

## ESTUDOS SÔBRE A EIMERIOSE EM AVES

### II. CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA EPIZOOTIOLOGIA \*

WILHELM BRADA \*\*

#### I. INTRODUÇÃO

Os oocistos de eimérias, produtos finais da evolução endógena do protozoário, eliminados pelas fezes dos animais doentes e esporulados fora do hospedeiro, são as fontes primárias da propagação da moléstia.

Diversos pesquisadores examinaram a possibilidade duma transmissão da eimeriose pelas formas evolutivas do ciclo endógeno do parasita. Levine<sup>1</sup> conseguiu uma infestação em pintos livres de coccidiose, introduzindo merozoitos da *Eimeria maxima*, *E. hageni*, *E. precox* e *E. necatrix* no inglúvio. Também merozoitos da *E. tenella* introduzidos no intestino delgado ou nos cecos provocaram a doença, o que não ocorreu com merozoitos injetados no inglúvio. Haug<sup>4</sup> em suas experiências positivou também o fato, que a infestação primária e a reinfestação não pode ocorrer apenas pelos oocistos esporulados, mas também pela ingestão de merozoitos eliminados em grande número pelas fezes. Mellmann<sup>5</sup> confirmou o fato já conhecido de que galinhas adultas podem ser fontes eliminadoras de oocistos e a transmissão da moléstia para os pintos é provocada pelo homem ou pela poeira. O autor demonstrou também o papel importante das moscas como meio da propagação da eimeriose.

Êstes insetos, depois da ingestão de oocistos presentes nos excrementos de galinhas adultas que passam inalterados o trato digestivo, contaminam alimentos e água para beber e apresentam assim fontes da transmissão da moléstia para animais sensíveis. Por outro lado, moscas, com oocistos esporulados presos nos membros, ingeridos pelos animais sensíveis podem provocar a eimeriose. O mesmo acontece com insetos que contêm oocistos esporulados dentro do seu trato digestivo e são ingeridos pelos pintos. O autor verificou também que a coccidiose que sempre aparecia regularmente durante 15 anos em animais da experimentação no laboratório dum instituto, parou, quando os animais foram criados separadamente de galinhas adultas e também quando os pintos foram protegidos contra moscas.

No que concerne ao ovo como fonte da infestação, as opiniões de diversos pesquisadores diferem. Tyzzer<sup>13</sup> em suas experiências achou, que nas condições da chocadeira, os oocistos perdem rapidamente sua capacidade infestante. Ellis<sup>3</sup> afirma que a viabilidade dos oocistos nas condições normais de umidade e temperatura da incubadeira não vai além de 1 a 2 dias. Herrick<sup>5</sup>

---

\* Este trabalho foi realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas. Entregue para publicação em 3 de março de 1961.

\*\* Da Seção de Ornitopatologia do Instituto de Biologia Animal, Rio de Janeiro, e bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

entretanto afirma, ter obtido infestação de pintos, fazendo ingerir cascas de ovos propositadamente contaminados com oocistos e incubados durante 3 semanas em chocadeira com alto teor de umidade relativa.

Podvissotsky<sup>9</sup> observou coccídias na clara de ovos provenientes de lugares contaminados pelo protozoário. Os aglomerados dos oocistos formaram massas brancas que atingiram o tamanho de uma cabeça de alfinete. Braga e Sousa<sup>1</sup> também encontraram coccídias na clara de ovos de galinhas e admitem que a infestação se dá no oviduto, quando o óvulo recebe a camada de albumina tendo as coccídias invadido o oviduto por via ascendente, vindo da cloaca.

A eimeriose aparece durante o ano inteiro. Por falta dum registro exato da doença é difícil chegar a uma conclusão sobre a verdadeira distribuição da doença a respeito de número dos casos em comparação com os meses do ano. É da observação de todos criadores, a irrupção de surtos violentos da eimeriose na época mais quente do ano, principalmente após chuvas<sup>11</sup>. Em São Paulo a doença tem o acme de distribuição nos meses de outubro e novembro<sup>11</sup>, em Kansas em abril, maio e junho<sup>9</sup>. Nos Estados Unidos ela é mais freqüente nos meses de maio a agosto<sup>2</sup>. Na Europa, a maioria dos casos aparece nos meses de maio, junho e agosto, provavelmente por causa das condições favoráveis nesta época para evolução exógena de oocistos<sup>10</sup>.

