46	19-30	Ovoide	Parede dupla, com micrópila e grânulo polar
<i>E. bovis</i>	23-24	17-23	Ovoide	Parede dupla, com micrópila
<i>E. brasiliensis</i>	31-49	21-33	Elipsoidal ou ligeiramente ovoide	Parede dupla com uma superfície rugosa, micrópila nítida
<i>E. bukidnonensis</i>	34-64	26-41	Piriforme	Parede radialmente estriada, com micrópila
<i>E. canadensis</i>	28-39	20-29	Ovoide ou elipsoidal	Parede dupla, micrópila imperceptível
<i>E. cylindrica</i>	16-34	12-19	Elipsoidal	Fina de parede única, sem micrópila
<i>E. ellipsoidalis</i>	12-32	10-29	Elipsoidal a ligeiramente ovoide	Parede fina
<i>E. illinoisensis</i>	24-30	19-23	Elipsoidal ou ligeiramente ovoide	Parede lisa, sem micrópila
<i>E. pellita</i>	32-42	22-27	Ovoide	Parede espessa e áspera, com micrópila e grânulo polar
<i>E. subspherica</i>	9-14	8-13	Esférica para subsférica	Parede delgada, sem micrópila
<i>E. wyomingensis</i>	36-46	26-32	Ovoide	Parede lisa com micrópila ampla
<i>E. zuernii</i>	12-29	10-21	Subsférica, ovoide ou elipsoidal	Parede única, sem micrópila

influenciado pela idade e imunidade dos hospedeiros e a intensidade parasitária alta reduz seu tamanho (FAYER, 1980). Diferenças na forma dos oocistos podem ser resultantes de infecções maciças e também da idade do hospedeiro (LONG; JOYNER, 1984).

Uma característica morfológica importante no auxílio da diferenciação das espécies do gênero *Eimeria* é o índice morfométrico, que consiste na divisão do diâmetro maior (DM) pelo diâmetro menor (dm). O tamanho do oocisto pode ser variável, mas seu índice morfométrico (IM) demonstra uma tendência retilínea que reflete a forma do oocisto, sendo mais precisa para comparação entre espécies do que a média das dimensões (NORTON; JOYNER, 1981) como também, na variação intraespecífica (LONG; JOYNER, 1984).

A morfologia dos oocistos tende a apresentar aspectos que podem ser descritos de maneira qualitativa e quantitativa, com grande variação e combinação de características específicas (LONG; JOYNER, 1984; CARVALHO et al., 2004; HASSUM et al., 2007).

2.3 Epidemiologia das Infecções por Espécies de *Eimeria* em Bovinos

A prevalência da infecção por *Eimeria* em bovinos geralmente é alta e pode atingir 100% em bezerros (CORNELISSEN et al., 1995). Quase todos os bovinos são infectados com coccídios, mas apenas um número limitado sofre de coccidiose. No Quadro 2 estão apresentados os percentuais de bovinos de diferentes idades infectados pelas espécies do gênero *Eimeria*, com base em resultados de vários estudos.

De acordo com Fayer (1980) os fatores de diáspora são fundamentais para o estudo da epidemiologia dos coccídios em termos de sobrevivência dos cistos nos tecidos e dos oocistos, uma vez que garantem seu desenvolvimento, sobrevivência, dispersão e continuidade. Fayer (1980) assinalou ainda que o aparecimento da infecção, na maioria das vezes, acontece quando animais são mantidos confinados, facilitando o acúmulo de grande quantidade de oocisto juntamente com hospedeiros susceptíveis. Comedouros e bebedouros contaminados por fezes são importantes fatores para a disseminação da infecção (REHMAN et al. 2011).

No entanto, o número de oocistos produzidos por um animal infectado, pode ser afetado também por outros fatores. Entre estes podem ser citados: potencial inerente a cada espécie, imunidade ou resistência desenvolvida pelo hospedeiro, infecção por outros coccídios no mesmo hospedeiro, nutrição, fatores de estresse do hospedeiro, uso de coccidiostáticos, além das condições que afetam a esporulação e sobrevivência dos oocistos, tais como, umidade, temperatura, fatores físicos e químicos, assim como, a dispersão física e biológica destes (FAYER, 1980).

Quadro 2 - Percentual de bovinos de diferentes idades infectados por espécies do gênero *Eimeria*, de acordo com alguns estudos pelo mundo

Espécies de <i>Eimeria</i>	Autores					
	Ernst et al. (1984)	Kennedy et al. (1987)	Cornelissen et al. (1995)	Klockiewicz et al. (2007)	Rehman et al. (2011)	Almeida et al. (2011)
<i>E. alabamensis</i>	15,0	3,1	15,0	16,1	24,14	0,85
<i>E. auburnensis</i>	22,5	20,6	20,7	30,3	---	3,42
<i>E. bovis</i>	72,5	31,3	27,8	58,6	52,36	24,79
<i>E. brasiliensis</i>	2,0	---	0,3	0,5	---	2,56
<i>E. bukidnonensis</i>	---	---	0,3	0,9	---	1,71
<i>E. canadensis</i>	10,5	31,3	10,5	4,3	34,83	8,55
<i>E. cylindrica</i>	9,3	4,6	9,0	19,9	8,62	3,42
<i>E. ellipsoidalis</i>	48,5	5,3	22,5	47,3	29,31	5,99
<i>E. illinoisensis</i>	8,5	10,7	---	---	---	---
<i>E. pellita</i>	---	---	1,2	3,3	---	---
<i>E. subspherica</i>	3,0	---	4,2	9,5	---	0,85
<i>E. wyomingensis</i>	---	3,1	1,2	0,7	---	---
<i>E. zuernii</i>	14,0	20,6	11,4	42,1	48,27	6,83
<i>Eimeria</i> sp.	8,5	6,9	---	---	---	---

2.3.1 Faixa etária e intensidade de infecção

Muitos são os fatores que interferem na eliminação de oocisto pelos hospedeiros. Fayer (1980) destaca o confinamento, o estresse e o efeito populacional, que apresentam uma relação proporcional ao número de oocistos produzidos. Sánchez et al. (2008) observaram que a maior prevalência de infecção e aumento do número de oocistos eliminados (OoPG) tendem a aparecer nos períodos com melhores condições ambientais para a esporulação, sobrevivência e dispersão dos oocistos, coincidindo com um elevado número de animais no piquete. Hayat et al. (1994) examinaram amostras de fezes de bovinos e bubalinos de quatro grupos de idade. A incidência foi maior em animais com menos de seis meses e menor nos animais mais velhos. Ainda segundo estes autores a prevalência da infecção foi maior no outono e primavera e menor no verão e inverno e da mesma forma mais alta em animais criados a pasto do que naqueles estabulados e alimentados no cocho. Ainda segundo estes autores, sanidade, clima e manejo são possíveis fatores que influenciam a infecção por coccídios.

A infecção ocorre principalmente em bezerros de três semanas a seis meses de idade, nos quais refletem principalmente, o aumento das taxas de morbidade e de mortalidade e, na baixa conversão alimentar nos animais infectados (REHMAN et al., 2011). Facury Filho (1992) observou aumento do número de oocistos eliminados nas fezes dos bezerros até em torno de quatro meses de idade, quando ocorre declínio das contagens no OoPG e posterior estabilização. Já Figueiredo (1984) observou gradativa diminuição da prevalência e do número médio de oocistos eliminado nas fezes com o aumento da idade dos hospedeiros, devido principalmente ao período pré-patente e patente das espécies de *Eimeria*.

No Quadro 3 estão expostos resultados de vários autores, relativos a infecção por espécies do gênero *Eimeria* em bezerros de até seis meses de idade.

A intensidade de infecção é maior na estação chuvosa em relação à seca (REHMAN et al., 2011). E os animais alimentados diretamente no solo ou pastagem têm mais chances de ingestão de coccídios em comparação com animais alimentados em calhas de alimentação como relatado por Abebe et al. (2008). O sistema de produção é um fator que influi diretamente sobre as características da coccidiose. Em condições de exploração intensiva, onde existe alta densidade populacional, a transmissão da doença ocorre com maior facilidade e há disponibilidade de grande quantidade de oocistos (LIMA, 2004).

