

PRIMEIRO DIAGNÓSTICO DE *Eimeria bareillyi* (APICOMPLEXA: EIMERIDAE) NAS FEZES DE BEZERROS BUBALINOS (*Bubalus bubalis*) NATURALMENTE INFECTADOS NO ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL*

EDUARDO BASTIANETTO¹; CAROLINA M.V. FREITAS²; ANA CRISTINA P. P. BELLO¹; ARILDO P. CUNHA¹; RICARDO C. DALLA ROSA³; ROMÁRIO C. LEITE⁴

ABSTRACT:- BASTIANETTO, E.; FREITAS, C.M.V.; BELLO, A.C.P.P.; CUNHA, A.P.; DALLA ROSA, R.C., LEITE, R.C. [First notification of *Eimeria bareillyi* (Apicomplexa: Eimeridae) in feces of buffalo calves (*Bubalus bubalis*) naturally infected in Minas Gerais, Brazil]. Primeiro diagnóstico de *Eimeria bareillyi* (Apicomplexa:Eimeridae) nas fezes de bezerros bubalinos (*Bubalus bubalis*) naturalmente infectados no Estado de Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.17, supl. 1, p. 234-238, 2008. Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Av. Antônio Carlos 6627, Caixa Postal 567, Pampulha, Belo Horizonte, MG 30123-970, Brasil. E-mail: ebastianetto@yahoo.com.br

In this study the evolution of Eimeriosis in naturally infected calves was analyzed during 23 days starting at birth. The specie *E. bareillyi* was first identified in feces culture. Later other species of *Eimeria* already described in water buffalo were identified. The animals which died were submitted to necropsy, revealing macroscopic lesions in the ileum region. Histological analyses of the ileum region showed acute necrotic enteritis and the presence of *Eimeria* sp. in different developmental stages. Early infection by this parasite could be responsible for a secondary bacterial infection trough the intestinal lesions. The utilization of prophylactic medication and the therapeutic treatment of clinical Coccidiosis in water buffalo calves are necessary to their satisfactory development and surveillance.

KEY WORDS: *Eimeria bareillyi*, water buffalo, epidemiology.

RESUMO

Neste trabalho foi realizado o estudo da evolução da eimeriose em bezerros bubalinos naturalmente infectados a partir do nascimento até o 23º dia de vida. A espécie *Eimeria bareillyi* foi a primeira espécie identificada na cultura de fezes dos bezerros. Posteriormente também foram identificadas outras espécies de *Eimeria* já descritas na literatura parasitando bubalinos. Os animais que morreram durante o experimento foram necropsiados, e apresentaram lesões macroscópicas na

região ilíaca. Foram observadas, através de análise histológica do íleo, lesões de enterite necrótica aguda e a presença de *Eimeria* sp. em diferentes fases de evolução. Infecções precoces por este parasito podem ser responsáveis por infecção bacteriana secundária através das lesões intestinais por ele causadas. A utilização de medicação profilática e terapêutica específica para a coccidiose em bubalinos são necessárias para o bom desenvolvimento e sobrevivência dos animais.

PALAVRAS-CHAVE: *Eimeria bareillyi*, búfalo, diagnóstico.

INTRODUÇÃO

A bubalinocultura é uma atividade em crescimento em todo o Brasil (MAPA, 2006), impulsionada pela maior valorização do leite da búfala na indústria de produtos lácteos e pela valorização do leite decorrente da sua composição rica em sólidos totais. Também a carne de búfalo possui características nutricionais ímpares, como os teores de proteína de alto valor biológico, presença de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais, e pelos aspectos sensoriais desejáveis (OLIVEIRA, 2005).

* Sob os auspícios da Fapemig e CNPq.

¹ Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Escola de Veterinária (EV), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Antônio Carlos, 6.627, Caixa Postal 567, Campus da UFMG, Belo Horizonte, MG 30123-970, Brasil. E-mail: ebastianetto@yahoo.com.br

² Curso de Medicina Veterinária, Universidade Presidente Antônio Carlos, Bom Despacho, MG.

³ EV, UFMG, Belo Horizonte, MG.