Com nossos estudos queremos dar ao conhecimento:

- 1.º As nossas observações a respeito da freqüência da eimeriose nos diferentes meses,
- 2.º apresentar os resultados obtidos de nossos experimentos realizados sobre a possível infestação de pintos de um dia pela casca artificialmente contaminada com oocistos,
- 3.º apresentar os resultados de experimentos com oocistos esporulados introduzidos dentro da clara de ovos embrionados,
- 4.º verificar o comportamento de oocistos esporulados introduzidos dentro da gema.

## II. MATERIAL E MÉTODOS

Para averiguar relações climáticas com a freqüência da eimeriose, obtivemos os dados climáticos do Observatório Meteorológico do Ministério da Agricultura no km 47 e comparamo-los com o número de casos de eimeriose diagnosticados.

Os ovos fecundados, de casca branca de galinhas da raça Leghorn foram fornecidos pelo Instituto de Zootecnia do Ministério da Agricultura, situado na área do km 47 da antiga rodovia Rio-São Paulo.

Como incubadeira utilizamos chocadeira elétrica com capacidade para 60 ovos marca "Popular" 100/volt. Como fonte de umidade foi usada uma prateleira de metal de tamanho 30 por 30 e de altura de 3 cm, cheia de água.

Como material infestante usamos uma suspensão de oocistos não esporulados e esporulados em bicromato de potássio a 2,5% em temperatura ambiente. Trabalhamos com dois grupos de ovos dos quais um grupo servia como testemunha.

Os animais nascidos foram removidos após a eclosão para caixas de papelão, cobertas por tela de arame com malhas finas, e alimentados durante a observação com ração inicial esterilizada em forno, recebendo água esterilizada em autoclave. A ração foi completamentada com suplemento de vitaminas A, D e B.

Nas experiências sobre a possibilidade da infestação pela clara e pela gema infestadas artificialmente com oocistos, a suspensão do material infestante foi tratada com penicilina e estreptomina. O exame microscópico foi realizado em forma de esfregaços finos respectivamente da clara e da gema.

## III. RESULTADOS

1. *Observações sôbre a freqüência da eimeriose durante 6 anos em comparação com as condições climáticas.*

Como a literatura refere-se a relações entre condições climáticas e a freqüência da eimeriose, tentamos em nossas investigações verificar tais relações.

Pelas nossas observações, a eimeriose mostrou incidência mais elevada no mês de novembro e mais baixo no mês de março (Quadro I). A temperatura máxima foi registrada sempre no mês de janeiro e a mínima no mês de julho. As chuvas atingiram no mês de março o ponto mais alto e no mês de julho o ponto mais baixo. A umidade relativa oscilava entre 82 em abril e 73 no mês de agosto (Quadro II).

O quadro I demonstra também, que o aumento de casos de coccidiose coincide com a elevação da umidade relativa do ar.

Devemos levar em conta também a possibilidade de latência da enfermidade provocada às vezes por modificações de sua patogenicidade ou por alterações de condições do ambiente, de ser responsável por tais fatos o que é freqüentemente observado em outras epizootias e endemias (anos ricos e anos pobres em epizootias por exemplo).

Pelos dados anuais observamos que o ano 1954 era mais rico em eimeriose e o ano 1958 o ano mais pobre (Quadro III). A temperatura máxima no ano 1954 era 29,3°C em média, a temperatura mínima 19,4°C, e no ano 1958 29,4 e 17,9 respectivamente. As precipitações pluviométricas foram registradas de 1 099 mm no ano 1954 e de 1 390 mm no ano 1958, sendo a umidade relativa 75 no ano 1954 e 77 no ano 1958, de modo que não verificamos uma correlação digna de nota entre as condições climáticas e a moléstia.