O estudo conduzido por Bahirathan et al. (1995) no Sri Lanka evidenciou que a coccidiose é comum em fazendas com sistema intensivo de manejo e que *E. bareillyi* foi a espécie prevalecente e mais numerosa nos bezerros dos 15 aos 120 dias de idade. Na maior parte do ano, a região do estudo permaneceu quente e úmida e, portanto o estresse causado pela desmama precoce e pelas condições climáticas poderia ter favorecido o desenvolvimento de coccidiose clínica naqueles bezerros. O confinamento dos bezerros é outro fator que deve ser considerado. Os animais adultos eliminam oocistos e são fontes potenciais de infecção para os bezerros recém-nascidos que podem se infectar poucos dias após o nascimento enquanto estão com as mães.

Quadro 3 – Percentual das espécies de *Eimeria* em bezerros até seis meses de idade, de acordo com alguns estudos pelo mundo.

Espécies de <i>Eimeria</i>	Autores					
	Kasim et al. (1985)	Rodríguez-Vivas et al. (1996)	Cicek et al. (2007)	Sanchés et al. (2008)	Koutny et al. (2011)	Bruhn et al. (2011)
<i>E. alabamensis</i>	---	10,0	2,35	---	11,56	2,4
<i>E. auburnensis</i>	10,0	16,2	21,18	19,0	13,41	2,4
<i>E. bovis</i>	24,3	26,4	37,65	24,0	27,74	23,2
<i>E. brasiliensis</i>	---	---	11,76	0,5	---	2
<i>E. bukidnonensis</i>	---	1,9	2,35	---	0,59	1,9
<i>E. canadensis</i>	---	12,1	12,94	4,0	5,74	3,5
<i>E. cylindrica</i>	10,0	6,1	2,35	---	7,00	14,1
<i>E. ellipsoidalis</i>	15,7	14,7	2,35	38,0	14,38	20,3
<i>E. illinoisensis</i>	---	---	1,18	---	---	---
<i>E. pellita</i>	---	---	---	---	0,50	2,1
<i>E. subspherica</i>	4,3	2,0	---	3,0	5,05	5,4
<i>E. wyomingensis</i>	8,6	---	---	---	0,16	---
<i>E. zuernii</i>	27,1	10,6	4,71	11,0	13,86	22,6
<i>Isospora</i> spp.	---	---	1,18	---	---	---

Os bezerros são mais sensíveis à infecção e também à doença, devido a grande diversidade de fatores predisponentes aos quais estão expostos, como possíveis falhas na ingestão do colostro, dificuldades de adaptação ao ambiente de confinamento, além da falta de uma resposta imune específica para proteção contra a doença (SÁNCHEZ et al., 2008). Hasbullah et al. (1990) observaram que o desenvolvimento dos sinais clínicos dependia do equilíbrio entre o desenvolvimento da imunidade do hospedeiro e a velocidade de infecção. E que o número de oocistos eliminados pelas fezes dos animais infectados para o ambiente dependia da resistência desenvolvida pelo hospedeiro, da lotação animal e do estresse causado pelo clima e pela desmama precoce. No entanto, Lucas et al. (2007) não observaram efeito do tratamento de desmame ou do sexo, na composição de espécies infectando bezerros até 240 dias de idade.

Os animais jovens expostos aos coccídios pela primeira vez são muito mais sensíveis a uma infecção aguda e a doença clínica do que os animais adultos (BLOOD; RADOSTITS, 1991), pois somente após a infecção, desenvolve-se uma imunidade espécie-específica para cada espécie de coccídio. Os bezerros eliminam grandes quantidades de oocistos a partir dos 20 a 35 dias de idade (CORNELISSEN et al, 1995, SÁNCHEZ et al., 2008). Tal fato indica que a imunidade pode desempenhar um papel importante na proteção dos animais mais velhos (MATJILA; PENZHORN, 2002).

2.4 Importância econômica

A eimeriose dos bovinos é incriminada como causa de enormes prejuízos econômicos (REBOUÇAS et al., 1994). Os animais severamente afetados que se recuperam da coccidiose raramente se tornam rentáveis por que as lesões podem provocar alterações permanentes que interferem nas atividades digestivas, com o crescimento, com absorção de alimentos e com a taxa de conversão de alimentos (LIMA, 2004).

A grande maioria dos animais confinados possui a forma subclínica da doença, resultando em consideráveis perdas econômicas, difíceis de serem quantificadas. Os animais infectados parecem normais, mas a conversão alimentar é reduzida afetando diretamente o desempenho de crescimento e resultando no aumento da suscetibilidade a outras doenças. (MATJILA; PENZHORN, 2002). Von Samson-Himmelstjerna et al. (2006) em estudo conduzido na Alemanha, no período compreendido entre a primavera e o começo do verão, observaram em bezerros com até um ano de idade que a média de peso diminuiu de 194,9 para 189,3 kg. E Hooshmand-Rad et al. (1994) relataram que os bezerros inoculados com grandes doses (10-400 milhões de oocistos) de *E. alabamensis* tinha um peso reduzido até 71 dias após a infecção.

O impacto da eimeriose na indústria pecuária é mais quantificado na avicultura onde grande parte dos custos está relacionada à profilaxia e tratamento, além de perdas com o aumento de mortalidade e queda da produção (NOVAES, 2009).

Em 1999, Willians relatou que no Reino Unido as infecções por espécies de *Eimeria* provocam um prejuízo na indústria granjeira de aproximadamente £38 milhões por ano, um resultado da queda de produção e de custos com tratamentos profiláticos. Calcula-se que os gastos mundiais relacionados ao controle desta doença variam de 800 milhões (ALLEN; FETTERER, 2002) a 3 bilhões de dólares por ano (SHIRLEY et al., 2004).

As perdas econômicas devido à mortalidade, o mau desempenho, custo do tratamento e prevenção pode ser considerável. Os animais que sobrevivem a coccidiose

grave mostram crescimento retardado e suspeita de que nunca se tornariam rentáveis (FOX, 1985).

Em 1980 Fitzgerald relatou que os custos anuais em todo o mundo devido à coccidiose em bovinos e búfalos aproximaram-se a 731 milhões de dólares. Já em 2002, Matjila e Penzhorn estimaram que os montantes dos lucros perdidos foram de US \$ 400 milhões / ano.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e Instalações do Criatório

Este estudo foi conduzido em uma propriedade que visava à produção leiteira, localizada no Município de Pirai, no Estado do Rio de Janeiro (Figura 1). Pirai está situado na microrregião do Vale do Paraíba Fluminense na mesorregião do Sul Fluminense (Figura 2), a uma latitude 22°37'45" sul e a uma longitude 43°53'53" oeste, estando a uma altitude de 387 metros (WIKIPEDIA, 2013).

As instalações do criatório consistiam em abrigos individuais em piquetes para as fêmeas até 100 dias de idade, e as bezerras de 101 a 180 dias eram acomodadas em piquetes com espaço coberto (bezerreiro coletivo) onde havia cochos de alvenaria.



Figura 1 - Vista aérea da fazenda onde o estudo foi conduzido, com destaque para as instalações e pastos. Fonte: Fazenda Santa Rosa (2013).