⁴ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, EV, UFMG, Av. Antônio Carlos 6627, Caixa Postal 567, Campus da UFMG, Pampulha, Belo Horizonte, MG 30123-970. E-mail: rcleite@vet.ufmg.br

Para dar suporte à evolução da criação de búfalos, decorrente da demanda por parte do mercado consumidor por produtos derivados, é necessário compreender as doenças que acometem e limitam a produtividade desta espécie animal, como as parasitoses gastrintestinais, onde se destaca a eimeriose. A incidência dessa doença nos bubalinos é favorecida pela preferência dos búfalos em permanecer nos ambientes úmidos e quentes, adequados à esporulação e sobrevivência de oocistos de *Eimeria* sp. (DUBEY, 1985). Esta pode ser considerada um sério problema na criação de búfalos, onde determina alta morbidade e mortalidade nos animais jovens.

Magdoub, et al. (1999) demonstrou a influência das condições climáticas na prevalência de infecções por helmintos, *Fasciola gigantica* e *Eimeria* sp., em búfalos. Foi encontrada uma alta correlação entre a época do ano e infecção nos animais, quando esses apresentavam maiores taxas de infecção no verão. As espécies *Eimeria alabamensis*, *E. alburnensis*, *E. bareillyi*, *E. bovis*, *E. brasiliensis*, *E. bukidonensis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis* e *E. zurnii* foram descritas em bubalinos. Ray e Mandal (1962), citado por Griffiths (1974) descrevem também e espécie *E. ovoidalis* parasitando búfalos.

No Brasil, Cabral (1987) descreveu as espécies *E. auburnensis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. subspherica*, *E. wyomingensis* e *E. zuernii* em bubalinos. As espécies *E. ellipsoidalis*, *E. zuernii* e *E. wyomingensis* foram as mais frequentes, sendo diagnosticadas durante todo o ano. *Eimeria ellipsoidalis* predominou durante cinco meses do estudo, e permaneceu em altos índices nos meses de janeiro e fevereiro. *Eimeria zuernii* foi à espécie predominante durante quatro meses do ano e *E. wyomingensis* não predominou em nenhuma ocasião. As espécies *E. canadensis* e *E. subspherica* não foram encontradas no período de setembro a dezembro. A espécie *E. subspherica* apresentou índice de frequência mais alto no mês de março, e seus índices apresentaram-se flutuações nos meses restantes. As faixas etárias que apresentaram maior prevalência de *Eimeria* spp. foram de 4–6 meses e 10–12 meses. Ribeiro et al. (2000) encontrou uma prevalência de 100% de *Eimeria* spp. parasitando búfalos, com e sem diarreia, com idade entre três e quarenta e cinco dias criados no Vale do Ribeira, estado de São Paulo. Foi diagnosticada a maior prevalência de *Eimeria* spp. em animais com três semanas de idade. Bastianetto (2003)^a diagnosticou, em exames realizados em búfalos da raça Jafarabadi a partir do nascimento dos animais no ano de 2003, oocistos de *Eimeria* spp. nas fezes a partir dos oito dias de idade. A maior concentração de oocistos foi encontrada no segundo mês de vida. Não foi diagnosticada a presença de oocistos de *Eimeria* spp. em animais com idade superior aos 160 dias. Relata ainda, dois episódios de mortalidade de cinco e treze búfalos jovens em uma mesma propriedade, ocorridos respectivamente na primavera de 2004 e 2005. A contagem média de oocistos por grama de fezes, de bezerros que sobreviveram no ano de 2004, foi 1.500.000 oocistos da espécie.

Para Bhatia (1992) e Griffiths (1974), com exceção de *E. bareillyi*, todas as outras espécies acima citadas são comuns em bovinos e bubalinos. Nalbantoglu, et al. (2008) consideram as espécies *E. ankarensis* e *E. bareillyi* como específicas dos bubalinos. *Eimeria bareillyi* destaca-se dentre as demais espécies que parasitam o intestino delgado de bezerros bubalinos e são eliminadas em grande quantidade nas fezes de bezerros durante as duas primeiras semanas de vida. A coccidiose em bubalinos geralmente é assintomática, mas pode manifestar-se de através de alterações intestinais seguidas de diarreia com muco ou sangue, desidratação, pêlos arrepiados, baixa conversão alimentar, anemia, debilidade e perda de peso (BATHIA, 1992; LÁU, 1999).

