

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

THAYANE FERREIRA FERNANDES

COCCIDIOS EM SUÍNOS NATIVOS CRIADOS
EXTENSIVAMENTE NA BAIXADA MARANHENSE, BRASIL

São Luís, MA

2016

THAYANE FERREIRA FERNANDES

**COCCIDIOS EM SUÍNOS NATIVOS CRIADOS
EXTENSIVAMENTE NA BAIXADA MARANHENSE, BRASIL**

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

Área: Medicina Veterinária Preventiva

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

São Luís, MA

2016

THAYANE FERREIRA FERNANDES

**COCCÍDIOS EM SUÍNOS NATIVOS CRIADOS EXTENSIVAMENTE NA BAIXADA
MARANHENSE, BRASIL**

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

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

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Ana Clara Gomes dos Santos –
Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária - Universidade Estadual do Maranhão

Prof^ª. Dra. Andréa Pereira da Costa
Bolsista de Fixação de Doutor, BFC/CCA/UEMA

Prof. Dr. Daniel Praseres Chaves
Departamento de Patologia – UEMA

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

AGRADECIMENTOS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

A FAPEMA pela concessão da Bolsa de Mestrado para o desenvolvimento da pesquisa e conclusão do curso.

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

COCCÍDIOS EM SUÍNOS NATIVOS CRIADOS EXTENSIVAMENTE NA BAIXADA MARANHENSE, BRASIL

COCCIDIOSIS IN PIGS IN NATIVE CREATED EXTENSIVELY BAIXADA MARANHENSE, BRAZIL

Thayane Ferreira Fernandes¹; Ana Clara Gomes dos Santos²

RESUMO

Os suínos são espécies de importância relevante na produção de carne para o consumo humano, e dependendo da rentabilidade desta produção e do grau de eficiência da mesma, as doenças parasitárias podem conduzir a perdas bastante significativas nos principais indicadores da eficiência produtiva. Os oocistos de cada espécie são morfológicamente diferentes, os mesmos podem ser identificados de acordo com a forma e o tamanho, as formas mais comuns são esférica, subesférica, oval ou elipsoide. A principal metodologia de diagnóstico utilizada é a observação das características morfológicas para as espécies de *Eimeria* e *Cystoisospora*, para *Cryptosporidium*, é realizada somente a observação da presença de oocistos nas fezes, sem a determinação da espécie envolvida. A demonstração de oocistos nas fezes é útil para confirmar um diagnóstico de coccidiose, assim como a observação de sinais clínicos. Os oocistos são eliminados em grande número por um período relativamente curto de tempo, durante o primeiro ou segundo dia de diarreia, e pode não estar presente no momento do exame. Os métodos parasitológicos qualitativos utilizados para a concentração de ovos e oocistos de protozoários através de soluções hipersaturada de açúcar e Cloreto de Sódio (NaCl) são utilizadas para minimizar os debris e facilitar a visualização dos oocistos, com o auxílio de centrífugas e microscópios mais modernos que diminuem o tempo de execução dos exames e aumentam a precisão dos resultados. O conhecimento das espécies de coccídios que acometem os suínos e a intensidade da infecção adquirida por esses animais é importante para implantação adequada de medidas de controle em determinada região, bem como os fatores que interferem no desenvolvimento dos mesmos.

Palavras-chave: Coccidiose; Suínos; Oocistos.

¹Mestranda em Ciência Animal

²Bolsista Fixação de Doutor/Mestrado em Ciência Animal/UEMA

ABSTRACT

The pigs are species of great importance in the production of meat for human consumption, and depending on the profitability of production and the degree of efficiency of the same, parasitic diseases can lead to significant losses well in the main indicators of production efficiency. The oocysts of each species are morphologically different, they can be identified according to shape and size, the most common shapes are spherical, subspherical, oval or ellipsoid. The main diagnostic methodology is used the observation of morphological characteristics for species *Eimeria* and *Cystoisospora*, for *Cryptosporidium* is performed only observing the presence of oocysts in the feces without the determination of the species involved. The demonstration of oocysts in the feces is useful to confirm a diagnosis of coccidiosis, and observation of clinical signs. The oocysts are disposed in large number for a relatively short period of time during the first or second day of diarrhea, and cannot be present during the examination. Qualitative parasitological methods for the concentration of eggs and oocysts of protozoa through Supersaturated solutions of sugar and sodium chloride (NaCl) are used to minimize debris and facilitating the visualization of oocysts with the aid of centrifugal and more modern microscopes decrease of tests run time and increase the accuracy of the results. Knowledge of the species of coccidia that affect pigs and intensity of infection acquired by these animals is important for proper implementation of control measures in a given region, as well as the factors that interfere with their development.

Keywords: Coccidiosis; Swine; Oocysts.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1** – Morfometria dos oocistos esporulados das espécies do gênero *Eimeria* e *Cystoisospora* em suínos criados extensivamente na Baixada Maranhense, no período chuvoso, 2014 a 201533
- Tabela 2** – Morfometria dos oocistos esporulados das espécies do gênero *Eimeria* e *Cystoisospora* em suínos criados extensivamente na Baixada Maranhense, no período seco, 2014 a 201534
- Tabela 3** – Frequência de parasitismo por coccídios em suínos nativos da Baixada Maranhense, considerando sexo e idade, durante o período seco e chuvoso de 2014 a 2015.....45

CAPÍTULO 2

- Tabela 1** – Avaliação do parasitismo por *Cryptosporidium* spp. em suínos nativos da Baixada Maranhense, de acordo com o sexo e idade, durante o período de 2014 a 201557

CAPÍTULO 3

- Tabela 1** – Comparação do número de oocistos de coccídios intestinais de suínos nativos da Baixada Maranhense quantificado pelos métodos coproparasitológicos, durante o período seco e chuvoso, de 2014 a 2015.....74
- Tabela 2** – Comparação do número de oocistos de coccídios intestinais de suínos nativos da Baixada Maranhense quantificado pelos métodos coproparasitológicos, durante o período seco e chuvoso, de 2014 a 2015.....77

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1** – Baixada Maranhense e município de Bacurituba onde foi realizada a pesquisa de coccídios intestinais parasitas de suínos nativos.....30
- Figura 2** – Micrografia de oocisto esporulado de *Cystoisospora suis*: a) 100x; b) 400x, recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense36
- Figura 3** – Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria perminuta*: a) 100x; b) 100x, recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense37
- Figura 4** – Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria scabra*, oocisto sem a presença da micrópila (a) 40x e com a micrópila (b) 100x, recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.....38
- Figura 5** – Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria deblickei*, oocisto sem a presença da micrópila (a) (400x) e com a micrópila (b) (400x), recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.....39
- Figura 6** – Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria polita*, oocisto sem a presença da micrópila (a) (400x) e com a micrópila (b) (400x), recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.....40
- Figura 7** – A) Valores médios da temperatura (°C); B) Pluviosidade acumulada (mm³), período de 2013 a 2015, da Baixada Maranhense43
- Figura 8** – Valores médios de temperatura, pluviosidade e OoPG de coccídios de suínos nativos da Baixada Maranhense, durante o período seco e chuvoso de 2014 a 2015.....44

CAPÍTULO 2

- Figura 1** – Micrografia de oocisto de *Cryptosporidium* spp. (seta) obtido de fezes de suínos, corado pela técnica de Ziehl-Neelsen, contra-corante de Verde Malaquita (RIBEIRO, 2015) equivalente a 5 µm: a) 10x; b, c) 40x; d) 100x.....57
- Figura 2** – Prevalência de suínos nativos da Baixada Maranhense que apresentaram carga parasitária com oocisto de *Cryptosporidium* spp., período de 2014 a 2015.....58

CAPÍTULO 3

- Figura 1** – Prevalência de parasitismo por oocistos de coccídios intestinais em suínos nativos da Baixada Maranhense, de acordo com o sexo, idade, período seco e chuvoso, de 2014 a 201572
- Figura 2** – Frequência de oocistos de coccídios de suínos nativos da Baixada Maranhense, entre métodos coproparasitológicos qualitativos nos período seco e chuvoso, durante 2014 a 201573
- Figura 3** – Correlação dentre métodos coproparasitológicos e o parasitismo por oocistos de coccídios intestinais em suínos nativos da Baixada Maranhense, de acordo com o período do ano: a) seco; b) chuvoso, de 2014 a 201576

LISTA DE ABREVIATURAS

Alt. – Altitude

CP – Carga parasitária

°C – Graus Celsos

DM – Diâmetro maior

dm – Diâmetro menor

IC – Intervalo de Confiança

IM – Índice morfométrico

Km - quilômetros

MA – Maranhão

µm – Micrograma

mg – Miligrama

m – Metro

mm³ – Milímetros cúbicos

µl - Microlitro

NaCl – Cloreto de sódio

n. sig. – Não significativo

NUGEO – Núcleo Geoambiental

OoPG – Oocistos por grama de fezes

OR – Olds Ration

P – Proporção

rpm – rotação por minuto

R² - Coeficiente de Determinação

UEMA – Universidade Estadual do Maranhão

ZN – Ziehl-Neelsen

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Geral	15
2.2 Específicos	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 Coccidiose Suína	16
3.2 Espécies do Gênero <i>Eimeria</i>, <i>Cystoisospora</i> e <i>Cryptosporidium</i>	18
3.2.1 <i>Eimeria</i> spp.	19
3.2.2 <i>Cystoisospora suis</i>	21
3.2.3 <i>Cryptosporidium</i> spp.	23
3.3 Patogenia	24
CAPITULO 1	26
INFECÇÃO POR <i>Eimeria</i> E <i>Cystoisospora</i> EM SUÍNOS NATIVOS DE CRIAÇÃO EXTENSIVA NO MARANHÃO, BRASIL	26
RESUMO	26
ABSTRACT	27
1 INTRODUÇÃO	28
2 MATERIAL E MÉTODOS	30
2.1 Baixada Maranhense	30
2.2 Coletas das fezes	31
2.3 Processamentos das amostras	31
2.4 Análise estatística	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47
CAPÍTULO 2	50

FREQUÊNCIA DE *Cryptosporidium* spp. EM SUÍNOS NATURALIZADOS DE CRIAÇÃO EXTENSIVA EM CAMPOS ALAGADOS NO MARANHÃO, BRASIL.... 50

RESUMO	50
ABSTRACT	51
1 INTRODUÇÃO	52
2 MATERIAL E MÉTODOS	54
2.1 Processamento das amostras fecais.....	54
2.2 Preparação das lâminas	54
2.3 Leitura das lâminas	55
2.4 Análise estatística.....	55
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4 CONCLUSÃO.....	62
REFERÊNCIAS	63

CAPÍTULO 3 66

COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS COPROPARASITOLÓGICAS NO DIAGNÓSTICO DA COCCIDIOSE EM SUÍNOS DE CRIAÇÃO EXTENSIVA NO MARANHÃO, BRASIL 66

RESUMO	66
ABSTRACT	67
1 INTRODUÇÃO	68
2 MATERIAL E MÉTODOS	70
2.1 Coleta das fezes	70
2.2 Análise das amostras de fezes	70
2.3 Análise estatística	71
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
4 CONCLUSÃO	80
REFERÊNCIAS	81
CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
REFERÊNCIAS	85

1 INTRODUÇÃO

A produção suinícola ocupa um significativo papel na pecuária nacional, representando para as populações de baixa renda uma fonte de rentabilidade, além de mais uma alternativa alimentar. No entanto, para que essa atividade possa alcançar posição de destaque tanto no mercado nacional como no internacional, portanto há necessidade de se estudar e erradicar doenças que, de maneira clínica ou subclínica podem interferir no desenvolvimento do rebanho suíno brasileiro (GONÇALVES, 2008).

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

As doenças entéricas em suínos, mesmo em caráter assintomático, podem provocar diminuição no desenvolvimento dos animais, ocasionado pela perda de peso e baixa conversão alimentar, acarretando assim prejuízos ao criador. No que se refere a essas endoparasitoses, a coccidiose é referida como uma importante doença que compromete o desenvolvimento dos suínos, os parasitas atuam principalmente na região do intestino delgado, parasitando os enterócitos, comprometendo assim o crescimento dos jovens, chegando a afetar a reprodução dos animais adultos (GONÇALVES, 2008).

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

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

associados a outros agentes patogênicos ou a problemas nutricionais e sanitários (NISHI et al., 2000).

A criação de suínos nativos na região da Baixada Maranhense é de subsistência, onde os criadores sobrevivem da comercialização de animais abatidos e/ou em pé; entretanto esses animais são criados de forma ultra-extensivos, isto é, à solta no campo, onde o relevo é baixo, durante o período seco do ano, mas quando ocorrem às chuvas são levados para os abrigos denominados de “retiros”, onde o relevo é elevado e os campos ficam alagados por muito tempo, e nos “retiros”, realizam o pernoite dos animais, se alimentam de pequenos peixes, tubérculos e plantas. Esses animais apresentam parasitismo por helmintos gastrintestinais e pulmonares, além de artrópodes ectoparasitas, entretanto os parasitas, de importância nessa pesquisa são as espécies de coccídios intestinais que são espécie/específica e as zoonóticas, na cadeia de transmissão para os humanos. Esses parasitos patógenos dependendo do número e espécies patogênicas ingeridas pelo animal propiciam e influenciam no processo de produção e reprodução dos suínos.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

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

2.2 Específicos

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

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Coccidiose Suína

No Brasil, as endoparasitoses em suínos teve um elevado crescimento nos últimos anos devido ao aumento da produção no setor suinícola, a redução cada vez mais cedo do desmane também é um fator para a crescente ocorrência de parasitas nesses animais. Com isso os produtores, assim como os profissionais e pesquisadores, redobram sua atenção na identificação, e nos cuidados que se deve ter para interromper a transmissão das doenças e obter um controle mais eficaz na criação (MORES; AMARAL, 2006). Os problemas sanitários é um dos maiores problemas verificados na suinocultura. Os suínos podem ser afetados por doenças de várias origens, como bactérias, vírus e parasitaria, comprometendo o desenvolvimento dos animais e a função de cada sistema afetado (CAMPOS, 2012).

Os suínos são acometidos por uma diversidade de endoparasitos, causando perdas na produção e comprometendo sanidade dos animais, onde os parasitos localizados no trato gastrintestinal vão competir com seu hospedeiro os nutrientes da alimentação consumida causando irritação na mucosa do trato gastrintestinal, indigestão, falta do apetite, ulcerações no intestino, assim como, espoliação sanguínea que interferem no ganho de peso diário (RAMIREZ, 2008).