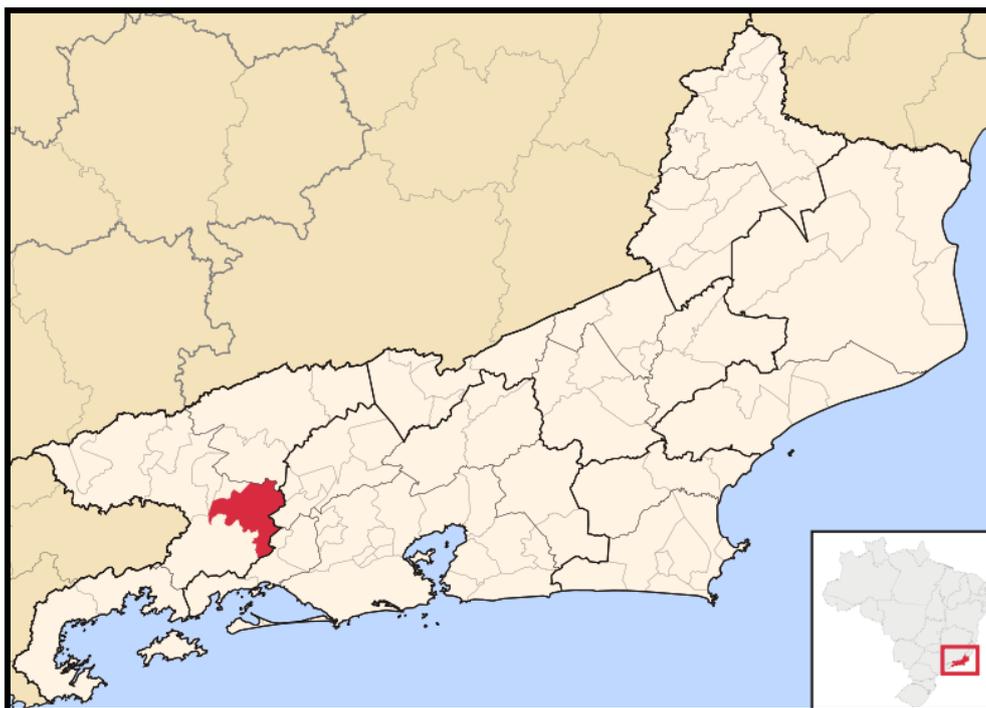


Figura 2 - Mapa do Estado do Rio de Janeiro, com a localização do Município de Pirai em destaque. Fonte: WIKIPEDIA (2013).

3.2 Animais do Estudo

Foram utilizadas bezerras mestiças, com graus variados de sangue da raça holandesa preta e branca, de duas faixas etárias (do nascimento até 100 dias e de 101 a 180 dias de idade) e nascidas no período de 02 de agosto de 2010 a 01 de janeiro de 2011. De modo que havia a introdução gradual de animais no estudo, assim como após 180 dias de vida, deixavam de participar da pesquisa, o que conferiu uma flutuação no número de animais por faixa etária. Os animais eram nascidos e criados no estabelecimento, e a partir dos registros da fazenda foi obtida a data de nascimento de todas as bezerras. As coletas foram encerradas em 13 de junho de 2011 devido à venda do rebanho e no período participaram do estudo um total de 57 bezerras.

3.2.1 Manejo das bezerras até 100 dias

Na propriedade havia um banco de colostro de boa qualidade e congelado, selecionado após o teste usando colostrômetro. Assim as bezerras após o nascimento eram separadas imediatamente de suas mães, e em mamadeira, o tratador fornecia seis litros de tal colostro. Em seguida eram levadas para os abrigos individuais onde eram mantidas até os 100 dias de idade (Figura 3). Cada abrigo tinha dois baldes: um para o fornecimento de ração (desde o nascimento) e outro para leite ou água. Esta oferta era realizada duas vezes ao dia, uma vez pela manhã e outra à tarde, no mesmo momento da higienização dos baldes. Inicialmente ingeriam seis litros de leite por dia e a cada mês eram diminuídos dois litros, de modo que quando a desmama era realizada aos 90 dias de idade, cada bezerra ingeria dois litros de leite.



Figura 3 - Vista dos abrigos individuais para as fêmeas até 100 dias, criadas na fazenda em Piraí, RJ. Fonte: Fazenda Santa Rosa (2013).

3.2.2 Manejo das bezerras de 101 até 180 dias

Com 101 dias os animais eram transferidos dos abrigos individuais para piquetes onde eram alimentados com ração, sal e possuíam uma área verde para pastar (Figura 4).

Nos piquetes os bebedouros e comedouros dos animais eram limpos diariamente, entretanto, era comum encontrá-los contaminados com as fezes dos animais.

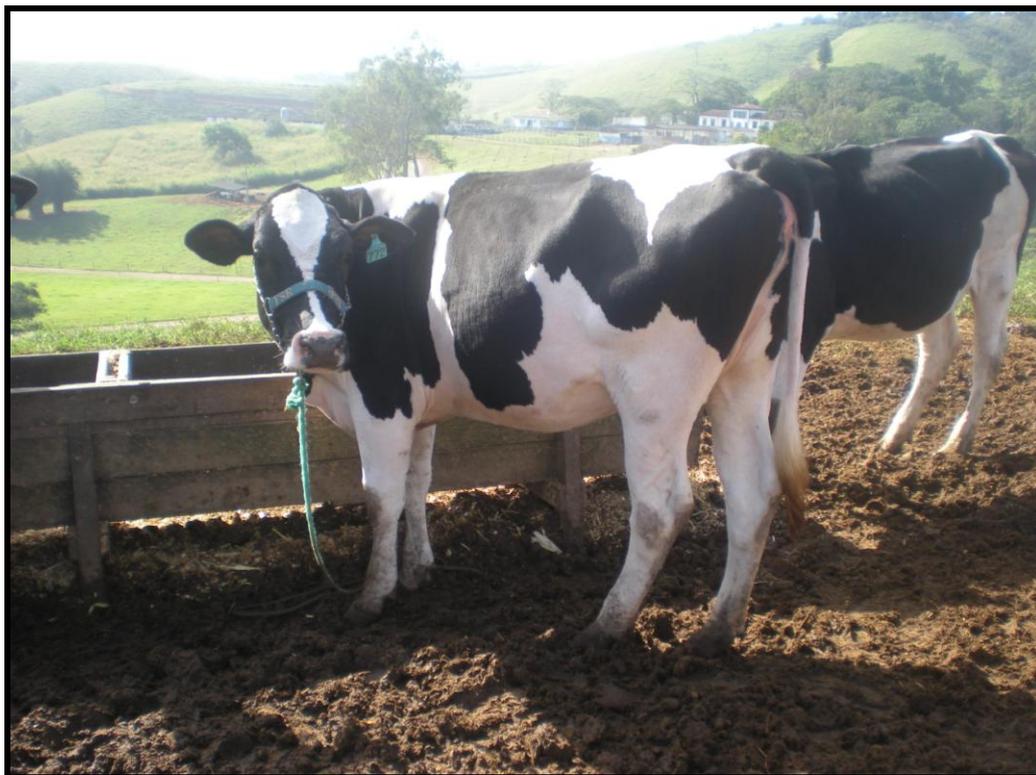


Figura 4 - Vista das fêmeas a partir de 101 dias de idade, nos piquetes na fazenda em Pirai, RJ.

3.3 Material Fecal e Exames Laboratoriais

As coletas foram realizadas semanalmente e as amostras eram obtidas direto da ampola retal das bezerras. Em seguida eram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados com o número de cada animal e mantidas sob refrigeração até o momento de serem examinadas. Ao final do período de estudo, o total de amostras coletadas foi 1.512.

Os exames foram realizados no laboratório pertencente ao Departamento de Parasitologia Animal, localizado no Projeto Sanidade Animal do Convênio Embrapa-UFRRJ. Já no laboratório as amostras foram identificadas individualmente por números sequenciais.

Uma parte das fezes de cada bezerra foi processada pela técnica de centrífugo-flutuação em solução saturada de açúcar ($d=1,30$). A observação de toda a extensão da lamínula (sobre uma lâmina) foi feita em microscópio óptico binocular (WILD, modelo M11) com objetivas de 10X e de 40X para a contagem de oocistos do gênero *Eimeria*. Em seguida, o total encontrado foi multiplicado pelo fator de correção 05 (cinco), para então obter o número de oocistos por grama de fezes (OoPG) de acordo com o descrito por Menezes e Lopes (1995), e assim classificar a intensidade de infecção em moderada e alta.