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido em uma fazenda localizada no município de Oliveira, MG, Brasil, no período de Janeiro a Março de 2007. Os bezerros foram criados em área pavimentada e cama de maravalha com densidade de 0,61 animais/m². Foram alimentados com aproximadamente 3,5 litros de leite/dia, ingeridos diretamente do teto durante a ordenha, farelo de soja e capim Napier e água *ad libitum*. Foram coletadas, identificadas e anotadas em formulário próprio, amostras individuais de fezes diretamente da ampola retal a cada dois dias de 109 bezerros nascidos no período de fevereiro a março de 2007. A frequência de *Eimeria* spp. foi avaliada através da contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG) utilizando-se a técnica de Gordon e Whitlock (1939), modificada por Whitlock (1948) e descrita por Ueno e Gonçalves (1998). As identificações das espécies do gênero *Eimeria* presentes foram realizadas em *pool* de fezes positivas, compostos da mistura de fezes de animais positivos com diferença de idade não superior a cinco dias. A esporulação dos oocistos foi realizada em placas de Petri por um período de duas semanas em temperatura ambiente sobre bancada, diluídas em uma solução de dicromato de potássio a 2,5 % e foram transferidas para tubos plásticos de tampa rosqueada de 50 mL, identificados com o número de cada grupo. Os tubos foram mantidos em temperatura de geladeira, entre 4 e 8 °C até a identificação das espécies. As espécies encontradas foram identificadas através da análise das características morfológicas dos oocistos e esporocistos após esporulação, de acordo com chave descrita por Levine (1973) e Levine e Ivens (1965). Para identificação das espécies, utilizou-se um microscópio da marca Olympus CBB ao qual foi acoplada uma lente ocular micrométrica Olympus OSM-4

Apesar do tratamento terapêutico, os animais com graves manifestações clínicas de coccidiose foram submetidos, durante o período de colheita de amostras, morreram três bezerros de idade média de 22 dias. Estes foram necropsiados e amostras de tecido de áreas lesadas do intestino delgado foram coletadas, fixadas em formol a 10% e encaminhadas para verificação histopatológica. Animais foram medicados na fase aguda dos sintomas, porém não sobreviveram ao tratamento.

^a Informação pessoal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do 13º dia de vida os animais mais parasitados apresentavam apatia, podendo ser observada eventualmente, a presença de muco e sangue nas fezes (Figura 3b). *Eimeria bareillyi* foi a primeira espécie identificada nas fezes dos bezerros, permanecendo como única espécie presente nas fezes de bezerros



Figura 1. Oocistos esporulados: a,b - *Eimeria bareillyi*, c- *E. bovis*. Solução Saturada de açúcar. 2000X.

do 7º ao 14º dia de vida. A associação dos sintomas com a presença do agente indica a patogenicidade da espécie. Dentre as espécies identificadas, destaca-se a espécie *E. bareillyi*, parasito exclusivo de bubalinos com aparente alta patogenicidade e ciclo de desenvolvimento rápido, dado a precocidade de seu diagnóstico nas fezes dos animais. Gill et al. (1963), citado por Levine (1973), observaram a eliminação de até 1,9 milhões de oocistos de *E. bareillyi* por grama de fezes.

São poucas as informações disponíveis na literatura referentes a *E. bareillyi*. A identificação desta espécie foi realizada em conformidade com a descrição de Levine (1973). O oocisto esporulado apresenta morfologia piriforme típica, parede amarelada escura de aproximadamente 1mm, Possui micrópila, grânulo polar ausente, e o resíduo pode estar presente. Apresenta tamanho variável de 26-35 por 19-25 mm de diâmetro. Os esporocistos possuem corpo de Stieda e apresentam dimensões de 18 por 8 mm de diâmetro. Estas descrições coincidem com os achados do presente trabalho onde as médias dos diâmetros maior e menor dos oocistos e esporocistos mensurados, como pertencentes à espécie *E. bareillyi*, foram 28-30 x 19-21mm e 15x7mm, respectivamente, tomados de 48 espécimes. As características de forma e dimensão permitiu identificar o parasito como *E. bareillyi* (Figuras 1a,b).

Adicionou-se ao texto uma fotografia da *E. bovis* (Figura 1c) de origem bovina para comparação da morfologia de *E. bareillyi* com de *E. bovis*, uma vez que, durante os exames ambas as espécies tiveram dimensão e morfologia semelhantes.