Entre as doenças entéricas que acometem os suínos, se destaca a coccidiose, causada por parasitas do gênero *Eimeria*, *Cystoisospora* e *Cryptosporidium*. Embora a morfometria muitas vezes seja uma boa ferramenta, a dificuldade na identificação das espécies está relacionado ao tamanho, forma ou estruturas internas dos oocistos de uma espécie. Como no caso dos pequenos oocistos das espécies de *Cryptosporidium* (FAYER et al., 2000). A forma aguda da doença acomete os animais jovens, uma vez que os adultos possuem imunidade, e, portanto seriam portadores da doença (GRAIG, 1986).

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

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

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

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

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

A coccidiose por *C. suis* é a maior causa de diarreia nos leitões, ocorrendo, normalmente, entre os oito e os 15 dias de idade. Por outro lado, a coccidiose por *Eimeria* spp. é mais comum em suínos mais velhos, surgindo já numa fase posterior ao desmame (MUNDT, 2005). As espécies do gênero *Eimeria* são frequentemente encontradas nas fezes de suínos, no entanto, pelo seu baixo potencial em induzir sintomatologia clínica aparente, estas são pouco evidenciadas quanto a estudos mais detalhados sobre suas infecções (ERNST, 1987). *Eimeria deblickei* é provavelmente a espécie mais patogênica (LEVINE, 1963).

Outra forma de diarreia é causada pelo *Cryptosporidium* spp., o quadro clínico causado pela infecção é raro e, quando presente, é uma diarreia não hemorrágica profusa

(ENEMARK et al., 2003). Os primeiros casos de Criptosporidiose suína foram relatados em 1977, onde se observou uma inflamação moderada associada à presença do protozoário nas células epiteliais do intestino grosso de três suínos durante uma necropsia, porém sem sinais de enterite (KENNEDY et al., 1977).

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

Atualmente, as produções suinícolas fornecem as condições ideais para que os oocistos se desenvolvam, infectando assim os animais sadios da criação. A higienização adequada junto com a desinfecção do ambiente pode interromper o ciclo dos coccídios, impedindo que outros animais sejam parasitados (CAMPOS, 2012). O controle do microclima das instalações, temperatura e umidade, são pontos importantes para o controle da Coccidiose. O manejo de limpeza, quando realizado de maneira correta, pode interromper a transmissão dos oocistos (LANGKJAER; ROEPSTORFF, 2008).

3.2 Espécies do Gênero *Eimeria*, *Cystoisospora* e *Cryptosporidium*

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

A patogenicidade do *Cryptosporidium* spp. varia com a espécie do coccídio e a espécie de animal, idade e estado imune do hospedeiro. As infecções, geralmente, não estão associadas com sinais clínicos, porém em ruminantes e aves ocorreram casos agudos, nos quais os animais apresentaram depressão, letargia, anorexia, tosse, dispnéia, conjuntivites, desidratação, queda de peso, febre e inapetência (SRÉTER; VARGA, 2000).

As características morfológicas e biológicas são utilizadas para diferenciar as espécies de coccídios. Ambas, as fases endógenas e exógenas do ciclo de vida podem diferir morfológicamente. No entanto, uma vez que as fases endógenas de muitas espécies são desconhecidas, a estrutura do oocisto é mais utilizada. Estudos da imunidade cruzada são também utilizados para diferenciar os coccídios de uma espécie de um determinado hospedeiro. A infecção de um animal com uma espécie de coccídio produz imunidade contra essa espécie, mas não contra outras espécies que ocorrem no mesmo hospedeiro (LEVINE, 1963).

As características dos oocistos são consideradas de grande importância na diferenciação de certos gêneros de coccídios. Na diferenciação das espécies quando se utiliza a morfologia do oocisto e esporocisto, devem ser consideradas as seguintes características: presença ou ausência de estruturas como corpo de “Stieda”, corpos residuais do oocisto e esporocisto, presença ou ausência de capuz micropilar na região polar do oocisto, medida do diâmetro maior e menor, além do índice morfométrico (CAVALVANTE, 1996).

3.2.1 *Eimeria* spp.

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa Levine, 1970

Classe: Conoidasida Levine, 1988

Subclasse: Coccidiasina Leuckart, 1879

Ordem: Eucoccidiorida Léger e Duboscq, 1910

Subordem: Eimeriorina Léger, 1911

Família: Eimeriidae Minchin, 1903

Gênero: *Eimeria* Schneider, 1875

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

naturais são relacionadas à doença clínica apenas esporadicamente (DAUGSCHIES et al., 2004).

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

O gênero *Eimeria* possui um oocisto típico das espécies. A parede do oocisto pode ter um micrópilo, que pode ser coberta por uma tampa micropilar. Dentro do oocisto neste gênero possui quatro esporocistos, cada um contendo dois esporozoítos. Pode haver um grânulo polar retrátil no oocisto, resíduo de oocistos ou um resíduo do esporocisto, estas são compostas de material que sobra após a formação dos esporocistos e esporozoítos. O esporocisto pode ter um botão, o corpo Stieda, numa extremidade. Os esporozoítos são geralmente em forma de linguixa ou vírgula, e pode conter um ou dois glóbulos claros (LEVINE, 1963). O capuz micropilar é comum em *Eimeria*, mas incomum ou ausente em outros gêneros (BERTO et al., 2014).

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

A morfologia dos oocistos, esporocistos, a espécie hospedeira, as estruturas dos estágios endógenos, e sua localização no hospedeiro são utilizadas na diferenciação das

espécies. Entretanto, o critério de identificação mais comumente utilizado na separação das várias espécies é realizado através das características morfológicas dos oocistos (FAYER, 1980). Diferenças na forma dos oocistos podem ser resultantes de infecções maciças. No entanto, o tamanho do oocisto, não é necessariamente constante podendo variar de acordo com o período de patência do protozoário (LONG; JOYNER, 1984). Além disso, é relevante considerar que o tamanho e a forma do oocisto não são necessariamente constantes podendo variar de acordo com o estado de latência, grau de infecção e estado imunológico do animal (JOYNER, 1982).

Os animais parasitados eliminam nas fezes os oocistos na forma não esporulada e, portanto não infectantes. No ambiente o oocisto passa por uma divisão assexuada (esporogonia) e são formados quatro esporocistos contendo dois esporozoítos em cada um deles no seu interior (oocisto esporulado) que é a forma infectante para os animais. Os oocistos esporulados quando ingeridos, junto com água ou alimentos contaminados, por um hospedeiro susceptível vão liberar os esporozoítos que irão invadir as células epiteliais do trato digestivo. Ao penetrarem nas células intestinais, os esporozoítos são denominados trofozoítas, que após sucessivas divisões passa a ser denominado de esquizonte. A célula hospedeira então se rompe e libera os merozoítos, que penetram em novas células intestinais e produzem novas divisões esquizogônicas. Mais de uma esquizogonia podem ocorrer dependendo da espécie. Os merozoítos, formados ao final das divisões esquizogônicas se diferenciam em microgametas (masculino) e macrogameta (feminino), iniciando a reprodução sexuada. Os microgametas rompem a célula hospedeira e vão a uma célula contendo macrogameta e o fecundam. Após a fecundação se inicia a formação do oocisto. Os oocistos formados rompem a célula hospedeira e são eliminados nas fezes na forma de oocisto não esporulado, continuando o ciclo (SEQUEIRA; AMARANTE, 2001).

3.2.2 *Cystoisospora suis*

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa Levine, 1970

Classe: Conoidasida Levine, 1988

Ordem: Eucoccidiorida Léger & Duboscq, 1910

Família: Sarcocystidae Minchin, 1903

Sub-família: Cystoisosporinae

Gênero: *Cystoisospora* (*Isospora*) Frenkel, 1977

Os membros do gênero *Isospora* foram separados e classificados como *Cystoisospora* devido à formação de cistos teciduais em hospedeiros paratênicos, com ciclo heteroxeno obrigatório em roedores (BARTA et al., 2005). Os cistoisospóridios apresentam estágios de desenvolvimento tanto no hospedeiro/específico como no ambiente, durante sua evolução biológica; no hospedeiro, o órgão mais afetado é o intestino delgado, especificamente os enterócitos. Na sua evolução os estágios de desenvolvimento, na fase sexuada produzem um ovo microscópico, que possui forma esférica e mede aproximadamente 20µm de diâmetro, denominado oocisto (MUNDT; KOUDELA, 2005). Existem também estágios extra intestinais, que ocorrem no baço, no fígado e nos linfonodos do suíno, podendo voltar a invadir a mucosa intestinal e causar sintomatologia clínica (URQUHART et al., 2001).

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

A morfologia dos oocistos do *C. suis* possui forma esférica a subesférica, medindo de 19,4 a 22,5µm de diâmetro, com uma cápsula lisa e de camada única, com espessura de 1,5µm. Os oocistos contêm dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos (GONÇALVES, 2008).

Como outras espécies de *Cystoisospora*, *C. suis* se desenvolve inteiramente em um hospedeiro. Imediatamente após a ingestão, os oocistos esporulados são submetidos à excitação e os esporozoítos invadem o epitélio do intestino delgado para se reproduzirem dentro de um vacúolo parasitóforo. A reprodução assexuada (merogonia) tem picos no 4 e 5 dia pós-infecção. Diferente de coccídios do gênero *Eimeria*, as fases da merogonia não são atribuídas a gerações, mas para definir os tipos de oocistos quanto ao número de núcleos,

forma, tamanho, e o tempo de esporulação. A partir do quinto dia, os estágios sexuais maduras podem ser identificados. Após, a fusão para formar um zigoto, o oocisto esporulado é excretado com as fezes e sofre esporogonia fora do hospedeiro, no meio ambiente. *C. suis* completa seu ciclo de vida dentro de 5-6 dias. Os sinais clínicos podem ser vistos a partir de do terceiro dia após a infecção, a eliminação de oocistos normalmente começa no quinto dia. No entanto, estes períodos podem ser diferentes, provavelmente devido à idade e saúde dos leitões, assim como a virulência da cepa do parasita (SHRESTHA et al., 2015).

3.2.3 *Cryptosporidium* spp.

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa Levine, 1970

Classe: Coccidia Levine, 1988

Subclasse: Coccidiasina Leuckart, 1879

Ordem: Eucoccidiorida Léger e Duboscq, 1910

Subordem: Eimeriorina Léger, 1911

Família: Cryptosporidiidae Léger, 1911

Gênero: *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907

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

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

Vários são os fatores que influenciam a epidemiologia desse protozoário, como o tamanho reduzido e variado dos oocistos. Hamnes et al. (2007) examinou amostras fecais de 684 leitões em fase de amamentação de 100 rebanhos suínos de todas as regiões da Noruega, para verificar a presença de *Cryptosporidium* spp., onde 31% do rebanho, com 8,3% dos leitões foram positivos para o parasita. Ryan et al. (2003) coletaram um total de 646 amostras de fezes de suínos pertencentes a 22 fazendas de criação com sistemas de criação rústica e de

confinamento no interior do Oeste da Austrália, para verificar a presença de *Cryptosporidium* spp. e sua prevalência, tendo como resultado uma prevalência de 6,03%, e observaram ainda que *Cryptosporidium* foi mais comum nas amostras oriundas dos rebanhos criados de maneira rústica (17,2%), do que os criados no sistema de confinamento (0,5%). Matos (2009) investigou a ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em leitões com 45 dias de idade em suinoculturas do Município de Araçatuba, São Paulo, Brasil. Amostras fecais de 107 leitões foram colhidas, a ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp., foi observada em 4,7% dos animais.

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

O ciclo biológico é monoxeno, a principal forma de infecção ocorre pela ingestão dos oocistos viáveis presentes na água ou alimentos contaminados. Após a ingestão os oocistos desencistam e os esporozoítos são liberados no intestino delgado e parasitam as células epiteliais do trato gastrointestinal. Nestas células os parasitos realizam reprodução assexuada (esquizogonia ou merogonia) e em seguida a reprodução sexuada (gametogonia), produzindo macrogametas e microgametas. Após a fecundação dos macrogametas pelos microgametas, os oocistos se desenvolvem e esporulam no hospedeiro infectado. Dois diferentes tipos de oocistos são produzidos: oocistos de parede espessa, que comumente são eliminados nas fezes do hospedeiro e oocistos de parede fina que estão envolvidos com a autoinfecção do hospedeiro (PUTIGNANI; MENCHELLA, 2010).

3.3 Patogenia

A diarreia é o principal sinal clínico da coccidiose, as fezes apresentam odor característico e consistência amolecida. Os animais infectados, principalmente os leitões, sofrem com desidratação, definhamento, dificultando assim no seu desenvolvimento. Além da diarreia, outros sinais clínicos podem ser considerados, como a perda de peso, anorexia e atraso no desenvolvimento. A diarreia é o sinal clínico mais comum, no entanto sua causa

deve ser investigada, pois outros agentes infecciosos podem ser responsáveis pela mesma, como bactérias, vírus e inúmeras espécies de protozoários. A infecção por *C. suis* promove a destruição dos enterócitos, que é a causa da diarreia nos animais (PAIVA, 1996).

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

A estrutura das vilosidades é alterada pelo parasitismo, ocorrendo redução do tamanho, fusão das estruturas e necrose. Nos enterócitos, muitas formas endógenas dos coccídios podem ser encontradas, principalmente, merozoítos e merontes, oocistos maduros raramente estão presentes (MORENO et al., 2007). Como resultado, a função digestiva das seções afetadas do intestino é consideravelmente alterada, devido ao quadro de inflamação e necrose intestinal que se estabelecem. Tanto a digestão, quanto a absorção de nutrientes são alteradas. A mucosa intestinal se regenera relativamente rápido, quando a infecção é controlada, entretanto os animais apresentam ganho de peso inferior aos animais não infectados. As células epiteliais tornam-se planas devido à descamação após a infecção com *C. suis* (VANNUCCI; GUEDES, 2009).

A quantidade de oocistos ingeridos pode influenciar no grau das lesões no animal infectado. Leitões com até 20 dias de idade apresentam sinais clínicos mais severos, pois ainda não apresentam imunidade desenvolvida, quanto mais jovem, os leitões mais precoces são as manifestações clínicas, a quantidade de oocistos ingerida também pode ter contribuição nos sinais clínicos (PAIVA, 1996). Muito poucos oocistos são necessários para infectar os leitões. Os oocistos são extremamente resistentes e podem sobreviver por meses ou anos. Apenas 100 oocistos esporulados causam doença severa – em animais suficientemente jovens. O fator determinante é a idade dos leitões – quanto mais jovens, mais susceptíveis eles são e, portanto mais severo é o quadro clínico. Após a terceira semana de vida, a doença não é mais clinicamente relevante (MUNDT; DAUGSCHIES, 2004).