2. *Experimentos com casca de ovos embrionados contaminados artificialmente com oocistos e a resistência de oocistos na incubadeira.*

Para obter experiências próprias sôbre a possibilidade da contaminação de pintos de um dia por intermédio de oocistos na casca, realizamos dois experimentos da seguinte maneira:

Contaminamos a casca de 10 ovos fecundados com uma suspensão de oocistos esporulados em bicromato de potássio. Como material infestante utilizamos oocistos da *E. tenella*, esporulados dentro de 48 horas. Por meio duma pipeta Pasteur colocamos gotas da suspensão sôbre a casca. A suspensão continha ainda restos de bicromato de potássio para distinguir melhor os pontos contaminados. Após 21 dia de permanência na chocadeira, no dia da eclosão os pintos, antes de receberem alimento ou água, foram infestados com as cascas contaminadas, trituradas antes em gral estéril e criados depois da remoção da chocadeira sob condições, para se evitar uma contaminação acidental. No 13.º dia após a infestação os animais ficaram tristes, no 14.º dia comprovamos traços de sangue nas fezes, no 15.º dia 2 animais morreram de coccidiose aguda. No 16.º dia o resto dos animais foi sacrificado. Todos apresentaram tiflite com merozoitos e oocistos da *E. tenella* no conteúdo cecal.

O mesmo número de ovos (testemunhas) da mesma procedência com casca não contaminada permaneceu numa outra chocadeira e depois da eclosão os pintos foram criados separadamente sob as mesmas condições dos animais do 1.º grupo. Não apresentaram durante nossas observações sintomas de doença e sacrificados junto com os pintos do 1.º grupo se mostraram com órgãos normais e livres de coccídias.

Conseguimos então infestar pintos de um dia com casca contaminada artificialmente com oocistos esporulados após a permanência dos ovos fecundados

por 21 dias na incubadeira, enquanto com casca não contaminada os animais de controle não adoeceram.

Um segundo experimento foi realizado com oocistos da *E. tenella* não esporulados, coletados de pintos que sucumbiram da eimeriose. Após 21 dias da permanência desses ovos na chocadeira os pintos nascidos foram infestados e criados da mesma maneira como os do experimento com oocistos esporulados. Os animais observados durante 18 dias não apresentaram sintomas clínicos de eimeriose e sacrificados no 10.º, 14.º e 18.º dia se apresentaram normais sem oocistos ou formas evolutivas da eiméria.

Enquanto no experimento com oocistos esporulados era possível provocar a doença em pintos de um dia, com oocistos não esporulados não conseguimos infestar os animais. As condições da chocadeira aparentemente não se mostraram favoráveis para a maturação de oocistos localizados na casca do ovo.

### 3. *Experimentos com oocistos esporulados introduzidos na clara de ovos fecundados.*

Como é de se supor a possibilidade de durante os movimentos peristálticos do oviduto em sentido contrário, os oocistos localizados dentro da cloaca em aves adultas poderiam invadir o oviduto por via ascendente, e envolvidos pela clara do ovo, mais tarde provocar uma infestação do embrião, efetuamos um experimento nesse sentido.

Para evitar contaminações bacterianas tratamos a suspensão de oocistos com penicilina e estreptomina e fizemos a prova de esterilidade da suspensão que se mostrou estéril. Inoculamos ovos embrionados de 7 dias. Infelizmente morreu a maioria dos embriões já após 3 dias da inoculação e apenas 4 pintos nasceram normais, sem revelar formas evolutivas ou formas de resistência do parasita.

Para completar este experimento introduzimos uma suspensão de oocistos esporulados diretamente dentro do oviduto duma galinha em plena postura. Foram introduzidos 20 000 oocistos e examinados os ovos postos após a inoculação. No primeiro ovo pôsto não verificamos oocistos na clara e em 3 ovos seguidos encontramos oocistos na clara em número muito pequeno.

### 4. *Experimentos com oocistos introduzidos dentro da gema em ovos embionados.*

Embora não aceitável a possibilidade da membrana da gema sob circunstâncias naturais ser penetrada por coccídias, realizamos um experimento, injetando oocistos esporulados de *E. tenella* diretamente no saco da gema de ovos embrionados de 7 dias, para estudar o comportamento dos oocistos neste meio. Injetamos aproximadamente 3 200 oocistos tratados por penicilina e estreptomina. Entre o 1.º e 10.º dia após a inoculação morreram 5 embriões de 10 inoculados. Dentro da gema encontramos os oocistos introduzidos. O resto dos embriões nasceu normal e ficou sob observação durante 10 dias após a eclosão. O exame microscópico das fezes foi realizado diariamente sem se encontrar oocistos. No 10.º dia os animais se apresentavam doentes. Um pinto foi sacrificado e necropsiado. Verificamos o saco vitelino atrofiado, os cecos dilatados com conteúdo escuro e espumoso com grande número de oocistos não esporulados. No dia seguinte foram sacrificados os restantes animais e revelaram as mesmas lesões com grande número de oocistos não esporulados nos cecos. Os oocistos coletados e após a esporulação introduzidos em pintos de um dia provocaram a eimeriose dentro 8 dias.