Ueno e Gonçalves (1998) com base na eliminação de ovos por grama de fezes (OPG) estipularam graus de infecção mista de bovinos por nematóides em moderada (200-700) e pesada (700). Ainda segundo esses autores a contagem do OPG não reflete uma infecção real, pois a patogenicidade varia entre as espécies, a eliminação de ovos é maior em jovens em consequência da sensibilidade ao parasitismo, há variação em duas contagens feitas no mesmo dia (manhã e tarde) com material fecal de um mesmo

animal, além de outros fatores inerentes ao indivíduo e ao manejo. Assim considerando que as infecções por espécies de *Eimeria* são multiespecíficas e apresentam as mesmas variações citadas por Ueno e Gonçalves (1998), foi feita a extrapolação dos parâmetros desses autores para graduar, neste estudo, a intensidade de infecção em moderada (5 - 700) e alta (>700).

Considerando as categorias das variáveis (faixa etária e intensidade de infecção), a outra parte das fezes de cada bezerra foi misturada, diluída em água destilada e tamisada em parasitofiltro. A esta suspensão foi acrescentada solução de dicromato de potássio a 2,5% na proporção de (1: 2). Após homogeneização dessa mistura, a mesma foi distribuída em placas de Petri em finas camadas e mantida a temperatura ambiente por sete dias, a fim de que ocorresse a esporulação dos oocistos de *Eimeria*.

3.3.1 Morfometria dos oocistos

Após a esporulação dos oocistos foi realizada a identificação percentual das espécies de *Eimeria*, segundo os critérios de Levine (1985) e Eckert et al. (1995). Em seguida foram medidos 100 oocistos de cada espécie, dentre aquelas mais prevalentes, cujos oocistos eram mais abundantes, para cada categoria das variáveis. As medidas foram feitas a partir de oocistos provenientes de uma mesma amostra, nas duas técnicas. Para esse fim foi utilizada uma ocular micrométrica com o aumento de 15X (PZO) acoplada ao microscópio óptico (WILD, modelo M11) e também por meio de um sistema de digitalização de imagem, com uso do Cell^R & Cell^R Imaging Software for Life Science Microscopy e câmera fotográfica (UC30) adaptada a um microscópio binocular Olympus BX51.

De cada oocisto foram medidos os diâmetros maior e menor, a largura da parede e calculado o índice morfométrico (IM). De um esporocisto por oocisto, foram medidos os diâmetros maior e menor e também calculado seu IM.

As medidas obtidas por meio do sistema de digitalização foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Sistema de Imagens do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da UFRRJ.

3.4. Análise Estatística dos Dados

Para avaliar estatisticamente as técnicas de medidas utilizadas observou-se, inicialmente, a condição de normalidade dos dados pelo teste Shapiro-Wilk, para todas as variáveis em estudo. Foi utilizado, então o Coeficiente de Correlação de Sperman para avaliar se houve ou não diferenças entre as análises do Sistema Digital de Imagens em relação às medidas realizadas com o uso da ocular micrométrica.

Para avaliar se a idade dos animais e a intensidade de infecção influenciaram no tamanho do oocisto, utilizou-se o teste de Mann-Whitney.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no pacote estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1 Espécies do Gênero *Eimeria* Identificadas

Com base nas características morfológicas e morfométricas dos oocistos esporulados identificaram-se nove espécies de *Eimeria* nas bezerras estudadas: *E. alabamensis*, *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis*, *E. zuernii*. As espécies mais prevalentes foram *E. ellipsoidalis*, *E. alabamensis* e *E. bovis* (Figura 5).

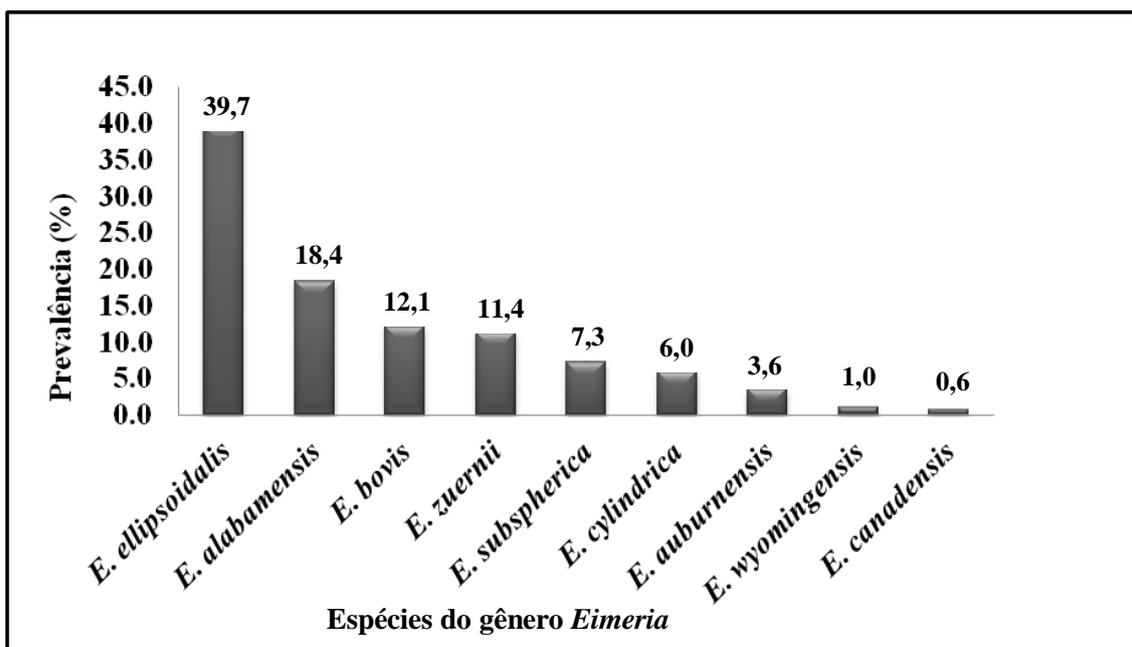


Figura 5 - Prevalência das espécies de *Eimeria* identificadas infectando bezerras das duas faixas etárias, Município Piraí, RJ.

Quanto à prevalência das espécies, verifica-se que a infecção é multiespecífica como observado neste estudo e nas pesquisas de Facury Filho (1992), Lucas et al. (2007) e de Sánchez et al. (2008), que também observaram a infecção em bovinos jovens. Entretanto a composição e o número de espécies presentes nos diferentes rebanhos é variável, como se pode verificar nos resultados de Bruhn et al. (2011) e de Koutny et al. (2011), e também pelo observado na Alemanha por von Samsom-Himmelstjerna et al. (2006) que identificaram apenas três espécies (*E. alabamensis*, *E. bovis* e *E. zuernii*) e no Brasil por Serra-Freire et al. (1995) que identificaram cinco espécies (*E. zuernii*, *E. bovis*, *E. canadensis*, *E. ellipsoidalis* e *E. auburnensis*). Mesmo que as espécies mais prevalentes tenham sido as mesmas como neste estudo (*E. ellipsoidalis*, *E. alabamensis* e *E. bovis*) e nos de Sánchez et al. (2008) na Argentina, Rehman et al. (2011) no Paquistão e de Koutny et al. (2011) na Áustria, a prevalência pode ser bastante diferente.

O clima e a resposta imune do hospedeiro podem ser fatores que influenciam a alteração da composição das espécies, como comentado por Lucas et al. (2007), assim como tais variações podem ser atribuídas às regiões geográficas onde os trabalhos foram realizados, ao tipo de manejo adotado e também aos fatores inerentes aos hospedeiros como a faixa etária e raça dos animais estudados. Ainda segundo Lucas et al. (2007) as interações entre hospedeiro, parasita e ambiente são complexas, mas a composição das

espécies de *Eimeria* podem se manter estáveis em bezerros, com pequenas e graduais alterações ocorrendo nas semanas seguintes ao desmame.

Na Tabela 1 está apresentada a distribuição percentual das espécies de *Eimeria* em bezerras por faixa etária e intensidade de infecção.

Tabela 1 - Frequência (%) das espécies do gênero *Eimeria* encontradas em bezerras de acordo com a faixa etária (0-100 e de 101- 180 dias) e a intensidade de infecção, no Município de Pirai, RJ.