CAPÍTULO 1

INFECÇÃO POR *Eimeria* e *Cystoisospora* EM SUÍNOS NATIVOS DE CRIAÇÃO EXTENSIVA NO MARANHÃO, BRASIL

INFECTION IN PIGS *Eimeria* and *Cystoisospora* NATIVES EXTENSIVE CREATING MARANHÃO, BRAZIL

Thayane Ferreira Fernandes¹; Ana Clara Gomes dos Santos²

RESUMO

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

Palavras-chave: Coccídios; Suínos; Baixada Maranhense.

¹Mestranda em Ciência Animal

²Bolsista Fixação de Doutor/Mestrado em Ciência Animal/UEMA

ABSTRACT

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

Keywords: Coccidia; pigs; Maranhense lowered.

1 INTRODUÇÃO

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

Existe um grande número de espécies de *Eimeria*, no entanto, estas apresentam grande especificidade em relação ao hospedeiro. A patogenicidade depende da espécie e poucas são consideradas suficientemente patogênicas, para desencadear manifestações clínicas da doença (LIMA, 2004). Os oocistos do gênero *Eimeria* em suínos são difíceis de identificar quanto à respectiva espécie em razão das consideráveis alterações morfológicas encontradas em amostras de uma mesma espécie (IMAROM, 1997). Os oocistos de cada espécie são morfológicamente diferentes, mas essencialmente têm características análogas (FORTES, 2004), os mesmos podem ser identificados de acordo com a forma e o tamanho. As formas mais comuns são esférica, oval ou elipsoide, e o tamanho das espécies comuns varia de 15 a 50 μm . O tempo gasto para que ocorra esporulação em condições normais também pode ser usado como parâmetro para identificação (URQUHART et al., 1998).

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

O conhecimento das espécies de oocistos de coccídios intestinais que acometem os suínos nativos e a intensidade da infecção adquirida por esses animais é importante para o conhecimento nutricional, produtivo e reprodutivo dos animais criados de forma rústica na região Baixada Maranhense. Ademais, o desconhecimento quanto à frequência das espécies dos gêneros *Eimeria* e *Cystoisospora* na criação desses animais, assim como aspectos epidemiológicos dos agentes patogênicos podem influenciar negativamente na cadeia de

produção, com déficit econômico. A pesquisa teve como objetivo determinar a frequência e identificar as espécies do gênero *Eimeria* e *Cystoisospora* que acometem suínos nativos de ambos os sexos e diferentes idades, criados extensivamente no Maranhão, durante o período seco e chuvoso.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Baixada Maranhense

A microrregião da Baixada Maranhense é uma das microrregiões do estado do Maranhão pertencente à mesorregião Norte Maranhense, localizada a Oeste e Sudeste da Ilha de São Luís, formada por grandes planícies baixas que alagam na estação das chuvas, criando enormes lagoas entre os meses de janeiro e julho. Essa região se estende por mais de 20.000 km² e abrange cerca de 20 municípios, dentre esses a pesquisa foi realizada no município de Bacurituba (2°42'22" S e 44°44'18" O), que dista 300 km da cidade de São Luís, MA (IBGE, 2008) (Figura 1).



Figura 1 – Baixada Maranhense e município de Bacurituba onde foi realizada a pesquisa de coccídios intestinais parasitas em suínos nativos.

O município de Bacurituba e São Bento é o polo de criação de suínos de forma rústica da Baixada Maranhense, onde criadores de outros municípios criam seus animais na região pelo espaço e alimentos oferecidos no campo, os animais são criados a solta (período seco do ano) sem separação de machos e fêmeas, jovens e adultos, reprodutores e matrizes. A alimentação é baseada em vegetais nativos como tubérculos do Junco Roliço (*Cyperus articulatus*), Aguapé Roxo (*Nymphaea amazonum*) e das sementes da Folha do Campo

(*Thalia geniculata*). Esses animais são “selvagens”, e se alimentam não somente dos vegetais nativos, mas de tudo que o campo disponibiliza como nos lagos (as) a presença de pequenos peixes, crustáceos e restos de animais. Durante o período chuvoso, os animais são levados para os “retiros” (chiqueiro rústico feito de varas e cobertura com palhas de Palmáceas), local constituído de chão batido e os animais permanecem durante o pernoite, durante o dia permanecem no local, onde existem os dejetos, diurese e ficam enlameados, nesse mesmo local recebem alimentação e água.

Esta pesquisa foi protocolada e aprovada sob o nº 021/2014 no Comitê de Ética da Universidade Estadual do Maranhão.

2.2 Coletas das fezes

Foram visitados três retiros no município de Bacurituba, da Baixada Maranhense, no qual a cada coleta foi realizada aleatoriamente, respeitando-se o manejo dos animais pelos criadores, que consistia na venda dos suínos assim que adquiria o peso de engorda. E, antes da coleta das amostras fecais, os suínos nativos foram examinados visualmente, considerando-se alguns sinais/sintomas que se caracteriza um indicativo da coccidiose intestinal; como diarreia, sangue e/ou muco nas fezes, emagrecimento progressivo, anemia, etc. Um total de 180 amostras fecais foi coletado de suínos nativos de idades variadas (30 dias a 54 meses) de ambos os sexos, diretamente da ampola retal, com uso de luvas de procedimento cirúrgico, lubrificadas com vaselina, acondicionadas em caixa isotérmicas e transportadas, sob-refrigeração, para o Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual do Maranhão.

2.3 Processamento das amostras

No laboratório foram pesados 4g de fezes para realizar a técnica de centrífugo-flutuação de acordo com Sheather (1923), com a finalidade de determinar a presença de oocistos das espécies do gênero *Eimeria* e *Cystoisospora*. Após, a confirmação da presença dos oocistos, foi realizado a contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG), considerando se como ponto de corte, animais que apresentassem uma contagem de $OoPG \geq 500$, que foram diluídas em solução 2,5% de Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$), para esporulação e colocadas em placas de Petri, contendo a relação de 1/6 de fezes para 5/6 de solução e colocadas sobre a bancada em $27 \pm 2^\circ C$ e umidade relativa do ambiente $70 \pm 10\%$ por 15 dias para esporulação, em escotofase e aferição diária através de termohigrômetro.

Após, a esporulação dos oocistos, para retirar o excesso da solução de Dicromato de Potássio, as amostras foram colocadas em tubos de centrífuga de 10mL e lavadas com água destilada, em seguida centrifugadas em 1500rpm por 10 minutos pelo menos três vezes, até ficarem totalmente límpidas, a solução foi retirada resultando apenas o sedimento. Esse sedimento foi suspenso pela técnica de centrífugo-flutuação pelo método de Sheather (1923), durante 10min a 1500rpm. O centrifugado foi retirado à parte suspensa em 50µl (2x) colocadas em lâminas microscópicas e leitura em microscopia óptica para detecção dos oocistos esporulados (FIGUEIREDO, 1982). A observação dos oocistos utilizou-se microscópio binocular marca Carl Zeiss (RFA) e Wild M-20 (Suíça) com auxílio de objetiva de 400x com a finalidade de visualizar as estruturas morfológicas. Foram mensurados apenas os oocistos esporulados e íntegros das espécies do gênero *Eimeria* e *Cystoisospora*. Para tanto, foi utilizada uma ocular micrométrica K-15X PZO (Polônia), acoplada ao microscópio binocular Carl Zeiss. Foi mensurado o diâmetro maior (DM) e menor (dm) e calculado o índice morfométrico (IM) ($IM = DM/dm$) dos oocistos e esporocistos, e averiguação da presença e ausência de estruturas morfológicas internas. Para o cálculo das médias e desvio padrão dos DM, dm e IM dos oocistos e esporocistos foi utilizado o software Microsoft Excel 2000®.

Para identificação dos oocistos recuperados utilizou-se como base nos critérios morfométricos adotados por Levine (1963), Soulsby (1987), Rebouças (1992), Gonçalves (2008) e Filho (2004). Os oocistos encontrados foram fotomiografados com auxílio de câmera acoplada ao microscópio.

2.4 Análise estatística

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

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi evidenciado nenhum indicativo de coccidiose nos animais examinados. E, pela análise morfométrica dos oocistos e esporocistos foram identificados quatro espécies do gênero *Eimeria* e uma espécie do gênero *Cystoisospora*, coccídios pertencentes à Família Eimeriidae e Sarcocystidae, respectivamente. Observou-se também que as infecções eram mistas, visto que, esses animais estavam parasitados por mais de uma espécie de coccídios. Após esporulação, os oocistos foram mensurados e identificados. Nas amostras fecais dos suínos nativos, após esporulação foram encontradas durante o período chuvoso, as espécies de *C. suis*, *Eimeria perminuta*, *Eimeria scabra*, *Eimeria debliciecki*, e *Eimeria polita* (Tabela 1). A espécie de maior frequência foi *E. scabra* com 31,8%, enquanto a de menor frequência foi *E. debliciecki* com 11,9%. As espécies *C. suis*, *E. perminuta* e *E. polita*, obtiveram frequência de 26,8%, 16,7% e 12,8%, respectivamente.

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

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

I.M.= Índice morfométrico; µm= micrômetros

A região da Baixada Maranhense possui campos que alagam durante a estação chuvosa, nesse período os suínos nativos ficam confinados em “retiros” em lugares mais elevados durante dia e noite, recebendo alimentação no coxo, no chão e água *ad libitum* “em

balde plásticos, pneus”, sendo que esse local é impróprio, como o solo é muito úmido para manutenção dos mesmos, realizam a evacuação e diurese *in loco*; muitas das vezes alguns animais apresentam diarreia, devido ao estresse e déficit de resistência, permitindo a ação de agentes patogênicos oportunistas (bactérias, vírus, etc.), propiciando também a transmissão da coccidiose, visto que, inexistente o manejo higiênico-sanitário e nutricional, divisão de animais por faixa etária, no qual os suínos adultos e jovens coabitam no mesmo espaço, havendo uma superlotação de animais. Condições estas que o confinamento permite o estresse do animal e a diminuição da resistência imunológica, fatores determinantes para que a doença clínica se exacerbe, propiciando também óbito de animais, principalmente os jovens.

No período seco a espécie de maior frequência foi *E. scabra* com 46,7% e menor frequência *C. suis* com 4,7%. As espécies *E. polita*, *E. deblickei* e *E. perminuta*, apresentaram frequência de 24,5%, 17,9% e 6,2%, respectivamente. As espécies identificadas no período seco e sua análise morfométrica, estão sumarizadas na tabela 2.

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

Espécies	Oocisto (µm)			Esporocisto (µm)		
	Diâmetros		I.M.*	Diâmetros		I.M.*
	Polar	Equatorial		Polar	Equatorial	
<i>C. suis</i>	21,56±2,99	21,56±2,99	1±0	13,79±2,51	8,70±1,78	1,62±0,33
<i>E. perminuta</i>	26,14±3,47	26,14±3,47	1±0	13,27±2,09	10,53±1,94	1,29±0,29
<i>E. scabra</i>	33,26±3,28	25,76±3,27	1,29±0,03	15,13±3,30	11,41±0,82	1,32±0,29
<i>E. deblickei</i>	30,24±2,83	26,49±2,83	1,14±0,01	14,92±2,52	11,39±1,44	1,31±0,22
<i>E. polita</i>	39,06±5,42	27,04±4,29	1,45±0,10	18,13±3,98	11,84±1,43	1,53±0,32

I.M.= Índice morfométrico; µm= micrômetros

Durante o período seco, os suínos são criados a solta nos campos, onde realizam longas caminhadas em buscar dos alimentos, onde reviram a terra para se alimentar de tubérculos de vegetais nativos da região, como tubérculos do Junco Roliço (*Cyperus*

articulatus), Aguapé Roxo (*Nymphaea amazonum*) e das sementes da Folha do Campo (*Thalia geniculata*). Em alguns locais dos campos, região mais baixa, existe lagos (as) e açudes, no qual são utilizados para beber água, e também para se alimentarem de peixes nativos (*Hoplias malabaricus* (traíra), *Hoplerythrinus unitaeniatus* (jeju), caramujos, etc.

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

As espécies encontradas na pesquisa foram caracterizadas como:

***Cystoisospora suis* Biester, 1934**

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

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

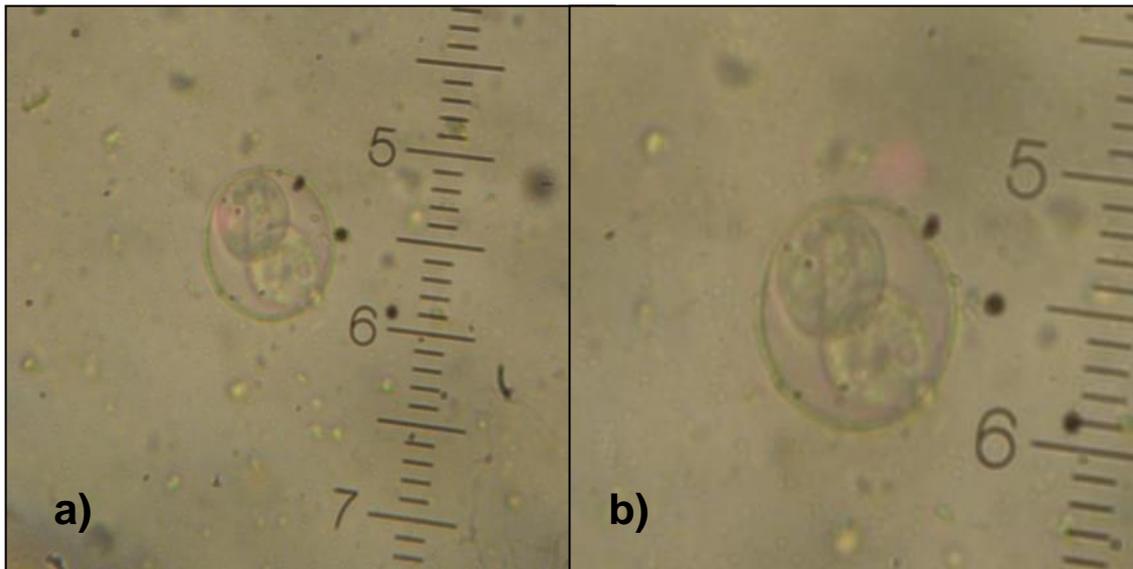


Figura 2 - Micrografia de oocisto esporulado de *Cystoisospora suis*: a) 100x; b) 400x, recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.