Com este experimento comprovamos que oocistos introduzidos dentro da gema conservaram o seu poder evolutivo e infestante.

## IV. DISCUSSÃO

É de conhecimento geral que depois de anos pobres em coccidiose aparecem anos em que a moléstia aparece mais freqüente, causando graves prejuízos nas criações. Pelo resumo de nossas observações podemos afirmar que a maior freqüência dos casos de coccidiose no ano 1954 era determinada em primeiro lugar pelo maior número dos exames das aves, em conseqüência do aparecimento da doença de New Castle neste ano, quando os criadores enviaram mais aves para exame para diagnosticar esta epizootia. O declínio da eimeriose a partir do ano 1957 se explica sem dúvida pelo aumento da aplicação de coccidiostáticos como meio profilático. Na análise sôbre a incidência da eimeriose aviária durante 1953-1958 não encontramos outros fatores que pudessem efetivamente justificar uma maior ou menor ocorrência anual da doença.

Os nossos registros sôbre as condições climáticas e a freqüência de coccidiose revelam certa correlação da umidade relativa do ar com o acréscimo ou declínio de número de casos, como demonstram nitidamente os dados dos meses de junho à dezembro quando a incidência da moléstia é maior. Fora dessas influências atmosférica o aparecimento da enfermidade em maior número durante esta época do ano parece ser ligada em primeiro lugar com a época da postura orientada pelos criadores por fatores econômicos, como acontece também em outros países. As influências diretas das chuvas e da temperatura, na criação moderna não deviam apresentar mais o papel importante como na criação sob circunstâncias naturais anteriormente usada. Em baterias isoladas do meio exterior, a propagação da moléstia se dá em primeiro lugar pelo manêjo inadequado que favorece a evolução e a distribuição do protozoário.

Como atualmente é admitida a transmissão da eimeriose por meio de oocistos maduros presentes nos alimentos, na água etc., realizamos alguns experimentos que pudessem explicar outras possibilidades da transmissão, como por exemplo pela casca de ovos contaminados por oocistos ou pela contaminação da clara de ovo. Os nossos experimentos mostram, que a casca contaminada por oocistos esporulados pode provocar a infestação de pintos, nascidos destes ovos incubados na chocadeira. Esta verificação experimental é ainda apoiada pelas nossas observações, onde diagnôsticamente a eimeriose em pintos da idade menos de 8 dias acompanhada por casos de morte nestes animais. Se existe durante a incubação artificial de ovos, a possibilidade da infestação de pintos nos primeiros dias da vida pela casca contaminada, tanto mais podemos admitir a possibilidade duma infestação de pintos pelos ovos procedentes de galinhas eliminadoras de oocistos e incubados em condições naturais.

Por outro lado verificamos que cascas de ovos contaminados com oocistos não esporulados e ingeridos pelos animais recém nascidos não provocaram a doença e que os oocistos não madurecem sob condições da chocadeira.

Em alguns experimentos queríamos elucidar a questão, se oocistos presentes dentro da cloaca duma galinha em postura, subindo no oviduto pelo seu movimento em sentido contrário, podiam fazer com que a clara do ovo se tornasse a fonte infestante para os embriões. Surpreendentemente morreu a maioria dos embriões depois da inoculação e nos sobreviventes não conseguimos encontrar oocistos ou suas formas evolutivas. Mesmo introduzindo 20.000 oocistos esporulados dentro do oviduto, encontramos apenas em 3 ovos oocistos na clara em número muito pequeno, de modo que na prática não podemos contar com esta maneira da transmissão da doença.