Espécies	Moderada		Alta	
	0-100	101-180	0-100	101-180
<i>E. subspherica</i>	7,1	9,0	3,0	10,0
<i>E. zuernii</i>	15,0	3,0	12,0	15,5
<i>E. ellipsoidalis</i>	29,0	56,0	40,3	33,4
<i>E. cylindrica</i>	5,0	0,6	13,7	4,7
<i>E. alabamensis</i>	6,6	15,3	19,0	32,5
<i>E. bovis</i>	31,5	5,7	9,2	2,7
<i>E. canadensis</i>	2,0	0	0,15	0,4
<i>E. wyomingensis</i>	1,1	0	2,15	0,8
<i>E. auburnensis</i>	2,7	11,0	0,5	0

Embora *E. ellipsoidalis* tenha sido a espécie mais prevalente, oocistos de *E. bovis* foram os mais frequentes nas infecções moderadas na faixa etária de 0-100 dias. Tal resultado foi encontrado também por Almeida et al. (2011) no sudeste da Bahia, onde *E. bovis* foi a espécie mais prevalente, sobretudo em bezerros com menos de um ano de idade. Já *E. alabamensis* apresentou frequência similar à de *E. ellipsoidalis* nas bezerras de 101-180 com intensidade de infecção alta.

4.2 Faixa Etária e Intensidade de Infecção

Os resultados de OoPG obtidos no presente estudo demonstraram que a primeira eliminação de oocisto, ocorreu aos seis dias de idade com média $22,39 \pm 7,59$ (moda = 25). O presente resultado é corroborado por Sánchez et al. (2008) que observaram um aumento na eliminação de oocistos entre 21 e 35 dias de idade. Noronha Jr. et al. (2009) obtiveram em búfalos resultado similar para o primeiro dia de infecção. Entretanto, em um estudo realizado em Minas Gerais Facury Filho (1992), observou a eliminação de oocistos de *E. zuernii* em bezerros a partir de 13 dias de vida. Em São Paulo Barbosa et al., (1992) encontram 58% de bezerros búfalos infectados com espécies do gênero *Eimeria* após 21 dias de idade. Estes autores sugeriram que os bezerros podem ser infectados logo após o nascimento, possivelmente durante a amamentação, através da ingestão de oocistos aderidos ao úbere das vacas.

Segundo Levine (1985) a infecção é maior em animais mais jovens do que nos adultos e estes se comportam como portadores assintomáticos. No presente estudo as bezerras de até 100 dias mantiveram um maior percentual de infecção (Tabela 2), corroborando os resultados de Cornelissen et al., (1995), na Holanda, Cicek et al., (2007) na Turquia, Rehman et al., (2011) no Paquistão, Almeida et al., (2011) no Brasil, onde os bovinos jovens apresentaram maior intensidade de infecção em relação aos mais velhos. No entanto, somente 114 (12,96%) do total de 879 amostras positivas foram classificadas como apresentando intensidade alta, em ambas as faixas etárias.

Tabela 2 – Resultado da pesquisa de oocistos de *Eimeria*, classificado segundo a intensidade de infecção e de acordo com a faixa etária das bezerras, no Município de Pirai.

Intensidade de Infecção	Faixa Etária (dias)	
	0-100	101-180
Negativa	446 (29,5%)	187 (12,3%)
Moderada	433 (28,6%)	332 (21,9%)
Alta	76 (5%)	38 (2,7%)

4.3 Morfometria por meio de Dois Métodos de Medida

O estudo morfométrico das cinco espécies mais prevalentes e com maior abundância de oocistos (Figura 6), foi realizado para a comparação entre os métodos de medidas.

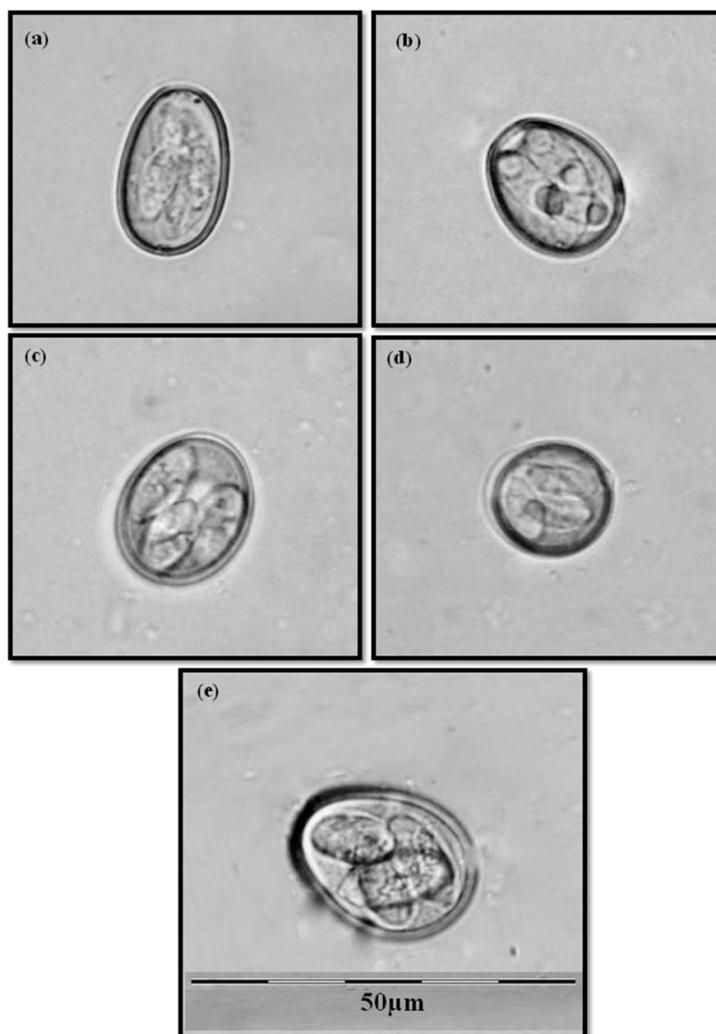


Figura 6 – Oocistos esporulados das cinco espécies do gênero *Eimeria* mais prevalentes em bezerras de 0-180 dias de vida no Município de Pirai, RJ: (a) *E. ellipsoidalis*; (b) *E. alabamensis*; (c) *E. zuernii*; (d) *E. subspherica*; (e) *E. bovis* (solução saturada de açúcar. Escala 50µm).

Através das médias das medidas obtidas pelos dois métodos de medida dos oocistos e esporocistos encontrados, (Tabela 3,4,5,6), considerando a amplitude de variação, assim como a morfologia pode-se observar que *E. ellipsoidalis* apresentou oocisto elipsoidal ou muito pouco ovoide. A parede do oocisto apresentou-se fina, com ausência de micrópila. As medidas dos oocistos variaram de 22 – 26 µm (diâmetro maior) por 14 - 17 µm (diâmetro menor) e não apresentaram corpo residual. Os esporocistos apresentaram 11 - 15 µm (diâmetro maior) por 4 - 6 µm (diâmetro menor) com presença de resíduo no esporocisto. Os esporozoítos eram alongados, com um glóbulo na parte mais larga e um próximo ao meio.

Eimeria zuernii apresentou oocisto subsférico ou ovoide e não apresentou micrópila. Os oocistos mediram 18 - 20 µm (diâmetro maior) por 15 - 17 µm (diâmetro menor) e não apresentaram resíduo de oocisto. Os esporocistos eram alongados e ovóides, com 10 - 12 µm (diâmetro maior) por 5 – 6 µm (diâmetro menor).

Eimeria alabamensis apresentou oocisto ovóide, com ausência de micrópila e tamanho variando entre 19 - 23 µm (diâmetro maior) por 14 - 17 µm (diâmetro menor) . Os esporocistos eram alongados, sem resíduo e variando de 10 - 13 µm (diâmetro maior) por 4 - 6 µm (diâmetro menor). De acordo com Levine (1985), esta espécie localiza-se primariamente no intestino delgado, mas também no ceco e cólon em infecções severas mas é essencialmente não patogênica em condições de campo.