***Eimeria perminuta* Yakimoff, 1936**

Os oocistos mediram $22,93 \pm 3,62 \mu\text{m}$ x $22,93 \pm 3,62 \mu\text{m}$ para seu diâmetro polar e equatorial, respectivamente, apresentando índice morfométrico de $1,00 \pm 0$. Apresentou na forma esférica, coloração amarelada a transparente, ausência de micrópilo e resíduos, com parede dupla de aspecto áspero. O valor do DM mínimo encontrado foi de $15 \mu\text{m}$ e máximo $37,5 \mu\text{m}$, para o dm o valor mínimo foi de $15 \mu\text{m}$ e máximo $37,5 \mu\text{m}$. Os quatro esporocistos apresentaram, respectivamente, para o diâmetro polar e equatorial $12,89 \pm 2,2 \mu\text{m}$ por $8,95 \pm 1,90 \mu\text{m}$, com índice morfométrico de $1,49 \pm 0,37$. Apresentaram forma esférica a elíptica e ausência de grânulo polar. O valor do DM mínimo achado foi de $7,5 \mu\text{m}$ e máximo de $18,75 \mu\text{m}$, para o dm o valor mínimo foi $7,5 \mu\text{m}$ e máximo $15 \mu\text{m}$ (Figura 3).

O valor do DM e dm do oocisto foi acima do encontrado por Levine (1963) e Soulsby (1987); no entanto, o aspecto morfológico do oocisto observado nesse estudo foi semelhante ao encontrado por Levine (1963), que afirmou que os oocisto apresentam variação na morfologia de esférico a elipsoidal. Entretanto, ao se comparar com os dados de Soulsby (1987) apresentou diferença morfológica.

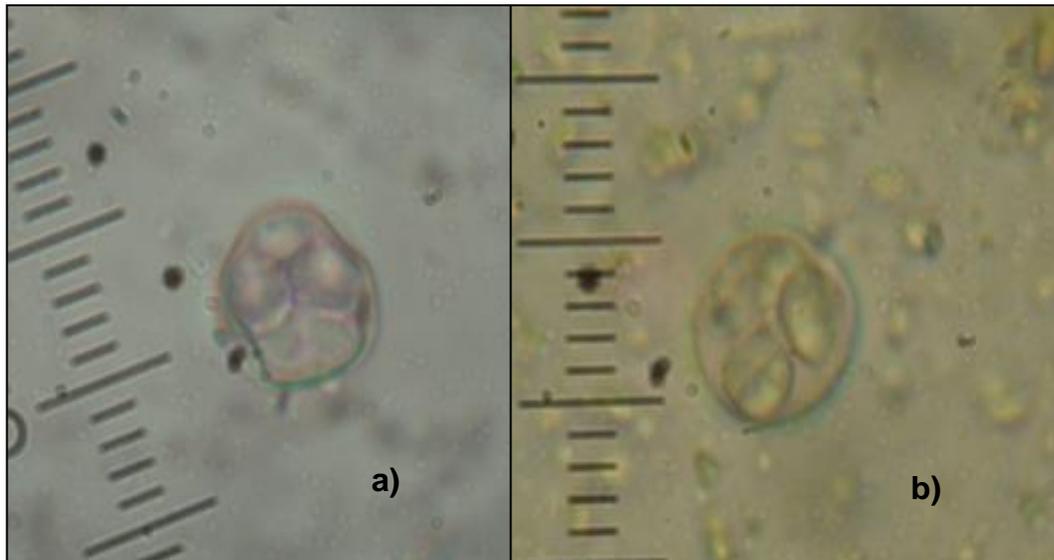


Figura 3 - Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria perminuta*: a) 100x; b) 100x, recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.

***Eimeria scabra* Henry, 1931**

Os oocistos mediram $32,99 \pm 3,42 \mu\text{m}$ x $25,31 \pm 3,34 \mu\text{m}$ para o diâmetro polar e equatorial, respectivamente, com índice morfométrico de $1,30 \pm 0,06$. Apresentou formato ovóide, coloração transparente, dupla parede grossa e de aparência lisa, micrópilo presente em alguns oocistos mensurados e ausência de resíduos. O valor do DM mínimo encontrado foi de $22,5 \mu\text{m}$ e máximo $48,75 \mu\text{m}$, para o dm o valor mínimo encontrado foi de $18,75 \mu\text{m}$ e máximo de $41,25 \mu\text{m}$. Os esporocistos mediram $14,78 \pm 3,40 \mu\text{m}$ x $11,37 \pm 1,06 \mu\text{m}$ para o diâmetro polar equatorial, respectivamente, com índice morfométrico de $1,30 \pm 0,29$, apresentando forma esférica a elíptica, alguns com presença de grânulo polar. O valor do DM mínimo achado foi de $11,25 \mu\text{m}$ e máximo de $26,25 \mu\text{m}$, para o dm o valor mínimo foi $7,5 \mu\text{m}$ e máximo $18,75 \mu\text{m}$ (Figura 4).

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

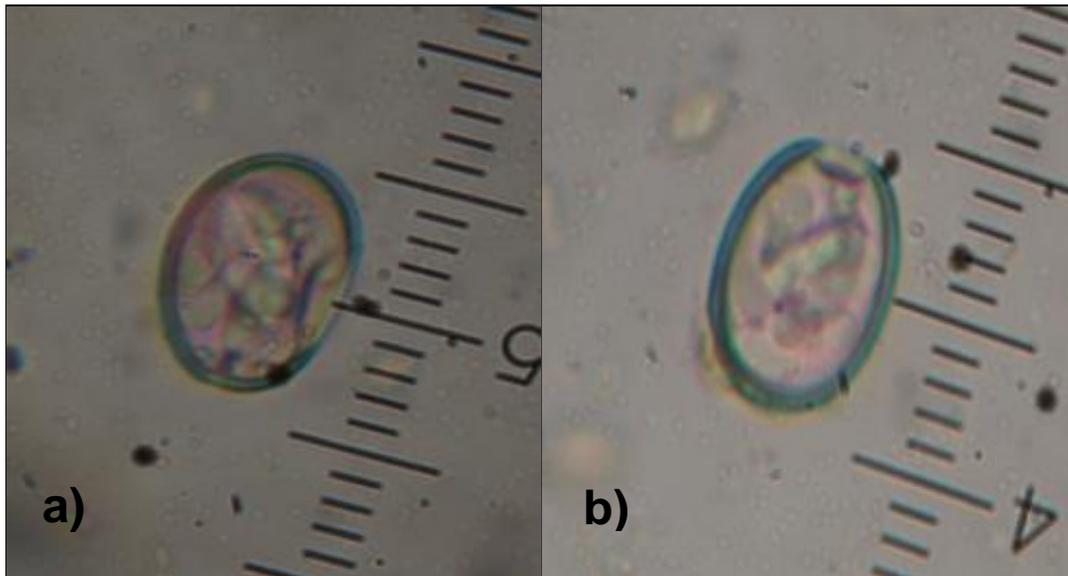


Figura 4 - Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria scabra*, oocisto sem a presença da micrópila (a) 400x e com a micrópila (b) 400x, recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.

***Eimeria deblickei* Douwes, 1921**

Os oocistos mediram $29,67 \pm 3,01 \mu\text{m}$ x $25,97 \pm 2,99 \mu\text{m}$ para o diâmetro polar e equatorial, respectivamente, com índice morfométrico de $1,14 \pm 0,02$. Apresentou forma subesférica, parede dupla de aspecto lisa, coloração transparente, resíduos ausentes, micrópilo presente em alguns oocistos mensurados. O valor do DM mínimo encontrado foi de $18,75 \mu\text{m}$ e máximo $41,25 \mu\text{m}$, para o dm o valor mínimo encontrado foi de $15 \mu\text{m}$ e máximo de $37,5 \mu\text{m}$. Os esporocistos mediram respectivamente para o diâmetro polar e equatorial, $14,48 \pm 2,78 \mu\text{m}$ por $11,15 \pm 1,34 \mu\text{m}$, com índice morfométrico de $1,31 \pm 0,26$, apresentando formato esférico e granulo polar ausente. O valor do DM mínimo achado foi de $11,25 \mu\text{m}$ e máximo de $22,5 \mu\text{m}$, para o dm o valor mínimo foi $7,5 \mu\text{m}$ e máximo $15 \mu\text{m}$ (Figura 5).

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

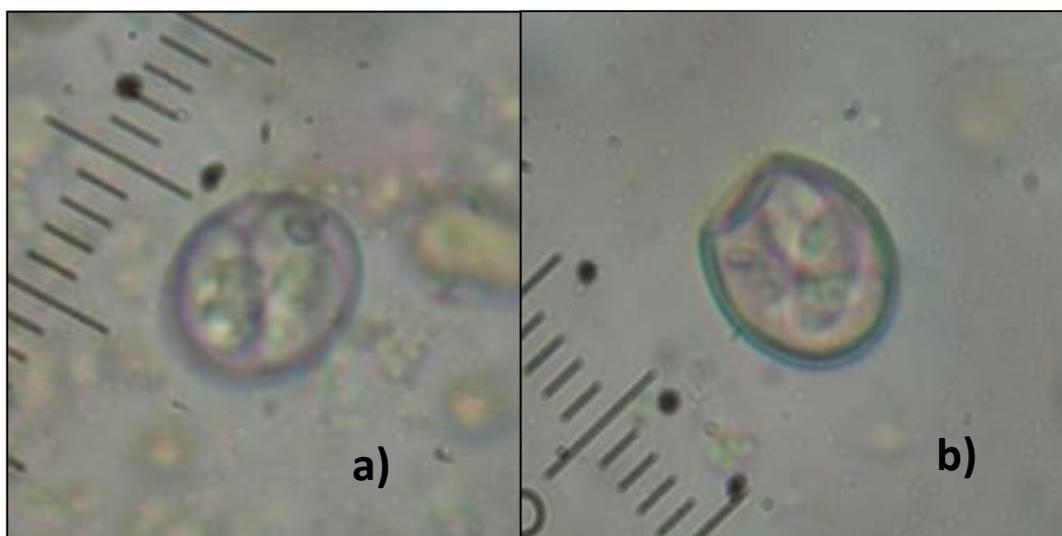


Figura 5 - Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria deblickei*, oocisto sem a presença da micrópila (a) (400x) e com a micrópila (b) (400x), recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.

***Eimeria polita* Pellérdy, 1949**

Os oocistos mediram $39,46 \pm 5,82 \mu\text{m}$ x $27,19 \pm 4,80 \mu\text{m}$ para o diâmetro polar e equatorial, respectivamente, com índice morfométrico de $1,46 \pm 0,11$, que apresentaram forma elipsóide, coloração transparente a amarelada, resíduos ausentes, com parede dupla e de aparência lisa e micrópilo presente em alguns oocistos. O valor do DM mínimo encontrado foi de $30 \mu\text{m}$ e máximo $52,5 \mu\text{m}$, para o dm o valor mínimo encontrado foi de $18,75 \mu\text{m}$ e máximo de $40 \mu\text{m}$. Os quatro esporocistos mediram para o diâmetro polar e equatorial respectivamente, $18,23 \pm 4,55 \mu\text{m}$ por $11,89 \pm 1,68 \mu\text{m}$, com índice morfométrico de $1,53 \pm 0,34$, apresentando formatos elipsóides e presença de grânulo polar. O valor do DM mínimo encontrado foi de $11,25 \mu\text{m}$ e máximo $33,75 \mu\text{m}$, para o dm o valor mínimo encontrado foi de $7,5 \mu\text{m}$ e máximo de $18,75 \mu\text{m}$ (Figura 6).

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

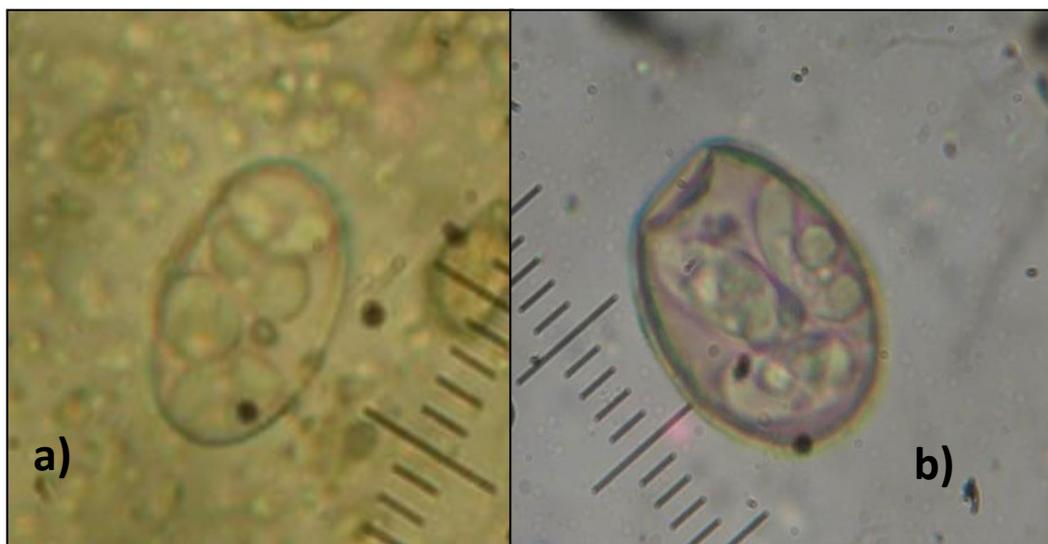


Figura 6 - Micrografia de oocisto esporulado de *Eimeria polita*, oocisto sem a presença da micrópila (a) (400x) e com a micrópila (b) (400x), recuperado nas fezes de suínos nativos da Baixada Maranhense.

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

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

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

As espécies identificadas no presente estudo foram encontradas por outros autores em regiões diferentes do Brasil e do mundo, mostrando como esses parasitas podem se disseminar em ambientes/ecossistemas diversos. Ramirez et al. (2008) encontrou as espécies *E. scabra*, *E. polita*, *E. deblickei*, *E. porci*, *E. neodeblickei*, *E. suis* e *C. suis*. no município de Rio Claro, microrregião do Vale do Paraíba, Sul Fluminense, (RJ), onde os suínos eram criados de forma rústica. Filho et al. (2004) ao identificar espécies do gênero *Eimeria* em suínos criados em condições rústicas no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, encontrou as espécies *E. neodeblickei*, *E. scabra* e *E. polita*. Pinto et al. (2007) ao verificar a ocorrência de endoparasitoses em suínos criados à solta na periferia de Itabuna na Bahia, encontraram 70% de suínos parasitados com oocistos de coccídios (*Eimeria* sp. e *Cystoisospora* sp.). Nishi et al. (2000) encontraram 22,8% de coccídios em suínos no Estado de Minas Gerais e 13,7% em suínos em São Paulo.