Mais em virtude do interêsse científico sôbre o comportamento dos oocistos no saco da gema, realizamos experimentos no sentido, de transmitir oocistos esporulados na gema de ovos embrionados e verificamos que durante a permanência dos ovos até a eclosão, os oocistos conservaram sua capacidade evolutiva e infestante e provocaram a doença em pintos nascidos destes ovos.

## V. CONCLUSÕES

Em nosso caso apareceram certas relações entre a umidade relativa do ar e a frequência da eimeriose.

Durante o prazo de nossas observações não encontramos fatores peculiares, que pudessem justificar uma maior ou menor ocorrência anual da doença.

Uma infestação de pintos nascidos de ovos com casca contaminada por oocistos esporulados é possível.

As condições da chocadeira não favorecem o amadurecimento de oocistos não esporulados.

Uma infestação de pintos recém nascidos pelos oocistos presentes na clara do ovo na prática é pouco provável.

Oocistos esporulados introduzidos artificialmente no saco da gema em ovos embrionados, conservam durante a incubação a sua capacidade evolutiva e infestante para pintos de um dia.

## VI. RESUMO

O autor apresenta neste trabalho sobre a eimeriose aviária observações a respeito das relações entre influências atmosféricas e a frequência da moléstia, dá ao conhecimento os resultados obtidos sobre a possível transmissão da eimeriose pela casca do ovo ou pela clara contaminados artificialmente com oocistos e sobre o comportamento de oocistos introduzidos na gema de ovos embrionados.

## VII. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Leonhard Riedmüller, Chefe da Seção de Zoonoses Bacterianas do Instituto de Biologia Animal pela sua orientação e preciosos conselhos, e ao Observatório Meteorológico do Ministério da Agricultura pelos dados climáticos fornecidos.