Eimeria bovis apresentou oocisto subsférico ou ovoide e não apresentou micrópila. Os oocistos mediram 28 - 32 µm (diâmetro maior) por 21- 24 µm (diâmetro menor) e não apresentaram resíduo de oocisto. Os esporocistos eram alongados e ovóides, com 14 - 18 µm (diâmetro maior) por 6-14 µm (diâmetro menor).

Eimeria subspherica apresentou oocisto subsférico ou ovoide e não apresentou micrópila. Os oocistos mediram 14 - 17 µm (diâmetro maior) por 13- 16 µm (diâmetro menor) e não apresentaram resíduo de oocisto. Os esporocistos eram alongados e ovóides, com 6 - 8 µm (diâmetro maior) por 4-5 µm (diâmetro menor).

Com base nos resultados morfométricos obtidos foi possível notar que não houve correlação ($p>0,05$) entre as técnicas aplicadas, mostrando que uma independe da outra. No entanto, as médias das medidas mostraram-se dentro dos parâmetros de referências adotados e próximos aos valores médios do padrão conforme as descrições de Eckert (1995), comprovando que ambas são válidas.

Após análise dos oocistos de *E. ellipsoidalis*, pode-se observar com uso do teste de Mann-Whitney, que a idade dos animais influenciou na forma dos oocistos em ambas as técnicas de medidas. Tais alterações não foram relatadas por Menezes e Lopes (1995 e 1997) em estudos realizados na microrregião Serrana Fluminense com caprinos. Entretanto Teixeira Filho et al. (2001) encontraram a existência de pleomorfismo nos oocistos de *E. ninakohlyakimovae* oriundos de caprinos jovens e adultos. Além disto, Long e Joyner (1984) previamente assinalaram que apesar do pleomorfismo existente nos oocistos o seu índice morfométrico se manteria constante. Esta análise não foi realizada para as demais espécies encontradas neste estudo, devido à baixa abundância de seus oocistos.

Tabela 3 - Morfometria dos oocistos esporulados, obtida com uso da ocular micrométrica, das espécies do gênero *Eimeria* de bezerras de 0-100 dias de idade e, de acordo com a intensidade de infecção (moderada e alta), no Município de Piraí, RJ.

Moderada							
Espécie	Oocisto^a				Esporocisto^a		
	Diâmetros		Parede	I.M.^b	Diâmetros		I.M.^b
	maior	menor			maior	menor	
<i>E. bovis</i>	28,7 ± 1,53	21,7 ± 1,03	1,6 ± 0,16	1,3 ± 0,06	14,9 ± 1,17	6,5 ± 0,59	2,3 ± 0,28
<i>E. ellipsoidalis</i>	25,6 ± 0,99	17,0 ± 0,98	1,3 ± 0,14	1,5 ± 0,08	13,7 ± 0,94	5,7 ± 0,49	2,4 ± 0,22
<i>E. alabamensis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. subspherica</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. zuernii</i>	-	-	-	-	-	-	-
Alta							
<i>E. bovis</i>	31,4 ± 2,15	23,5 ± 1,22	2,0 ± 0,35	1,3 ± 0,01	18,2 ± 1,56	7,7 ± 0,63	2,3 ± 0,24
<i>E. ellipsoidalis</i>	23,5 ± 1,5	16,0 ± 1,01	1,4 ± 0,18	1,4 ± 0,01	13,1 ± 1,12	5,4 ± 0,68	2,4 ± 0,37
<i>E. alabamensis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. subspherica</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. zuernii</i>	19,4 ± 0,96	17,0 ± 1,19	1,3 ± 0,24	1,14 ± 0,06	11,1 ± 1,03	5,6 ± 0,64	2,0 ± 0,26

^a Média ± desvio padrão

^bIM = Índice Morfométrico

Tabela 4 - Morfometria dos oocistos esporulados, obtida com uso da ocular micrométrica, das espécies do gênero *Eimeria* de bezerras de 101-180 dias de idade e, de acordo com a intensidade de infecção (moderada e alta), no Município de Piraí, RJ.

Moderada							
Espécie	Oocisto^a				Esporocisto^a		
	Diâmetros		Parede	I.M.^b	Diâmetros		I.M.^b
	maior	menor			maior	menor	
<i>E. bovis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. ellipsoidalis</i>	25,3 ± 1,69	17,0 ± 1,13	1,2 ± 0,17	1,5 ± 0,09	13,9 ± 1,12	5,7 ± 0,45	2,4 ± 0,224
<i>E. alabamensis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. subspherica</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. zuernii</i>	-	-	-	-	-	-	-
Alta							
<i>E. bovis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. ellipsoidalis</i>	26,5 ± 1,76	16,2 ± 1,94	1,3 ± 0,18	1,6 ± 0,13	13,4 ± 0,9	5,2 ± 0,5	2,6 ± 0,28
<i>E. alabamensis</i>	22,1 ± 1,58	16,1 ± 0,87	1,3 ± 0,18	1,4 ± 0,09	12,6 ± 0,92	5,1 ± 0,4	2,5 ± 0,25
<i>E. subspherica</i>	16,8 ± 0,89	15,4 ± 0,89	1,3 ± 0,21	1,1 ± 0,04	7,5 ± 1,34	4,5 ± 0,39	1,7 ± 0,28
<i>E. zuernii</i>	18,9 ± 2,06	16,6 ± 1,3	1,3 ± 0,06	1,2 ± 0,07	13,4 ± 1,03	5,0 ± 0,51	2,2 ± 0,29

^a Média ± desvio padrão

^bIM = Índice Morfométrico

Tabela 5 - Morfometria dos oocistos esporulados, obtida com o uso do sistema digital de imagem, das espécies do gênero *Eimeria* de bezerras de 0-100 dias de idade e, de acordo com a intensidade de infecção (moderada e alta), no Município de Piraí, RJ.

Moderada							
Espécie	Oocisto^a				Esporocisto^a		
	Diâmetros		Parede	I.M.^b	Diâmetros		I.M.^b
	maior	menor			maior	menor	
<i>E. bovis</i>	31,2 ± 1,72	23,4 ± 2,28	1,9 ± 0,24	1,3 ± 0,27	16,5 ± 1,83	7,1 ± 0,87	2,3 ± 0,52
<i>E. ellipsoidalis</i>	22,9 ± 1,71	15,5 ± 1,85	1,2 ± 0,04	1,5 ± 0,45	11,9 ± 0,93	4,8 ± 0,54	2,4 ± 0,3
<i>E. alabamensis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. subspherica</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. zuernii</i>	-	-	-	-	-	-	-
Alta							
<i>E. bovis</i>	28,18 ± 1,44	21,8 ± 0,92	1,9 ± 0,29	1,3 ± 0,08	15,7 ± 1,49	14,7 ± 0,75	2,3 ± 0,38
<i>E. ellipsoidalis</i>	25,1 ± 1,66	17,1 ± 1,05	1,4 ± 0,25	1,4 ± 0,09	14,5 ± 1,44	6,0 ± 0,63	2,4 ± 0,37
<i>E. alabamensis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. subspherica</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. zuernii</i>	18,9 ± 1,3	15,7 ± 1,34	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,08	10,4 ± 3,2	5,3 ± 0,53	2,0 ± 0,73

^a Média ± desvio padrão

^bIM = Índice Morfométrico

Tabela 6 - Morfometria dos oocistos esporulados, obtida com o uso do sistema digital de imagem, das espécies do gênero *Eimeria* de bezerras de 101-180 dias de idade e, de acordo com a intensidade de infecção (moderada e alta), no Município de Piraí, RJ.