Na Figura 2 estão apresentadas às lesões macroscópicas e microscópicas na região ilíaca do animal necropsiado. Em destaque o aumento da vascularidade na região ilíaca do intestino delgado (Figura 2a) de bezerros bubalino parasitado por *Eimeria* spp. que veio a óbito aos 22 dias de idade, causada pela reação inflamatória local em função do intenso parasitismo.

A análise dos cortes histológicos de tecidos do íleo (Figura 2 b,c) oriundos do animal necropsiado de 22 dias de vida, revela também lesões sugestivas da patogenicidade de *E. bareillyi* pela presença de formas evolutivas do parasito, similares aos achados de Pande et al.(1971). Em destaque na Figura 2c o formato piriforme do oocisto na porção média da vilosidade intestinal.

A localização e lesões diagnosticadas na mucosa intestinal coincidem com as descritas por Pande et. al. (1971) e Sanyal et. al.(1984). As características de forma e dimensão dos oocistos e também a localização predominante das lesões ileais reforçam a identificação do parasito como pertencente a espécie *E.bareillyi*. Entretanto, as lesões intestinais observadas podem também ter resultado da associação da patogenia das várias espécies de eimérias identificadas neste trabalho. *Eimeria bareillyi* parasita as porções superficial e média da vilosidade intestinal o que sugere que esta espécie determina em geral média patogenicidade.

Paralelamente, foram identificadas nas culturas de oocistos, as seguintes espécies, com respectivas proporções e idade dos animais: *E. bareillyi* (77%) e *E. bovis* (33%) (13-16 dias), *E. bareillyi* (33%), *E. bovis* (16%), *E. auburnensis* (10%) e *E.*

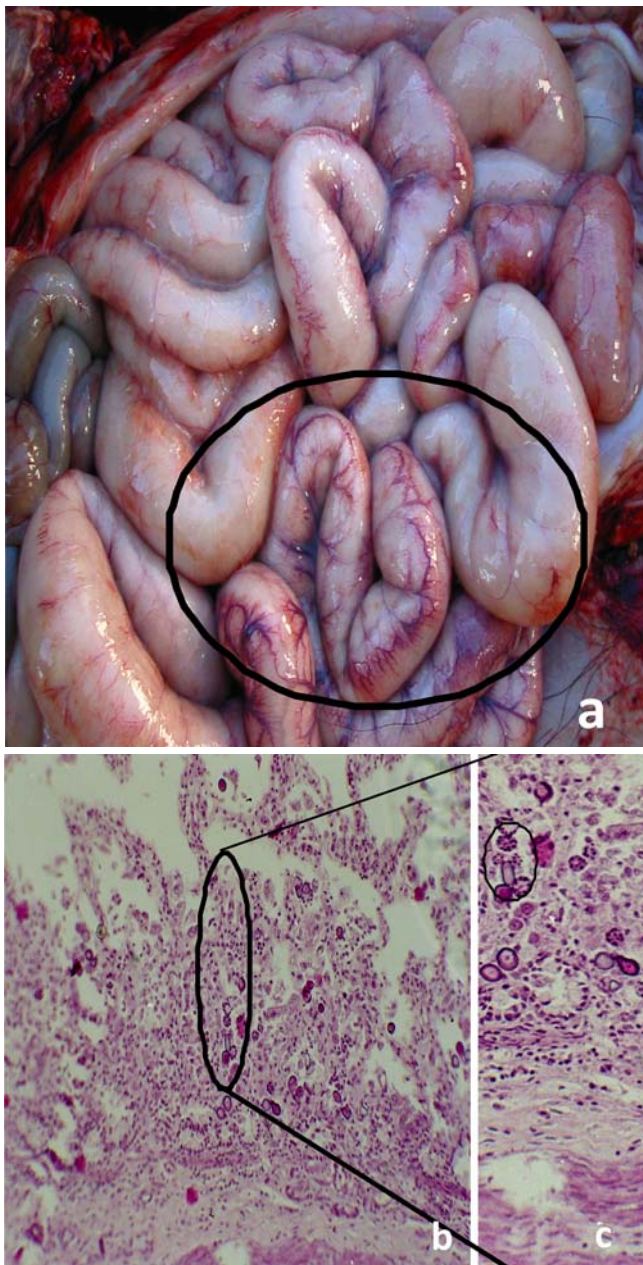


Figura 2. Intestino delgado de um bubalino intensamente parasitado por coccídios: a. Congestão da serosa do íleo, b. Aspectos microscópicos da mucosa do íleo com intensa descamação da mucosa, 500X e c. Aumento maior de b, onde se observa a presença de estádios de coccídios, caracterizados em sua maioria por gametócitos, 800X. H.E.

subspherica (41%) (15-18 dias) e *E. bareillyi* (34%), *E. bovis* (12%), *E. cylindrica* (2%) e *E. subspherica* (41%) (20-23 dias).