## STUDIES ON EIMERIOSIS OF POULTRY. II. CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE EPIZOOTIOLOGY

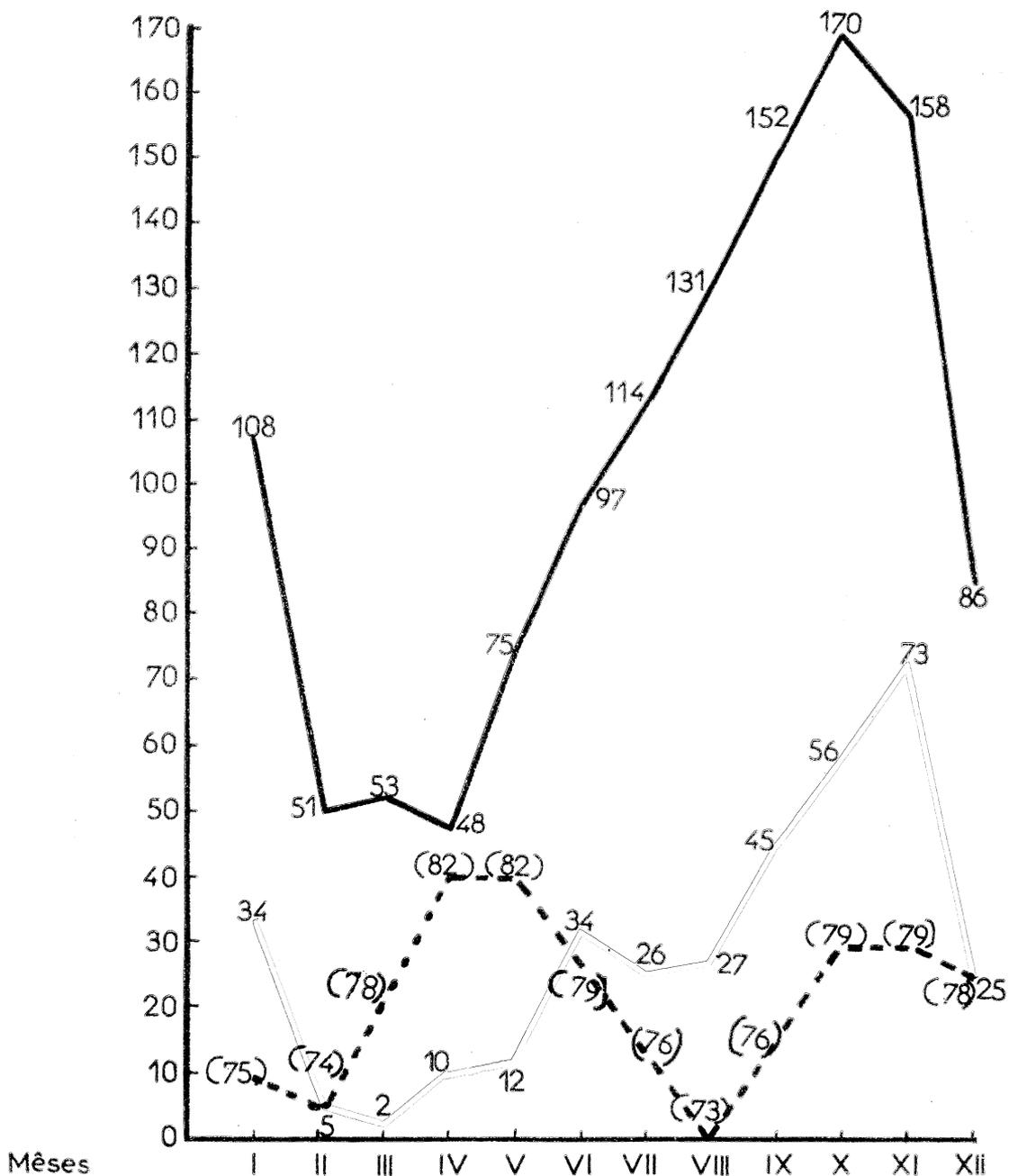
*Abstract*

The author describes his experiments on the atmospheric influences on the frequency with which the disease occurs. He describes the results obtained attempting to transmit eimeria through the shell of the egg. He describes the behavior of the oocysts, introduced into the yolk of embryonated eggs.

## VIII. REFERÊNCIAS

- 1) BRAGA, A. & SOUZA, M. (1930). — Coccidiose das aves com especial referência à presença de oocistos no albúne dos ovos. *Rev. Zootecnia e Vet.*, 16 (2): 88-98.
- 2) DURANT & Mc DOUGLE (1938). — *M. Agr. Star Bul.* 411. Cit. em REIS & NÓBREGA (11), pg. 108.
- 3) ELLIS (1938). — *Cornell Vet.*, 28: 264. Cit. por REIS & NÓBREGA (11), pg. 167.
- 4) HAUG, P. (1949). — Experimentelle Untersuchungen zur Sulfonamidtherapie bei der Hühnerkokzidiose mit einer Darstellung unserer Kenntnisse ueber die Krankheit und ueber die Sulfonamide. *Inauguraldissertation an der Veterinaer-Medizinischen Fakultaeet der Justus Liebig-Hochschule Giessen*. Cit. por SCHMID & WACK (12).
- 5) HERRICK, C.A. (1935). — Resistance of the Oocysts of *Eimeria tenella* to Incubater Conditions. *Poult. Sci.*, 14 (4). Reprint.
- 6) HINSHAV & BUSHEL (1927). — *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, 24: 764. Cit. por REIS & NÓBREGA (11), pg. 135.
- 7) LEVINE, P.P. (1940). — The Initiation of Avian Coccidial Infection with Merozoites *Jour. Parasit.*, 26: 337.
- 8) MELLMANN, G. (1954). — Beitrag zur Frage der Infektionswege der Hühnerkokzidiose. *Z.f. angewandte Zoologie*, 41: 139-134.
- 9) PODVISSOTSKY. Cit. por REIS & NÓBREGA (11), pg. 129.
- 10) REINHARDT, R. (1950). — *Lehrbuch der Gefluegelkrankheiten*. Verlag M. & H. SCHAPER, Hannover, pg. 140.
- 11) REIS, J. & NÓBREGA, P. (1956). — *Tratado de Doenças das Aves*. Vol. III, Ed. Melhoramentos, São Paulo, pg. 108.
- 12) SCHMID, D.O. & WACK, P. (1955). — Experimentelle Untersuchungen zur Therapie der Gefluegelkokzidiose mit Diazil vet. *Cilag. Z.f. Tropenmedizin*, 6: 437-425.
- 13) TYZZER, E.E. (1937). — Coccidiosis in Gallinaceous Birds. *Jour. Am. Ve. Med. Ass.*, 43: 341.