Moderada							
Espécie	Oocisto^a				Esporocisto^a		
	Diâmetros		Parede	I.M.^b	Diâmetros		I.M.^b
	maior	menor			maior	menor	
<i>E. bovis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. ellipsoidalis</i>	23,4 ± 1,36	15,9 ± 0,91	1,3 ± 0,09	1,5 ± 0,1	12,4 ± 1,02	5,1 ± 0,51	2,5 ± 0,3
<i>E. alabamensis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. subspherica</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. zuernii</i>	-	-	-	-	-	-	-
Alta							
<i>E. bovis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. ellipsoidalis</i>	24,0 ± 1,94	14,9 ± 1,0	1,2 ± 0,07	1,6 ± 0,14	11,7 ± 1,48	4,8 ± 0,54	2,4 ± 0,39
<i>E. alabamensis</i>	19,4 ± 1,8	14,5 ± 0,93	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,13	10,6 ± 0,82	4,0 ± 0,55	2,3 ± 0,3
<i>E. subspherica</i>	14,3 ± 1,27	13,3 ± 1,34	1,1 ± 0,11	1,1 ± 0,06	6,9 ± 1,27	4,0 ± 0,55	1,8 ± 0,39
<i>E. zuernii</i>	18,9 ± 1,3	15,7 ± 1,34	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,08	10,4 ± 0,99	5,0 ± 0,58	2,1 ± 0,24

^a Média ± desvio padrão

^bIM = Índice Morfométrico

Entretanto, não houve diferença significativa ($p>0,05$) na morfometria dos oocistos de acordo com a intensidade de infecção. Embora possam existir variações individuais intraespecíficas, principalmente em infecções intensas e no final do período de patência, quando aumenta o número de oocistos deformados. Também, Levine (1985) afirma que o tamanho do oocisto não é constante, entretanto as dimensões dos mesmos são frequentes e consideradas como caracteres específicos.

Os resultados morfométricos encontrados por Noronha Jr et al. (2009) em um estudo realizado no Brasil, com bezerros búfalos até 133 dias de idade, foram diferentes do presente estudo, quando consideradas as seguintes espécies em comum: *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica* e *E. zuernii*. A razão para as diferenças observadas pode ser atribuída a fatores inerentes ao hospedeiro e ao tipo de hospedeiro, como estado imunológico, raça, idade, estado fisiológico, aqueles relacionados com o parasito como cepa e especificidade além dos ambientais, como umidade, temperatura e os atrelados ao sistema de manejo, que podem favorecer a esporulação dos oocistos de *Eimeria* spp. e a sua transmissão como comentado por Penzhorn et al. (1994).

5 CONCLUSÕES

O pleomorfismo observado nos oocistos de *E. ellipsoidalis* e relacionado à idade das bezerras, pode ter sido em consequência do fator populacional, já que existe uma especificidade do coccídio ao sítio de infecção no intestino e, que esta espécie foi a mais prevalente e abundante, aliado ao fato da imaturidade do sistema imune do hospedeiro.

Considerando que podem existir variações intraespecíficas, principalmente em infecções intensas, neste estudo a intensidade de infecção não interferiu na morfometria, porque a eliminação dos oocistos foi moderada, mesmo nas bezerras mais jovens.

Para efeito de obtenção de resultado, não faz diferença a técnica escolhida, a não ser quando considerada a praticidade e a rapidez de execução no sistema de digitalização de imagens. Com isso, pode ser considerada mais adequada como método de medida, inclusive porque a interferência do pesquisador é menor.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEBE, R.; WOSSENE, A.; KUMSA, B. Epidemiology of *Eimeria* infections in calves in Addis Ababa and Debre Zeit dairy farms, Ethiopia. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, v. 6, n. 1, p. 24–30, 2008.
- ALLEN, P.C.; FETTERER, R.H. Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 15, n. 1, p. 58-65, 2002.
- ALMEIDA, V. dos A.; MAGALHÃES, V.C.S de; MUNIZ NETA, E. de S.; MUNHOZ, A. D. Frequency of species of genus *Eimeria* in naturally infected cattle in Southern Bahia, Northeast Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 20, n. 1, p. 78-81, 2011.
- BAHIRATHAN, M.; WEILGAMA, D.J.; WIJESUNDERA, M.K.S. Prevalence and abundance of emerial oocysts in buffalo calves on a farm in Sri Lanka. *Buffalo Journal*, v. 11, n. 4, p. 183-191, 1995.
- BARBOSA, M.A.; BLASI, A.C.; OLIVEIRA, M.R. de; CORRÊA, F.M.A.. Parasitismo natural de bufalinos em Botucatu, SP, Brasil - III. Dinâmica do parasitismo gastro-intestinal em vacas e suas crias. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 87, suplemento 1, p. 37–41, 1992.
- BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M. *Clínica veterinária*, 7ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991, 1263p.
- BRUHN, F.R.P.; LOPES, M.A.; DEMEU, F.A.; PERAZZA, C.A.; PEDROSA, M. F.; GUIMARÃES, A.M. Frequency of species of *Eimeria* in females of the holstein-friesian breed at the post-weaning stage during autumn and winter. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 20, n. 4, p. 303-307, 2011.
- CARVALHO FILHO, P.R. de; MASSAD, F.V.; LOPES, C.W.G.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; OLIVEIRA, F.C.R. de. 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.
- CICEK, H.; SEMVILI, F.; KOZAN, E.; KÖSE, M.; ESER, M.; DOGAN, N. Prevalence of coccidia in beef cattle in western Turkey. *Parasitology Research*. v. 101, n. 5, p. 1239 – 1243, 2007.
- CORNELISSEN, A.W.C.A.; VERSTEGEN, R.; BRAND, H.; PERIE, N.M.; EYSKER, M.; LALM, T. J. G. M.; PIJPERS, A. An observational study of *Eimeria* species in housed cattle on Dutch dairy farms. *Veterinary Parasitology*, v. 56, n. 1-3, p. 7 - 16, 1995.

COSTA, C.A.F.; GOMES, R.F.; MELO, M.N.; RIBEIRO, M.F.B. *Eimeria* parasites of domestic fowl: genetic relationships of different isolates estimated from random polymorphic DNA. *Parasitology Research*, v. 87, n. 1, p. 459–466, 2001.

DAUGSCHIES, A.; NAJDROWSKI, M. Eimeriosis in cattle: current understanding. *Journal of Veterinary Medicine*, v. 52, n. 10, p. 417- 427, 2005

ECKERT, J.; BRAUN, R; SHIRLEY, MW; COUDERT, P. (Ed.). *COST 89/820: Biotechnology. Guidelines on techniques in coccidiosis research. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities*, p. 104-106, 1995.

ERNST, I.V.; CIORDIA, H.; STUEDEMANN, J.A. Coccidia in cows and calves on pasture in North Georgia. *Veterinary Parasitology*, v. 15, n. 3-4, p. 213-221, 1984.

FACURY FILHO, E.J. *Evolução da infecção por Eimeria spp em bezerros naturalmente infectados e seu controle através da administração de anticoccídios no suplemento mineral*. 1992. 68f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1992.

FAZENDA SANTA ROSA, Fotos Fazenda Sta Rosa. Disponível em: http://fazendastarosa.com.br/FazendaStaRosa_Fotos.html, Acesso em: 15 de jan 2013.

FAYER, R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. *Veterinary Parasitology*, v. 6, n. 1-3, p. 75-103, 1980.

FIGUEIREDO, P.C.; SERRA FREIRE, N.M.; GRISI, L. Eimerias de bovinos leiteiros no Estado do Rio de Janeiro: técnica de diagnóstico e espécies identificadas. *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro*. v. 24, p. 3 – 10, 1984. Anual.

FITZGERALD, P.R. The economic impact of coccidiosis in domestic animals. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, v. 24, p. 121–143 1980. Anual.

FOX, J.E. Coccidiosis in cattle. *Modern Veterinary Practice*. v. 66, n. 2, p. 113–116, 1985.

HASBULLAH; AKIBA, Y.; TAKANO, H.; OGIMOTO, K. Seasonal distribution of bovine coccidia in beef cattle herd in the University farm. *Japanese Journal of Veterinary Science*, v. 52, n. 6, p. 1175-1179, 1990.

HASSUM, I.C.; VALLADARES, G.S.; MENEZES, R. de C.A.A. de. Diferenciação das espécies de *Eimeria* parasitas de ovinos pelo uso da regressão linear e algoritmos morfológicos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 2, p. 97-104, 2007.