D'Alencar et al. (2006) acharam apenas 1,60% dos suínos infectados por coccídios, no qual 0,71% para o gênero *Eimeria* e 0,44% para *C. suis* no município de Camaragibe, em Pernambuco. Essa baixa prevalência encontrada pelos autores pode ser explicada pelo sistema de criação dos animais, que foi o regime confinado, onde os animais tinham alimentação, medicação e manejo adequado, o que diminui o índice de infecção por coccídios.

Hamadejova et al. (2005) encontrou a prevalência de 24,8% de *C. suis* em leitões da República Tcheca, onde a frequência foi maior no outono e menor no verão. Prevalência semelhante foi achada por Karamon et al. (2007), em que 27,8% dos leitões em fazendas da Polônia apresentaram *C. suis* e *E. deblickei* (1,4%), *E. suis* (0,4%) e *E. polita* (1,9%). O mesmo autor ainda afirma que o sistema de produção, as condições de criação e o estado de higiene em granjas de suínos também podem ter um impacto sobre algumas diferenças na prevalência de infecções de coccídios em leitões. Chae et al. (1998) encontraram a maior frequência de Isosporose em rebanhos suínos nos meses de verão, quando a temperatura nas baias acelera a esporulação dos oocistos. Leon (2009) encontrou uma prevalência de 31,9% de *C. suis* em leitões de até duas semanas de idade em suinoculturas intensivas localizadas no Estado de Aragua, Venezuela.

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

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

Os dados climáticos de temperatura média (24h) e pluviosidade acumulada (24h) dos municípios pertencentes à Baixada Maranhense demonstraram que nos meses do ano de 2013 houve uma variação entre 30,5 a 31,5 °C. Em 2014 apresentou temperaturas abaixo de 30°C nos meses de outubro a dezembro; enquanto, os meses anteriores (janeiro a agosto) foram acima de 30°C com variação até 31,5°C. E, no ano de 2015, somente o mês de janeiro apresentou a média de 29,8°C, e a partir de fevereiro essa temperatura foi constante sem nenhuma variação, até o mês de outubro do referido ano (31,3°C), portanto considera-se que a temperatura anual da região da Baixada Maranhense é elevada (Figura 7A).

Quanto à pluviosidade foi observado, que durante os meses de janeiro a julho do período de 2013 a 2014 houveram chuvas espaçadas, sendo que no ano de 2014 e 2015 obtiveram maiores picos de chuvas no mês de maio, para ambos. Entretanto, no ano de 2015 houve chuvas no mês de março e maio. A partir de agosto até dezembro de 2013 a 2015 não ocorreram chuvas, durante esses períodos; observando-se a existência cíclica das chuvas, isto é, início do período seco do ano. A Baixada Maranhense apresenta períodos de variabilidade, escarces de chuvas e períodos isentos de chuva (Figura 7B).

Essas características principais do clima da Baixada Maranhense, é a presença de dois períodos distintos: um chuvoso e outro de seca, além da seca seguida de estiagem, aparentando paisagens diferenciadas do local, em função da sazonalidade. Segundo Silva (2007), o município de Pinheiro apresenta clima quente e úmido, com duas estações climáticas bem definidas: a estação de estiagem entre os meses de agosto e dezembro e a estação chuvosa, de janeiro a julho com índices pluviométricos em torno de 2000 a 2400 mm/ano, com temperatura anual entre 26°C a 32°C e umidade relativa do ar variando entre 79 e 82%. Durante a pesquisa realizada pelo autor citado anteriormente, a subestação Meteorológica estava localizada no município de Pinheiro, MA, portanto, estes dados são acreditados considerando-se a proximidade do município de Bacurituba, MA da realização da pesquisa, onde os dados meteorológicos são similares.

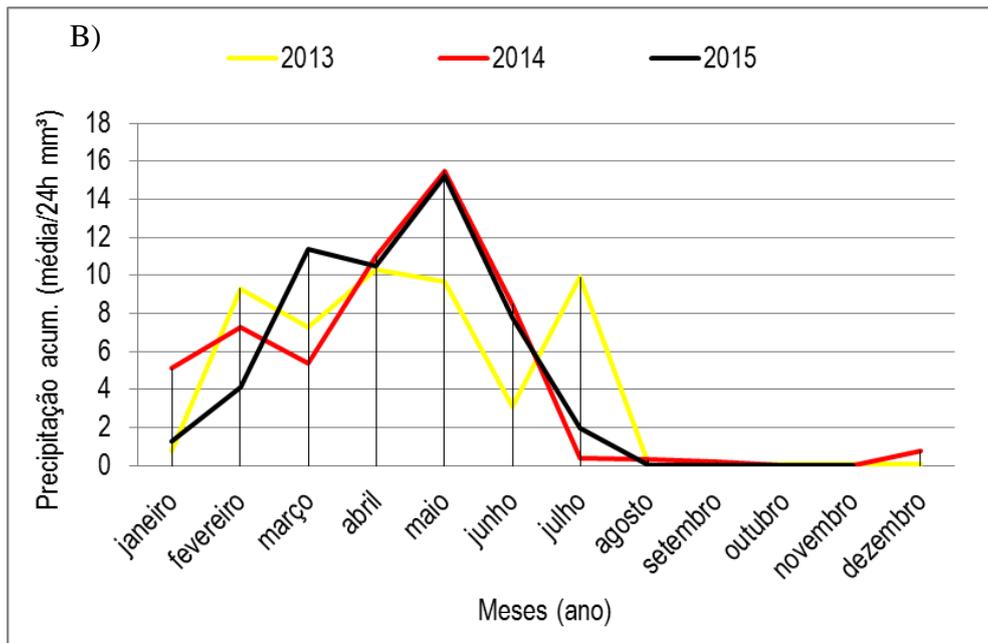
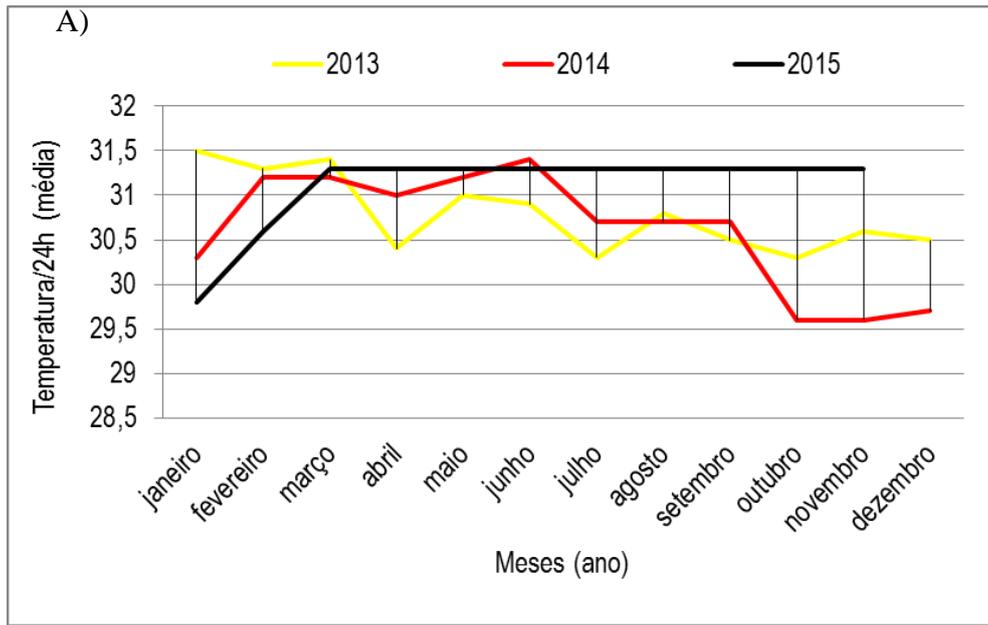


Figura 7 – A) Valores médios da temperatura (°C); B) Pluviosidade acumulada (mm³), período de 2013 a 2015, da Baixada Maranhense.

Fonte: Município de Alcântara (02°20' S; 44°24' W) com Alt. 56m. NUGEO/UEMA.

Valores médios do OoPG encontrados apresentaram uma variação de 770 a 1390 (período seco) e 523,33 a 673,33 (período chuvoso), demonstrando assim que houve interferência durante o período seco, com quantitativos elevados de OoPG. Entretanto, quanto ao período, os animais estavam menos parasitados, isto é, eliminavam oocisto em menor quantidade durante o período chuvoso do que no período seco. Esse evento deve-se ao manejo dos animais realizados pelos criadores da região, que mantem os animais confinados em retiros durante o período das chuvas, com alimentação e água *ad libitum*, fato este, que inexistente déficit de energia, isto é, os animais não apresentam desperdício de energia, pois não realizam longas caminhadas à procura de alimento; portanto ocorre um equilíbrio fisiológico entre parasito/hospedeiro (Figura 8).

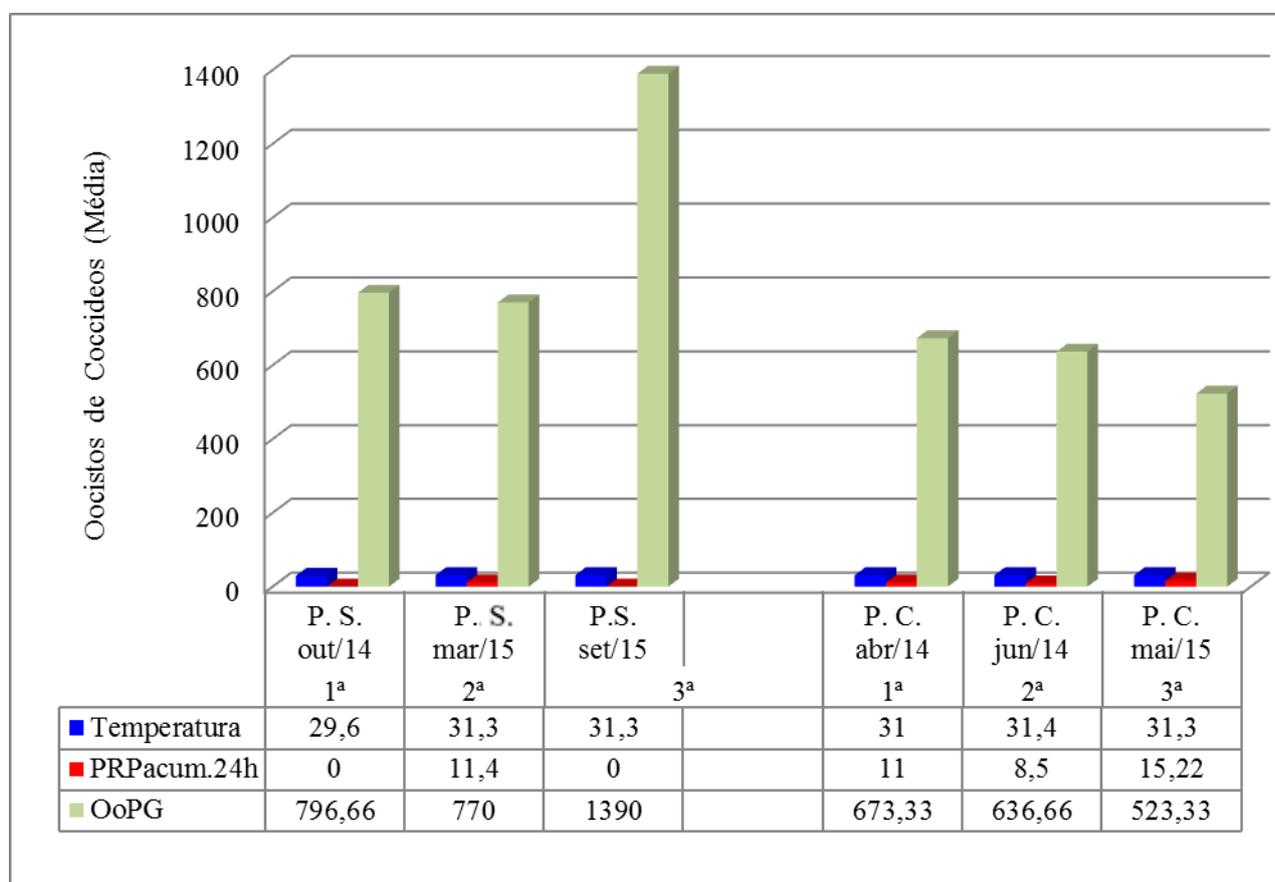


Figura 8 – Valores médios de temperatura, pluviosidade e OoPG de coccídios de suínos nativos da Baixada Maranhense, durante o período seco e chuvoso de 2014 a 2015.

Fonte: Município de Alcântara (02°20' S; 44°24' W com Alt. 56. NUGEO/UEMA

A maior carga parasitaria observada foi durante o período seco, devido aos animais ter que se deslocar em longas caminhadas em busca de alimento, realizando um elevado gasto energético, ocasionando assim um desequilíbrio no organismo e

desestabilizando o sistema imune, facilitando a infecção por coccídios e/ou outras enfermidades infecciosas por bactérias, vírus ou então as metabólicas.

Quando se comparou o parasitismo dos coccídios intestinais nos suínos nativos durante o período seco e chuvoso, independente da idade e do sexo. Quanto aos animais adultos foi observado que as fêmeas estavam mais parasitadas do que os machos ($P>0,05$). E ao se comparar as fêmeas adultas com os machos jovens, também ocorreu o mesmo evento, isto é, as fêmeas adultas tinham maior parasitismo ($P>1,000$), apesar do elevado parasitismo, não houve diferença estatística entre estes, pelo teste do Qui-quadrado. Entretanto, na comparação com as fêmeas jovens, houve diferença estatística significativa ($P<0,0337$). Quanto, aos animais jovens, nem o sexo e a idade não foram determinante para a presença da infecção por coccídio, isto é, na análise estatística não foi verificada diferença estatística significativa ($P>0,2218$).

Podemos inferir na pesquisa realizada nos suínos nativos da Baixada Maranhense demonstraram que os machos adultos apresentaram menor parasitismo, tanto no período seco como no chuvoso, em comparação as fêmeas adultas e jovens; assim como os machos jovens. Isto se deve ao manejo reprodutivo, visto que, os machos adultos geralmente são em menor quantidade nas criações suinícolas da região; já os machos jovens permanecem mais tempo juntos as matrizes, até o descarte e/ou a castração para a engorda e comercialização.

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

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

Letras minúsculas iguais na horizontal não diferem entre si pelo Teste do Qui-Quadrado e teste de Tukey ($P>0,05$; $P>1,000$). Valor do Teste Qui-quadrado calculado = 0,87 OR= 0,9098; IC (95%) = 0,4978 - 1,663

4 CONCLUSÃO

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

REFERÊNCIAS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

TENTER, A.M.; BARTA, J.R.; BEVERIDGE, I.; DUSZYNSKI, D.W.; MEHLHORN, H.; MORRISON, D.A.; THOMPSON, R.C.A.; CONRAD, P.A. The conceptual basis for a new

classification of the coccidia. **International Journal for Parasitology**; v. 32, p. 595-616. 2002.