Quadro I. Frequência mensal da eimeriose durante 6 anos

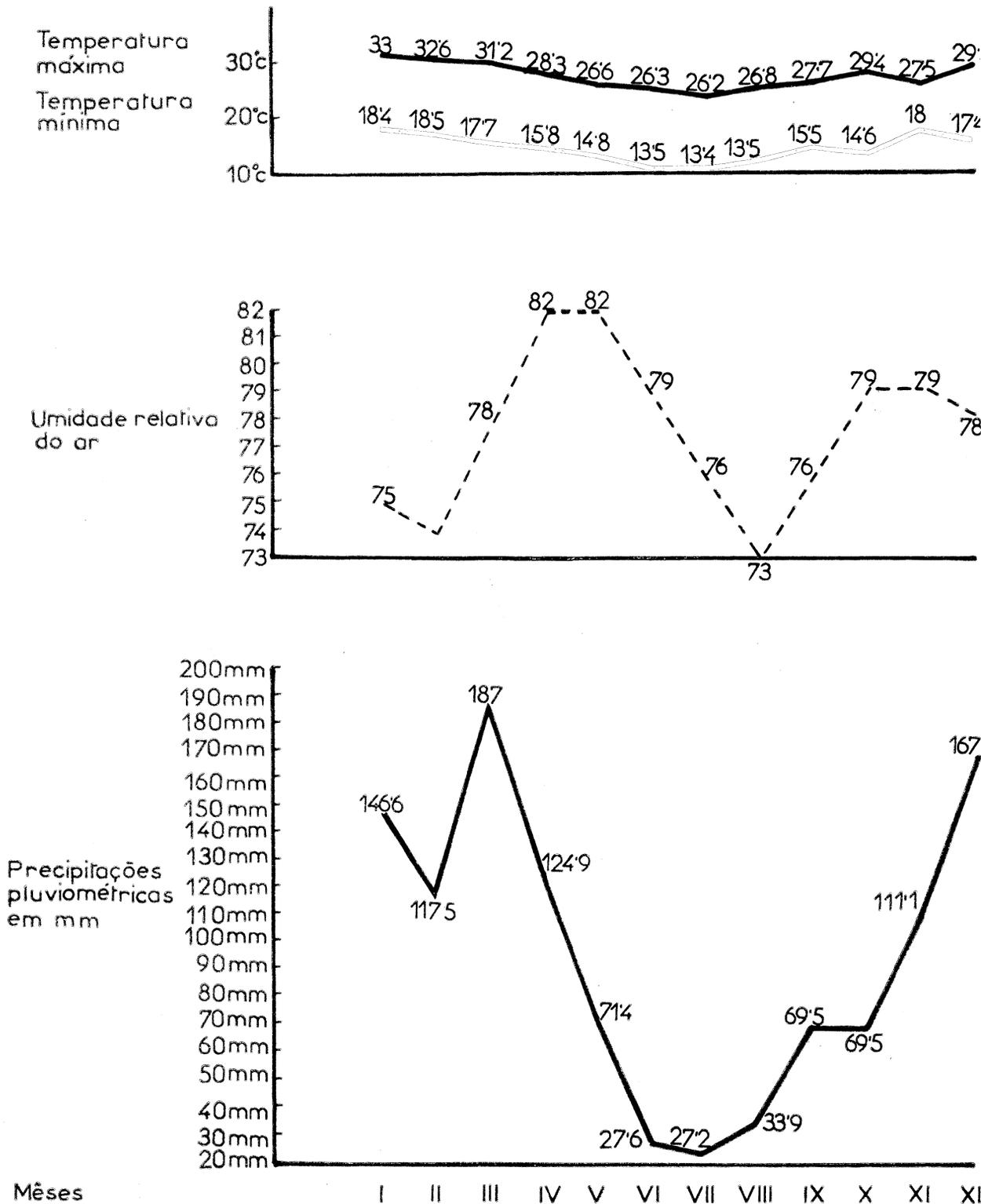


— grupos de animais examinados

- - - eimeriose diagnosticada

..... - com número em parenteses - umidade relativa do ar

Quadro II. Dados climáticos mensais durante 6 anos



Quadro III. Frequência anual da eimeriose com dados climáticos