HAYAT, C.S., RUKNUDIN, A., HAYAT, B., AKHTAR, M. Prevalence of coccidiosis in cattle and buffaloes with emphasis on age, breed sex, season and management. *Pakistan Veterinary Journal*, v. 14, p. 214- 217, 1994. Anual

- HOOSHMAND-RAD, P.; SVENSSON, C.; UGGLA, A. Experimental *Eimeria alabamensis* infection in calves. *Veterinary Parasitology*, v. 53, n. 1-2, p. 23–32, 1994.
- KASIM, A.A.; AL-SHAWA, Y.R. Prevalence of *Eimeria* in faeces of cattle in Saudi Arabia. *Veterinary Parasitology*, v. 17, n. 2, p. 95-99, 1985.
- KENNEDY, M. J.; KRAIKA, R. A. A survey of *Eimeria* spp. in cattle in Central Alberta. *The Canadian Veterinary Journal*, v. 28, n. 3, p. 124-125, 1987.
- KLOCKIEWICZ, M.; RYPUŁA, K.; STUDZIŃSKA, M.; MAŁECKI-TEPICHT, J. The epidemiology of calf coccidiosis (*Eimeria* spp.) in Poland. *Parasitology Research*, v. 101, n. 1, p. 121-128, 2007.
- KOUTNY, A.; JOACHIM, A.; TICHY, A.; BAUMGARTNER, W. Bovine *Eimeria* species in Austria. *Parasitology Research*, v. 110, n. 5, p. 1893-1901, 2011.
- LEVINE, N.D. *Veterinary protozoology*, Ames: Iowa State University Press, 1985, p.414.
- LIMA, J.D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 13, 2004, Ouro Preto. *Anais... Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, suplemento 1, p. 9 – 13, 2004.
- LONG, P.L.; JOYNER, L.P. Problems in the identification of species of *Eimeria*. *Journal of Protozoology*, v. 31, n. 4, p. 535-541, 1984.
- LUCAS, A.S.; SWECKER, W.S.; LINDSAY, D.S.; SCAGLIA, G.; ELVINGER, F.C.; ZAJAC, A.M. The effect of weaning method on coccidial infections in beef calves. *Veterinary Parasitology*, v. 145, n. 3-4, p. 228-233, 2007.
- MATJILA, P.T.; PENZHORN, B.L. Occurrence and diversity of bovine coccidia at three localities in South África. *Veterinary Parasitology*, v. 104, n. 2, p. 93 - 102, 2002.
- MENEZES, R. de C.A.A. de; LOPES, C.W.G. Epizootiologia da *Eimeria arloingi* em caprinos na Microrregião Serrana Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Universidade Rural Série Ciências da Vida*, v. 17, n. 2, p. 5-12, 1995.
- MENEZES, R. de C.A.A. de; LOPES, C.W.G. *Eimeria alijevi* (Apicomplexa: Eimeriidae) em caprinos leiteiros na Microrregião Serrana Fluminense, RJ. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 6, n. 1, p. 69-73, 1997.
- NORONHA JR., A.C.F. de; STARKE-BUZETTI, W.A.; DUSZYNSKI, D.W. *Eimeria* spp. in brazilian water buffalo. *The Journal of Parasitology*, v. 95, n. 1, p. 231-234, 2009.
- NORTON, C.C.; JOYNER, L.P. *Eimeria acervulina* and *E. mivati*: oocysts, life-cycle and ability to develop in the chicken embryo. *Parasitology*, v. 83, n. 2, p. 269-279, 1981.

NOVAES, J. *Análise da expressão diferencial entre merozoítos e esporozoítos de Eimeria tenella empregando a técnica de Long SAGE*. 2009. 52f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

PENZHORN, B.L.; ROGNLIE, M.C.; HALL, L.L.; KNNAP S.E. Enteric coccidia of cashmere goats in southwestern Montana. *Veterinary Parasitology*, v. 55, n. 1, p. 137-142, 1994.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>, Acesso em: 15 set 2011.

RADOSTITS, O.M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C. *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats, and horses*. 10 ed. Londres: Bailliere Tindall, 2010, p. 1181–1199.

REBOUÇAS, M.M.; GRASSO, I.M.P.S; SPÓSITO FILHA, E.; AMARAL, V. do; SANTOS, S.P.M.; SILVA, D.M. Prevalência e distribuição de protozoários do gênero *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) em bovinos nos municípios de Altinópolis, Taquaritinga, São Carlos e Guaíra – Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 3, n. 2, p. 125-130, 1994.

REHMAN, T.U.; KHAN, M.N.; SAJID, M.S.; ABBAS, R.Z.; ARSHAD, M., IQBAL, Z.; IQBAL, A. Epidemiology of *Eimeria* and associated risk factors in cattle of district Toba Tek Singh, Pakistan. *Parasitology Research*, v. 108, n. 5, p. 1171-1177, 2011.

RODRÍGUEZ-VIVAS R. I.; DOMÍNGUEZ-ALPIZAR J. L.; TORRES-ACOSTA J. F. Epidemiological factors associated to bovine coccidiosis in cattle (*Bos indicus*) in a subhumid tropical climate. *Revista Biomedicina*. v. 7, n. 4, p. 211-218, 1996.

Von SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; EPE, C.; WIRTHERLE, N.; Von der HEYDEN, V.; WELZ, C.; RADELOFF, I.; BEENING, J.; CARR, D.; HELLMANN, K.; SCHNIEDER, T.; KRIEGER, K. Clinical and epidemiological characteristics of *Eimeria* infections in first-year grazing cattle. *Veterinary Parasitology*, v. 136, n. 3-4, p. 215-221, 2006.

SÁNCHEZ, R.O.; ROMERO, J.; FOUNROGE, R.D. Dynamics of *Eimeria* oocyst excretion in dairy calves in the Province of Buenos Aires (Argentina), during their first 2 months of age. *Veterinary Parasitology*, v. 151. n. 2-4, p. 133-138, 2008.

SCHNITZLER, B.E.; THEBO, P.; MATTSON, J.G.; TOMLEY, F.; SHIRLEY, M.W. Development of a diagnostic PCR assay for the detection and discrimination of four pathogenic *Eimeria* species of the chicken. *Avian Pathology*, v. 27, n. 5, p. 490–497, 1998.

SERRA-FREIRE, N.M.; CAVALCANTI, P.L.; GAZÊTA, G.S.; NOGUEIRA, E.O; ROCHA, G.C; MADURO, C.H. Ecto e enteroparasitos de bovinos Jersey em Resende, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Universidade Rural, Série Ciência da Vida*, v. 17, n. 1, p. 75-81, 1995.

SHIRLEY, M.W.; IVENS, A.; GRUBER, A.; MADEIRA, A.M.; WAN, K.L.; DEAR, P.H.; TOMLEY, F.M. The *Eimeria* genome projects: a sequence of events. *Trends in Parasitology*, v. 20, n. 5, p. 199-201, 2004.

TEIXEIRA FILHO, W.L.; MENEZES, R. de C.A.A. de; LOPES, C.W.G. *Eimeria ninakholyakimovae* (Apicomplexa: Eimeriidae) de caprinos leiteiros de um criatório na microrregião do Rio de Janeiro: aspectos morfofisiológicos. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v. 8, n. 2, p. 85-87, 2001.

TODD, K.S.; ERNST, N. Coccidia of mammals except man. In: KREIER, J.P. (Ed.). *Parasitic protozoa*. New York: Academic Press, 1977, v. 3, p. 71-99.

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. 4. ed. Tóquio: Japan International Cooperation Agency, 1998, 143 p.

WILLIAMS, R.B.A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. *Internacional Journal for Parasitology*, v. 29, n. 8, p. 1209-1229, 1999.

WIKIPEDIA. Rio de Janeiro, Município de Pirai. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:RiodeJaneiro_Municip_Pirai.svg, Acesso em: 15 jan. 2013.

WIKIPEDIA. Pirai. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Pirai%C3%AD>, Acesso em: 15 jan 2013.