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

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

CAPÍTULO 2

FREQUÊNCIA DE *Cryptosporidium* spp. EM SUÍNOS NATURALIZADOS DE CRIAÇÃO EXTENSIVA EM CAMPOS ALAGADOS NO MARANHÃO, BRASIL

FREQUENCY OF *Cryptosporidium* spp. IN SWINE CREATION OF NATURALIZED EXTENSIVE IN THE FLOODPLAINS MARANHÃO, BRAZIL

Thayane Ferreira Fernandes¹; Ana Clara Gomes dos Santos²

RESUMO

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

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

¹Mestranda em Ciência Animal

²Bolsista Fixação de Doutor/Mestrado em Ciência Animal/UEMA

ABSTRACT

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

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

1 INTRODUÇÃO

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

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

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

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

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

investigação das coccidioses contribuirá com o desenvolvimento humano e, conseqüentemente, do Estado, sendo também que ocorre a inexistência de informações a respeito das doenças parasitárias que acometem os suínos nativos, o que dificulta a adoção de medidas de controle. O objetivo do trabalho foi verificar a frequência de *Cryptosporidium* spp. em suínos naturalizados de criação extensiva em campos alagados no Maranhão.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Processamento das amostras fecais

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

Esta pesquisa foi protocolada e aprovada sob o nº 021/2014 no Comitê de Ética da Universidade Estadual do Maranhão.

2.2 Preparação das lâminas

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

2.3 Leitura das lâminas

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

2.4 Análise estatística

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

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

Nesse estudo foi observado que os animais jovens foram mais susceptíveis a *Cryptosporidium* spp., assim como as fêmeas adultas, provavelmente pelo contato direto desses animais durante a amamentação e o período de cria, ocorrendo assim à transmissão direta. A maior frequência de positividade para oocistos de *Cryptosporidium* spp. foi observada nos machos jovens com de 8,9%, seguido das fêmeas adultas e jovens com 7,8% e 6,1%, respectivamente, e os machos adultos com 3,9%.

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

Analisando o parasitismo por *Cryptosporidium* spp. em suínos nativos comparando ao sexo e idade foi verificado através do Teste de Fisher que não existe associação do parasito em relação as variáveis estudadas (P=0,0894), provavelmente pela coabitação desses animais estarem sempre juntos, nos campos em pastejo “soltos”, em busca dos alimentos durante o período seco ou quando estão nos “retiros” durante o período das chuvas, no qual permanecem confinados, dividindo o mesmo espaço (Tabela 1). Demonstrando assim que a transmissão do parasito é feita de forma direta, principalmente

pelos manejos adotados pelos criadores, sem separação por faixa de idade e também a falta de higiene das instalações, considerando-se que esses animais são mantidos em piso de chão batido, no qual possui os dejetos e diurese dos mesmos.

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

Sexo	Animais positivos		Total
	Adulto (%)	Jovem (%)	
Macho	7 (30,52) a	16 (69,48) a	23
Fêmea	14 (56,00) a	11 (44,00) a	25
Total	21 (43,75)	27 (56,25)	48

Letras minúsculas iguais na horizontal não diferem entre si pelo Teste de Fisher ($P < 0,05$) Valor do Teste de Fisher ($P = 0,0894$) = *n.sig.*; OR= 0,3438; IC= 0,1047 – 1,129

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

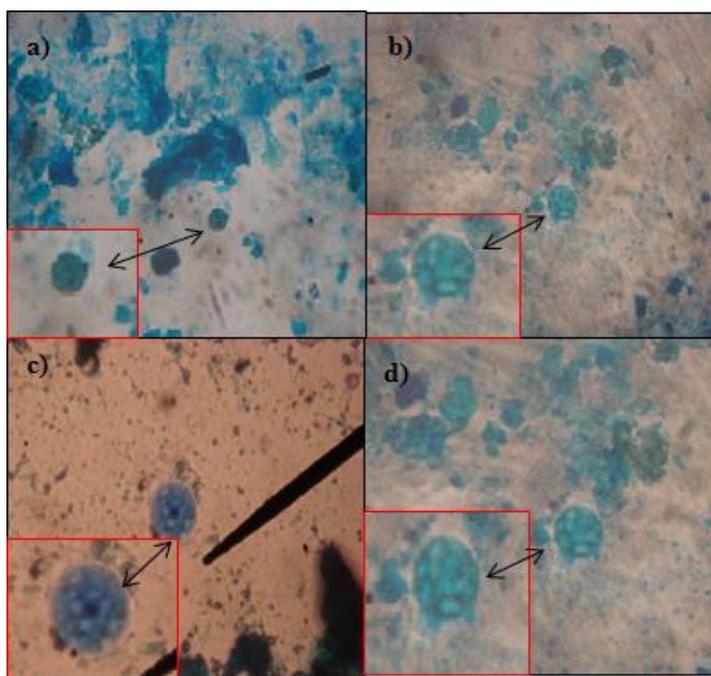


Figura 1 – Micrografia de oocisto de *Cryptosporidium* spp. (seta) obtido de fezes de suínos, corado pela técnica de Ziehl-Neelsen, contra-corante de Verde Malaquita (RIBEIRO, 2015) equivalente a $5\mu\text{m}$: a) 10x; b, c) 40x; d) 100x.

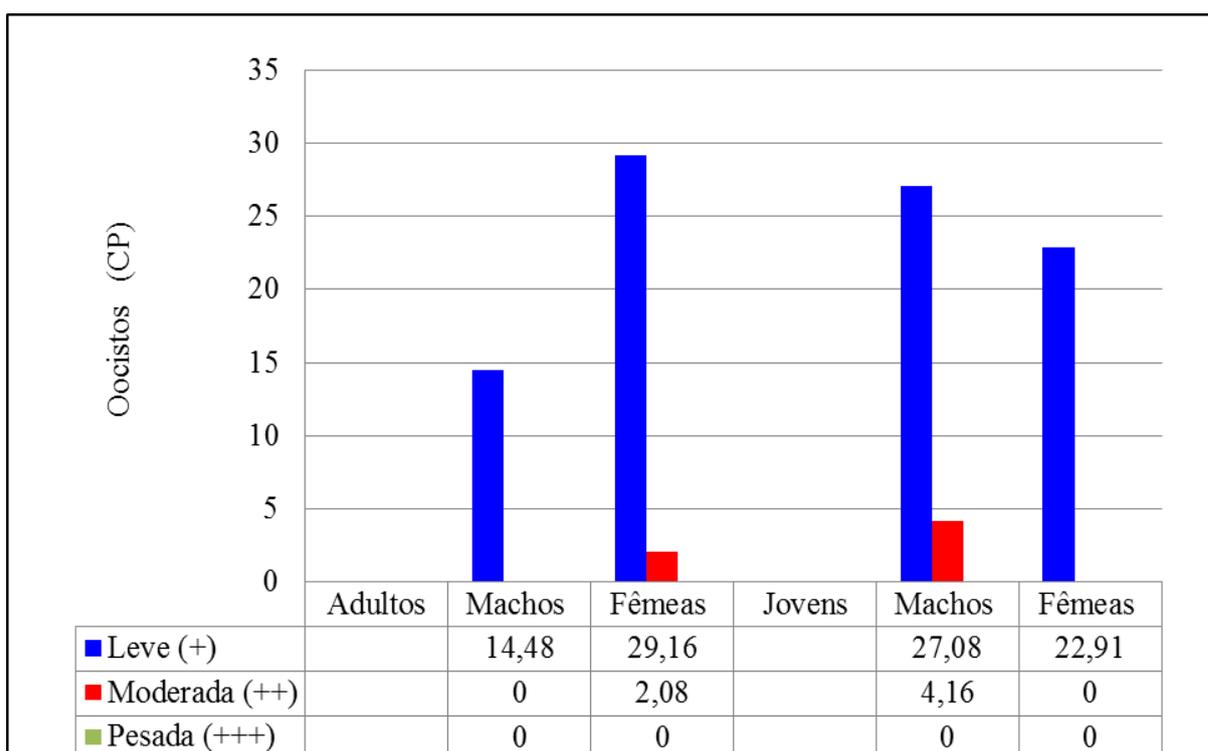


Figura 2 – Prevalência de suínos nativos da Baixada Maranhense que apresentaram carga parasitária com oocisto de *Cryptosporidium* spp., período de 2014 a 2015.

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

Devido à excreção irregular e distribuição heterogênea de oocistos de coccídios oportunistas nas amostras de fezes de hospedeiros infectados, é recomendado que as amostras fossem concentradas por métodos de flutuação ou sedimentação, antes da coloração de esfregaço fecal (HUBER; BONFIM; GOMES, 2004). Os animais jovens são mais susceptíveis à infecção e doença, enquanto as infecções em animais adultos são frequentemente assintomáticas ou não ocorrem (RAMIREZ, 2004).

Tomass et al. (2013) verificaram ao investigar a prevalência de parasitas gastrintestinais e espécies de *Cryptosporidium* em suínos administrados extensivamente em Mekelle e áreas urbanas da zona Sul da região de Tigre, na Etiópia, que não houve associação significativa entre sexo e prevalência de parasitas, contudo, idade de suínos teve efeito sobre a

prevalência dos parasitas, onde cerca de 7% dos suínos examinados foram positivos para oocistos de *Cryptosporidium* spp.

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

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

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

Na região da Baixada Maranhense, nos campos os criatórios são denominados “retiros” onde funciona o centro de manejo, geralmente formado por uma instalação rústica (chiqueiro) que tem como finalidade abrigar os animais para pernoite, ocorrendo durante o período chuvoso (BORGES, 2006). As propriedades visitadas nesse estudo possuem criações rústicas de suínos localizadas distante das residências dos donos (criadores). Os criadores relataram: que não há acompanhamento Veterinário, que os mesmos realizam o cuidado necessário dos animais, que não separam os animais por faixa etária e sexo, que não aplicam nenhum vermífugo ou qualquer anti-parasitário, nenhuma medicação, e se aplicam não tem qualquer critério de intervalos entre as aplicações. Isso demonstra que não existe nenhuma assistência e orientação Veterinária ou de Técnico Agrícola nas criações dos suínos da região, portanto existem vários fatores na cadeia de transmissão entre os animais; dentre estas, o acesso aos lagos (as) e açudes, em coabitação com outras espécies de animais, durante o período de seca é propício a transmissão direta dos oocistos de *Cryptosporidium* spp. pela ingestão da água contaminada pelos dejetos dos animais.

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

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

Na região, possui campos planos que alagam no período chuvoso, existe a criação de diversos animais nessa região, que coabitam, frequentando o lagos (as), açudes e rios, como os bovinos, bubalinos, equinos, asininos, caprinos, ovinos, roedores, felídeos, canídeos, aves migratórias, quelônios e batráquios, essa aglomeração de diversos animais juntos pode favorecer a transmissão e disseminação de doenças entre eles, onde os oocistos de *Cryptosporidium* spp. dos suínos podem ser transmitidos para os demais animais criados na localidade e vice e versa, ocorrendo a cadeia horizontal de transmissão.

De acordo com Fayer et al. (2000), o *Cryptosporidium* spp. está amplamente disperso no ambiente aquático, podendo estar presentes em rios, lagos, reservatórios, águas subterrâneas e marinhas, onde as fezes depositadas sobre o solo está sujeita ao transporte dos oocistos pela água, ainda em alguns casos, os animais podem contribuir para a circulação dos oocistos. Deve-se também observar a importância de *Cryptosporidium* spp. na transmissão para o homem, já que os criadores da região da Baixada Maranhense estão em contato frequente com os animais, a importância desse parasito se deve também ao seu potencial zoonótico. A prevalência da doença é variável e é dependente de muitos fatores que interferem na sua ocorrência destacando-se entre eles a idade, os hábitos e os costumes das

populações, a época do ano, a área geográfica, a densidade populacional, o estado nutricional da população e o estado de imunocompetência dos indivíduos (NEVES, 2005). Sousa (2015) encontrou a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em água utilizada no abastecimento das residências no município de Imperatriz, no Maranhão, com incidência de 88,64%, representando um fator importante para a transmissão do parasita para o homem e o desenvolvimento da doença.

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

4 CONCLUSÃO

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

REFERÊNCIAS

- BILIC, H.R.; BILKEI, G. *Balantidium*, *Cryptosporidium* and *Giardia* species infections in indoor and outdoor pig production units in Croatia. **Veterinary Record**, v.158, n.2, p.61, 2006.
- BORGES, A.J.S. Aspectos gerais da criação de suínos nos campos naturais dos municípios de São Bento e Bacurituba – MA. São Luís, 2006. 46f. *Monografia* (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2006.
- DURO, L.S.L.S. Parasitismo gastrointestinal em animais da quinta pedagógica dos Olivais. Especial referência aos mamíferos ungulados, 2010. 155f. *Dissertação* (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, 2010.
- FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S.J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.12-13, 2000.
- FIUZA, V.R.S.; COSENDEY, R.I.J.; OLIVEIRA, F.C.R. Criptosporidiose suína associada aos sistemas de produção no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, p. 224-229. 2008.
- FIUZA, V.R.S.; COSENDEY, R.I. J.; PIMENTEL, F.F.; OLIVEIRA, F.C.R. *Cryptosporidium* spp. em suínos de granjas familiares e tecnificadas das regiões norte e noroeste do Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 2, p. 356-365. 2009.
- GONÇALVES, L.R. Frequência de endoparasitos e considerações sobre as espécies do gênero *Eimeria* schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) em suínos do município de Rio Claro, microrregião do Vale do Paraíba sul fluminense, Estado do Rio de Janeiro. 2008. 72p. *Dissertação* (Mestrado em Microbiologia Veterinária) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.
- HAMNES, I.S.; GJERDE, B.K.; FORBERG, T.; ROBERTSON, L.J.; Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in sucking piglets in Norway. **Veterinary Parasitology**, v. 144, n. 3-4, p. 222-233, 2007.
- HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. Sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. **Journal Public Health**, v. 9, p. 283-98, 1934.
- HUBER, F.; BONFIM, T.C.; GOMES, R.S. Comparação da eficiência da coloração pelo método da Safranina a quente e da técnica de centrífugo-flutuação na detecção de oocistos de *Cryptosporidium* em amostras fecais de animais domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n.2, p. 81-84, 2004.
- JOHNSON, J.; BUDDLE, R.; REID, S.; ARMSON, A.; RYAN, U.M. Prevalence of *Cryptosporidium* genotypes in pre and post-weaned pigs in Australia. **Experimental Parasitology**, v. 119, p. 418–421. 2008.

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

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

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

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

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

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

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

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

RIBEIRO, C.M. *Enfermidades parasitárias por protozoários em pequenos animais*. 1ed – Rio de Janeiro: Rubio. 2015, 149p.

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

SOUSA, T. M. Incidência de *Cryptosporidium* sp. na água de domicílios do município de Imperatriz, estado do Maranhão, Brasil. 2015. 63p. *Monografia* (Graduação em Ciências Biológicas), Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão, Imperatriz, MA, 2015.

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

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

VÍTOVEC, J. HAMADEJOVA, K.; LANDOVA, L; KVAC, M.; KVETONOVA, D.; SAK, B. Prevalence and pathogenicity of *Cryptosporidium suis* in pre-and post-weaned pigs. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 54, p. 239-243, 2006.

WIELER, L.H., ILIEFF, A., HERBST, W., BAUER, C., WIELER, E., BAUERFEIND, R., FAILING, K., KLOS, H., WENGERT, D., BAJER, G., ZAHNER, H. Prevalence of enteropathogens in suckling and weaned piglets with diarrhoea in southern Germany. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 48, p. 151–159. 2001.

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

CAPÍTULO 3

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

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

Thayane Ferreira Fernandes¹; Ana Clara Gomes dos Santos²

RESUMO

As parasitoses, um dos mais antigos problemas de saúde presentes em fases da exploração suinícola, representam um dos fatores limitantes das criações. O objetivo da pesquisa foi realizar a comparação de técnicas coproparasitológicas qualitativas pelo método de Willis-Mollay (1921), Sheather (1923) e de sedimentação simples de Hoffman, Pons e Janer (1934), para determinar a melhor concentração de oocistos no diagnóstico da coccidiose; assim como também foi realizado o método quantitativo de Gordon Whitlock (1939), para determinar o grau de parasitismo dos suínos nativos da Baixada Maranhense, considerando o período seco e chuvoso. A pesquisa foi realizada no município de Bacurituba. Um total de 180 amostras fecais de suínos nativos foi coletado diretamente da ampola retal e levada ao Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual do Maranhão, para pesquisa dos oocistos, pelas técnicas qualitativas de Willis-Mollay (1921), Sheather (1923) e método Hoffman, Pons e Janer (1934), e para a carga parasitária foi realizado a contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG), pelo método de Gordon Whitlock modificado (1939). Os suínos examinados apresentaram 92,7% de positividade para a presença de oocistos. O estudo de comparação dentre as técnicas, a técnica de Sheather apresentou maior eficácia na concentração de oocistos, com variação de frequência de 67,19% a 96,08% para o período seco; e 75,93% a 93,57% para o período chuvoso. Os suínos jovens estavam mais parasitados do que os adultos. Na comparação entre as técnicas qualitativas foi verificado que a de Sheather foi superior na concentração de oocistos, tanto no período seco como no chuvoso ($P < 0,0001$). E, a correlação entre as técnicas apresentaram positiva ($R^2 = 0,9932$; $R^2 = 0,6959$), período seco e chuvoso, respectivamente, para a técnica de Sheather. O parasitismo foi comprovado pelo OoPG, sendo a contagem durante o período seco superior ao chuvoso. Concluímos que dentre as técnicas utilizada na pesquisa, a que apresenta maior concentração de oocistos de coccídios para diagnóstico da coccidiose suína, é, a técnica de Sheather.

Palavras-chaves: Diagnóstico; Fezes; Técnicas.

¹Mestranda em Ciência Animal

²Bolsista Fixação de Doutor/Mestrado em Ciência Animal/UEMA

ABSTRACT

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

Keywords: Diagnosis; Feces; Techniques.

1 INTRODUÇÃO

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

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

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

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

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

densidade menor que dos debrís fecais (LEVINE, 1985), assim, quando o sedimento é suspenso na solução os oocistos flutuam e os debrís fecais submergem (GEORGI, 1982).

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

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta das fezes

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

As amostras fecais foram colhidas em suínos nativos dos “retiros” (ambiente de relevo elevado em ilhas, os chiqueiros construídos de varas e cobertos por palhas de Palmaceas, vegetação da região), de criação de subsistência, onde foram colhidas diretamente do reto de cada animal com auxílio de luvas cirúrgicas lubrificadas, embaladas e acondicionadas em caixa de isopor com gelo, como conservante e transportadas até o Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual do Maranhão. Para pesquisa de oocistos de coccídios, foi utilizado 4g de fezes para cada método qualitativo de Willis-Mollay (1921) e Sheather (1923) e sedimentação simples pelos métodos Hoffman, Pons e Janer (1934), e 2g de fezes para o método quantitativo pela contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG), com uso da câmara de MacMaster, pelo método de Gordon Whitlock modificado (1939), para avaliar a carga parasitária (CP) dos animais.

Esta pesquisa foi protocolada e aprovada sob o nº 021/2014 no Comitê de Ética da Universidade Estadual do Maranhão.

2.2 Análise das amostras de fezes

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

média dos oocistos por amostras de fezes, considerando-se as técnicas e métodos parasitológicos utilizados na pesquisa.

2.3 Análise estatística

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

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

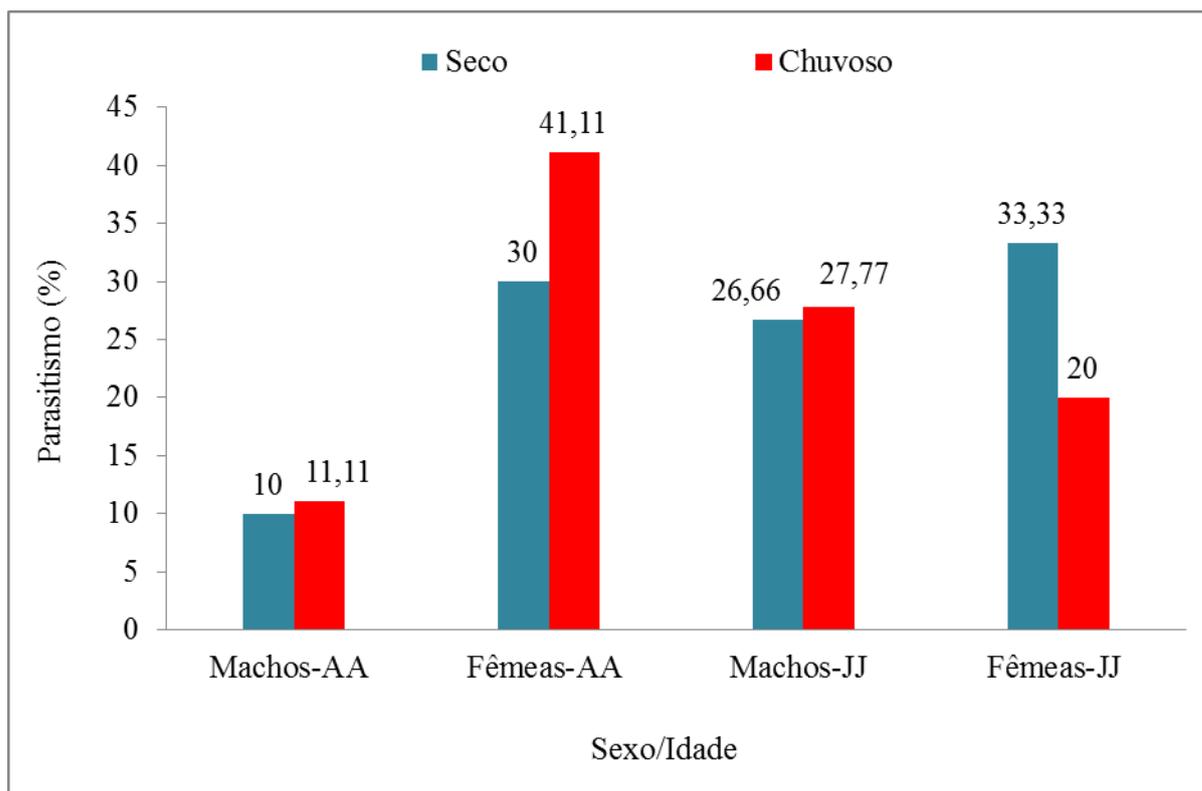


Figura 1 – Prevalência de parasitismo por oocistos de coccídios intestinais em suínos nativos da Baixada Maranhense, de acordo com o sexo, idade, período seco e chuvoso, de 2014 a 2015.

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

Na figura 2 demonstra-se que dentre os métodos coproparasitológicos realizados, nas 180 amostras fecais de suínos nativos, tanto para o período seco como no chuvoso, o método qualitativo de Sheather foi o que apresentou maior frequência na concentração de oocistos de coccídios, nas três coletas realizadas, em cada período do ano, seco e chuvoso, tendo uma variação de 67,19 a 96,08% para o período seco; e 75,93 a 93,57% para o período

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

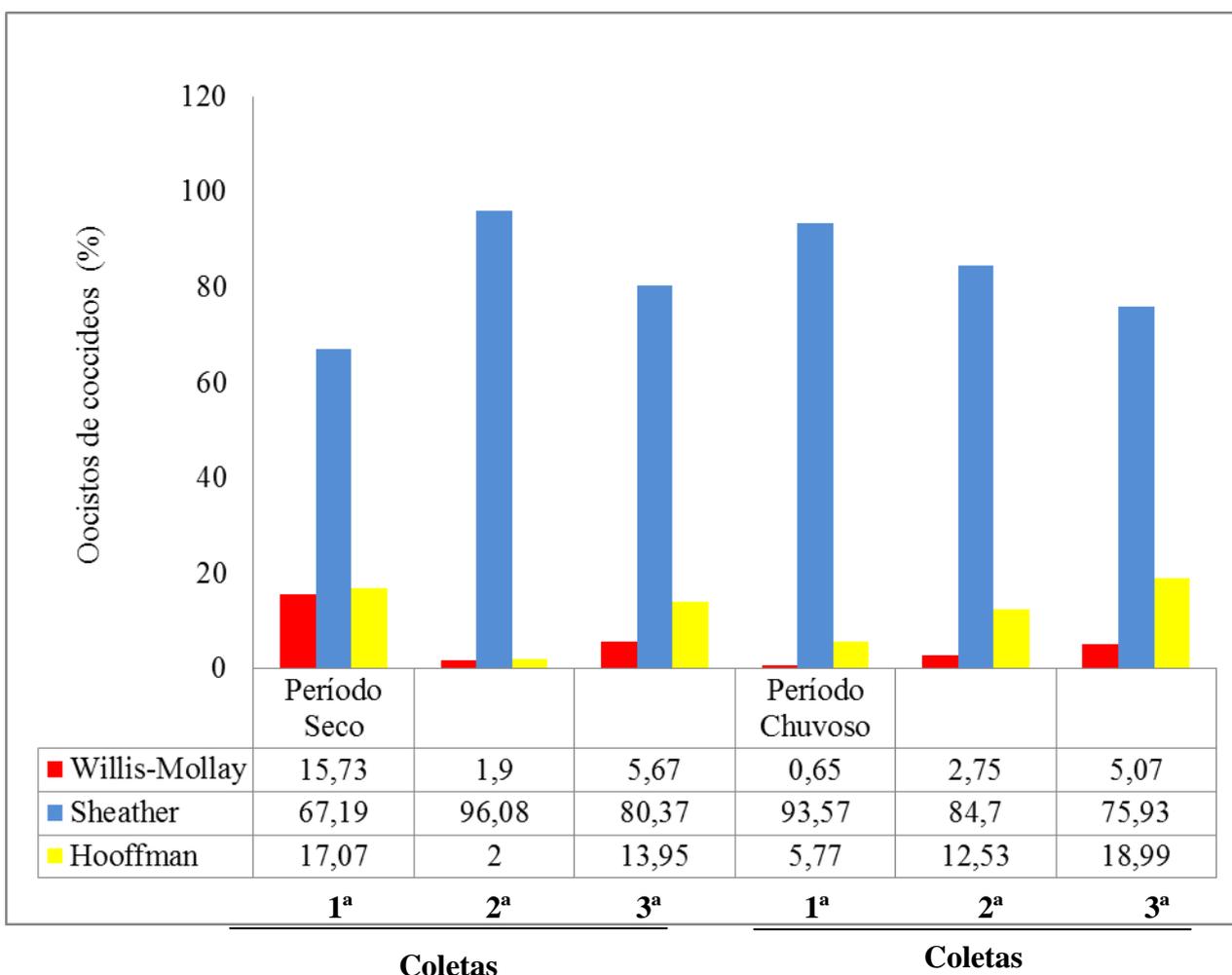


Figura 2 – Frequência de oocistos de coccídios de suínos nativos da Baixada Maranhense, entre métodos coparasitológicos qualitativos nos período seco e chuvoso, durante 2014 a 2015.

Os suínos nativos demonstraram parasitismo por oocistos de coccídios durante o período seco e chuvoso, comprovados pelos métodos coparasitológicos qualitativos e que

foram validados pela contagem do OoPG. No período seco foi verificado um parasitismo por 23900; 23100 e 41700 OoPG (out/2104; mar/2015 e set/2015, respectivamente) e para o chuvoso 20200; 19100 e 15700 OoPG (abr/2014, jun/2014 e mai/2015, respectivamente), comprovando sua validação, pela contagem de oocistos de coccídios (GORDON WHITLOCK, 1939, modificado), ficando demonstrado no diagnóstico maior positividade dos animais pela técnica de Sheather. Ademais, foi observada também a ocorrência de diminuição do parasitismo por coccídios durante o período chuvoso, o que confirma a viabilidade que os suínos por estar confinado em instalações inadequadas, ambiente inóspito, apesar da alimentação deficiente e sem nutriente necessário na conversão alimentar, no entanto, os animais não tem nenhum gasto de energia, demonstrando assim equilíbrio entre o parasito/hospedeiro.

Na análise dos resultados, o teste do Qui-Quadrado demonstrou que durante o período seco e chuvoso, a concentração do número de oocistos de coccídios para os métodos coproparasitológicos realizados apresentou diferença estatística significativa dentre eles ($P < 0,0001$), ressaltando que o método de Sheather foi o que concentrou maior número de oocistos, seguido ao de Hooffman, que não apresentou diferença estatística significativa, entre ambos ($P > 0,07$), no entanto o método de Willis-Mollay apresentou menor concentração de oocistos de coccídios nessa pesquisa, diferindo dos demais métodos anteriormente citados, isto é, com diferença estatística significativa ($P < 0,001$) (Tabela 1).

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

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

Letras minúsculas iguais na horizontal não diferem entre si pelo Teste do Qui-Quadrado e teste de Tukey ($P < 0,0001$)

A comparação dos métodos coproparasitológicos qualitativos, de parasitismo por coccídios intestinais de suínos nativos da Baixada Maranhense em relação ao período do ano,

durante a realização da pesquisa foi demonstrado uma tendência de associação positiva durante o período seco de 2014 a 2015, de acordo com a Correlação de Pearson verificando-se maior concentração de OoPG ($R^2 = 0,9932$) ($P < 0,0001$) para o método de Sheather. Enquanto, para os métodos de concentração de sedimentação de Hooffman também demonstrou uma leve tendência positiva do que o método de Willis-Mollay, para esta pesquisa (Figura 3; Tabela 2).

No período chuvoso, a concentração de oocistos de coccídios também foi confirmada que o método de Sheather apresentou a mesma tendência de associação positiva ($R^2 = 0,6959$) (Figura 3; Tabela 2); apesar de ter sido inferior comparado ao período seco, devido ao período das chuvas, cujo suíno permanece confinados nos retiros e somados a nutrição (ração) fornecida pelos criadores no coxo e a alimentação disponível no campo, favorece um equilíbrio do parasito/hospedeiro.

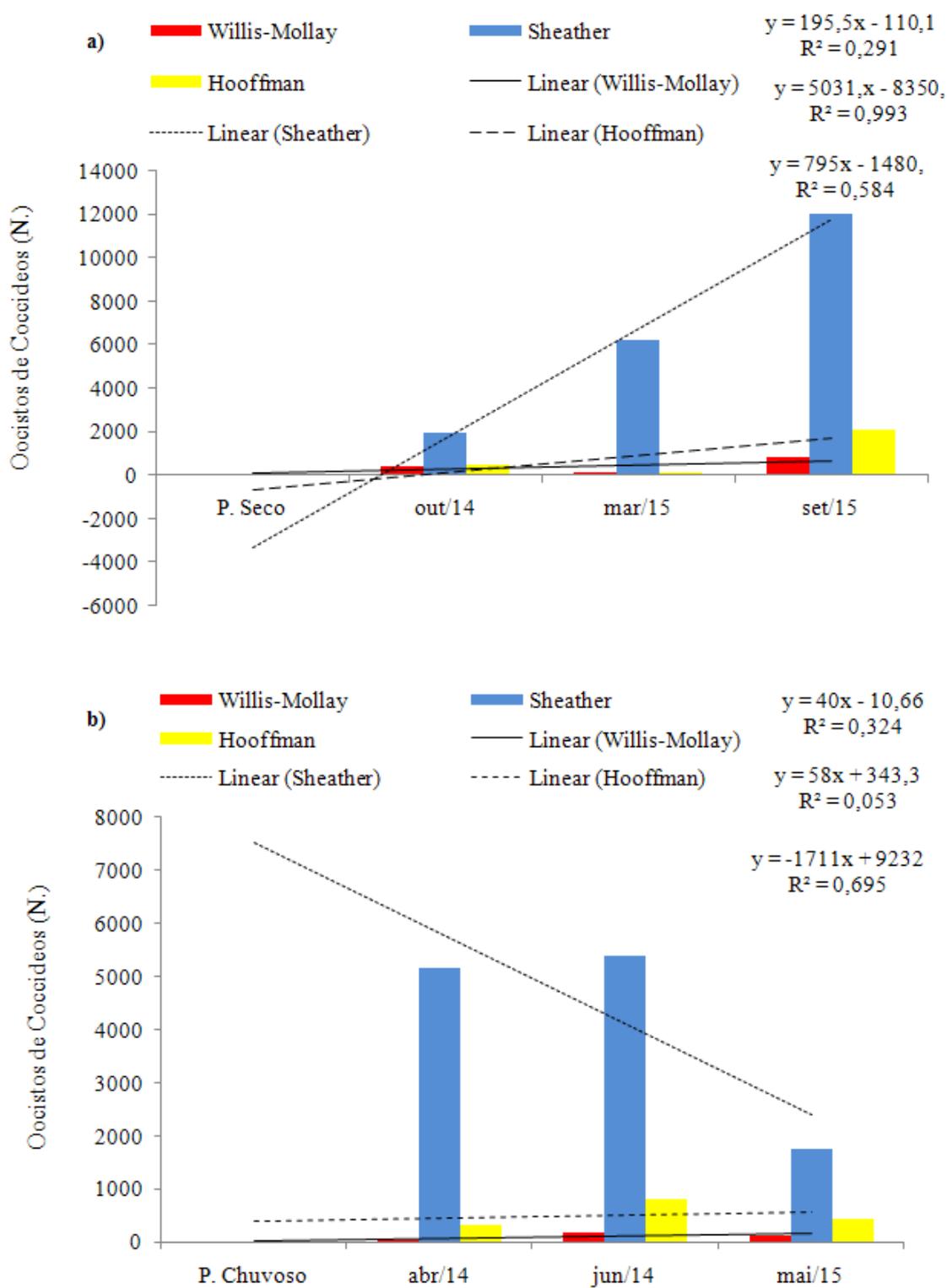


Figura 3 – Correlação dentre métodos coproparasitológicos e o parasitismo por oocistos de coccídeos intestinais em suínos nativos da Baixada Maranhense, de acordo com o período do ano: a) seco; b) chuvoso, de 2014 a 2015.

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

Métodos coproparasitológicos	Correlação de Pearson/Período do ano	
	Seco	Chuvoso
Willis-Mollay	$y = 195,5x - 110,17$ $R^2 = 0,291$	$y = 40x - 10,667$ $R^2 = 0,3243$
Sheather	$y = 5031,5x - 8350,8$ $R^2 = 0,9932$	$y = -1711x + 9232$ $R^2 = 0,6959$
Hooffman	$y = 795x - 1480,7$ $R^2 = 0,5849$	$y = 58x + 343,33$ $R^2 = 0,0532$

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4 CONCLUSÃO

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

REFERÊNCIAS

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

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

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

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

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

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

GEORGI, J.R. **Parasitologia Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1982. 353p.

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

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

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

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

- HUBER, F.; BOMFIM T.C.; GOMES R.S. Comparação da eficiência da técnica de Sedimentação pelo formaldeído-éter e da técnica de centrífugo-flutuação modificada na detecção de cistos de *Giardia* sp. e oocistos de *Cryptosporidium* sp. em amostras fecais de bezerros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 2, p. 135-137. 2003.
- HUBER, F.; BONFIM, T.C.; GOMES, R.S. Comparação da eficiência da coloração pelo método da Safranina a quente e da técnica de centrífugo-flutuação na detecção de oocistos de *Cryptosporidium* em amostras fecais de animais domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n.2, p. 81-84, 2004.
- JESUS, L.P.; MÜLLER, G. Helmintos parasitos do estômago de suínos na região de Pelotas-RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 6 n. 2, 181-187. 2000.
- LEITE, D.M.G.; PEREIRA, N.W; COSTA, A.O.D. Parasitoses em suínos ao ar livre. **A Hora Veterinária**, ano 19, n. 114,p. 8-10, 2000.
- LEVINE N.D. **Protozoan Parasites of Domestic Animals and of Man**. 2. ed. Minneapolis: Burgess Publishing, 1963, 406 p.
- LEVINE, N.D. **Veterinary Protozoology**. Ames: Iowa State University Press; 1985, 432 p.
- LINDSAY, D.S; DUBEY, J.P; BLAGBURN, B.L. Biology of *Isospora* spp from humans, nonhuman primates, and domestic animals. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, p. 19–34. 1997.
- LIMA, J.D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, supl. 1, 2004.
- MUNDIM, M.J.S.; MUNDIM, A.V.; SANTOS, A.L.Q.; CABRAL, D.D.; FARIA, E.S.M.; MORAES, F.M. Helmintos e protozoários em fezes de javalis (*Sus scrofa scrofa*) criados em cativeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 6. 2004.
- O'DONOGHUE, P.J. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. **International Journal for Parasitology**, v. 25, p. 139-195. 1995.
- PINTO, J.M.S.; COSTA, J.O.; SOUZA, J.C.A. Ocorrência de endoparasitos em suínos criados em Itabuna, Bahia, Brasil. **Ciência Veterinária nos Trópicos**. v. 10, n. 2/3, p. 79-85, 2007.
- PROUDMAN, C.J.; EDWARDS G.B. Validation of a centrifugal/flotation technique for the diagnosis of equine cestodiasis. **Veterinary Record**, v. 131, n. 4, p. 71-72. 1992.
- RADOSTITS, O.M., GAY, C.C., HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. (Ed. 10) Saunders – Elsevier. 2007
- REBOUÇAS, M.M.; OLIVEIRA, S.M.; FILHA, E.S.; SANTOS, S.M.; AMARAL, V. *Isospora suis* Biester, 1934 em suínos no Estado de São Paulo – Brasil (Apicomplexa – Eimeriidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 1, n. 2, p. 137-140, 1992.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

CONSIDERAÇÕES FINAIS

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

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, P.C. Aspectos epidemiológicos das parasitoses gastrintestinais em suínos naturalizados de criações familiares do Distrito Federal, 2009. 117f. *Dissertação* (Mestrado em Saúde Animal) Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Brasília, 2009.
- ALIAGA-LEYTON, A.; WEBSTER, E.; FRIENDSHIP, R.; DEWEY, C.; VILAÇA, K.; PEREGRINE, A.S. An observational study on the prevalence and impact of *Isoospora suis* in suckling piglets in southwestern Ontario, and risk factors for shedding oocysts. **Can Vet J**, v. 52, p. 184–188. 2011.
- BARTA, J.R.; SCHRENZEL, M.D.; CARRENO, R.; RIDEOUT, B.A. The genus *Atoxoplasma* (Garnham 1950) as a junior objective synonym of the genus *Isoospora* (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of *Cystoisospora* (Frenkel 1977) as the correct genus for *Isoospora* species infecting mammals. **Journal Parasitology**, v. 91, n. 3, p. 726-727. 2005.
- BALICKA-RAMISZ, A. Influence of environmental conditions on the course of coccidia infections in pigs. **Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej W Szczecinie, Zootechnika**, v. 31, n. 1, p. 87-93, 1995.
- BERTO, B.P.; McINTOSH, D.; LOPES, C.W.G. Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 1, p. 1-15. 2014.
- CALDERARO, F.F.; BACCARO, M.R.; MORENO, A.M.; FERREIRA, A.J.P.; JEREZ, A.J.; PENA, H.J.F. Frequência de agentes causadores de enterites em leitões lactentes provenientes de sistemas de produção de suínos do Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.68, n.1, p.29-34. 2001.
- CAMPOS, T.M.; CARVALHO, T.A.; CARVALHO, G.D.; PINTO, R.; MOLINO, J.P.; SOUZA, M.R. Coccidiose suína. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 9, n. 2 p.1726- 1739, Mar./Abr., 2012.
- CAVALCANTE, A.C.R. Espécies do gênero *Eimeria* Schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) parasitos de caprinos leiteiros na Microrregião de Sobral, Ceará. 1996. 64p. *Dissertação* (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1996.
- DAUGSCHIES, A.; IMAROM, S.; GANTER, M.; BOLLWAHN, W. Prevalence in *Eimeria* spp. in sows at piglet-producing farm in Germany. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 51, n. 3, p. 135-139, 2004.
- ENEMARK, H.L.; AHRENS, P.; BILLE HANSEN, V.; HEEGAARD, P.M.H.; VIGRE, H.; THAMSBORG, S.M.; LIND, P. *Cryptosporidium parvum*: infectivity and pathogenicity of the “porcine” genotype. **Parasitology**, v. 126, n. 5, p. 407-416, 2003.
- ERNST, J.V. Pathogenicity in pigs experimentally infected with *Eimeria spinosa*. **Journal Parasitology**, v. 73, p. 1254-1256, 1987.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- RYAN, U.M.; SAMARASINGHE, B.; READ, C.; BUDDLE, J.R.; ROBERTSON, I.D.; THOMPSON, R.C.A. Identification of a Novel *Cryptosporidium* Genotype in Pigs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 7, p. 3970-3974, 2003.
- SANTOS, N.M.; LOPES, C.W.G. Diagnóstico da coccidiose suína relacionado ao manejo e idade dos animais. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.1, n. 1, p. 17- 20, 1994.
- SARTOR, A.A.; BELLATO, V.; SOUZA, A.P.; CANTELLI, C.R. Prevalência das espécies de *Eimeria* Schneider, 1875 e *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) parasitas de suínos do município de Videira, SC, Brasil. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 6, n. 1, p. 38-43, 2007.
- SAYD, S M.O.; KAWAZOE, U. Prevalence of porcine neonatal isosporosis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 169-174, 1996.
- SEQUEIRA, T.C.G.O.; AMARANTE, A.F.T. Parasitologia Animal: Animais de Produção. **Editora de Publicações Biomédicas**, v. 1, p. 58-61, 2001.
- SHRESTHA, A.; ABD-ELFATTAH, A.; FREUDENSCHUSS, B.; HINNEY, B.; PALMIERI, N.; RUTTKOWSKI, B.; JOACHIM, A. *Cystoisospora suis* – A model of mammalian cistisporosis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 2, p. 1-9, 2015.
- SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.E.S.; MORES, N. **Clínica e patologia suína**. 2a ed. Goiânia: J. Sobestiansky. 1999. 464p.
- SCOTT, M.E., KOSKI, K.G. Zinc deficiency impairs immune responses against parasitic nematode infections at intestinal and system atic sites. **Journal of Nutrition**, v. 130. p. 1412-1420, 2000.
- SOULSBY, E.J.L. **Helmints, arthropode, and protozoa of domestical animals**. 6. ed. London: Ballière Tindall, 1968.
- SRÉTER, T.; VARGA, I. Cryptosporidiosis in birds – A review. **Veterinary Parasitology**, v. 87, p. 261 – 279, 2000.
- SUNNOTEL, O.; LOWERY, C.J.; MOORE, J.E.; DOOLEY, J.S.G.; XIAO, L.; MILLAR, B. C.; ROONEY, P.J. SNELLING, W.J. *Cryptosporidium*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 7-16, 2006.
- URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNN, N.A. **Veterinary Parasitology**. 2th. ed. Oxford: Blackwell Science Ltd. 2001.
- VANNUCCI, F.A.; GUEDES, R.M.C. Fisiopatologia das diarreias em suínos. **Revista Ciência Rural**, v. 39, n. 7, p. 2233-2242, 2009.
- XIAO, L.; FAYER, R.; RYAN, U.; UPTON, S. *Cryptosporidium* taxonomy: Recent advances and Implications for public health. **Clinical Microbiological Reviews**, v.17, n.1, p.72-92. 2004.