Ainda que *E. bovis*, de conhecida patogenicidade também para bubalinos (Pande, 1971), tenha sido diagnosticada associada a sintomas à partir do intervalo entre 13 e 16 dias de idade dos bezerros, sua frequência permaneceu sempre numericamente inferior e não foram observadas lesões de ceco e cólon, locais de sua distribuição, o que reforça a ação patogênica da *E. bareillyi*. Considerando-se o alto potencial biótico desta espécie, a debilidade dos animais intensamente parasitados por ela, decorrente

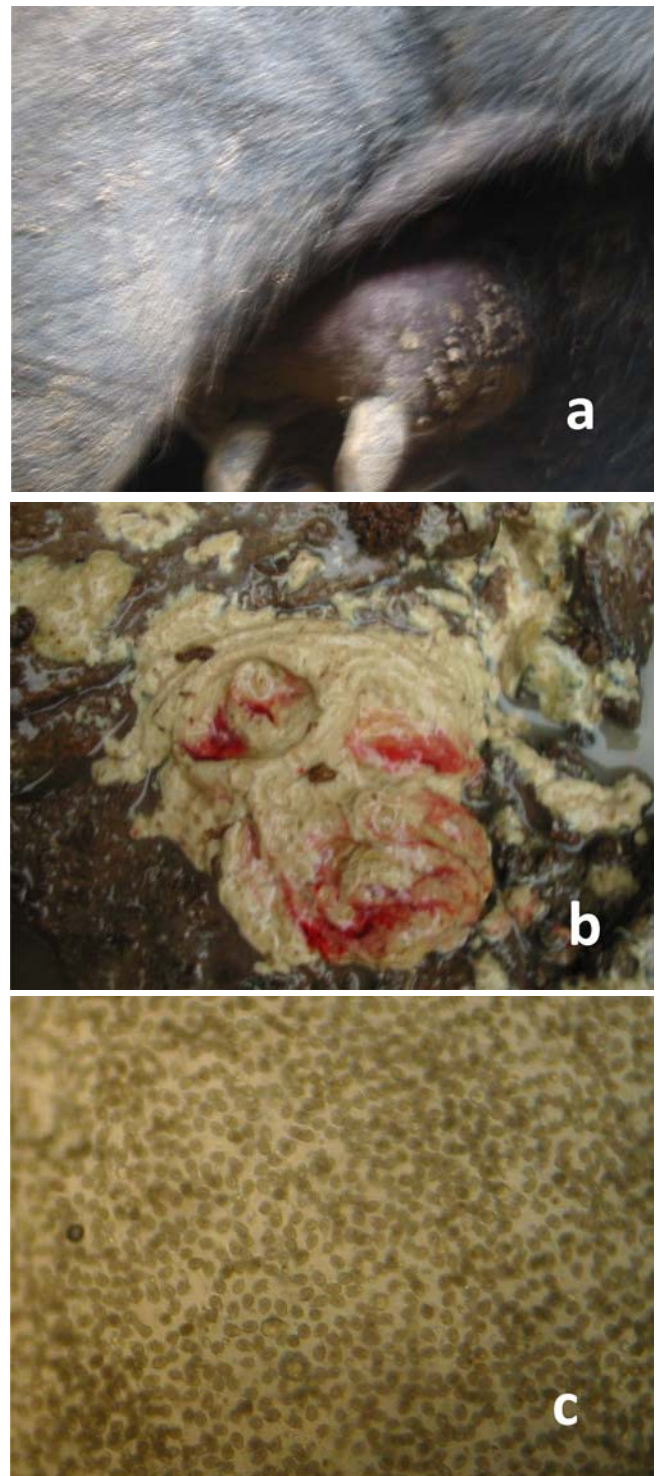


Figura 3. Coccidiose em búfalos: a. Úbere sujo de matéria orgânica positiva para oocistos de *Eimeria* spp., b. Fezes de bezerro com muco e sangue e c. Câmara de Mac-Master rica em oocistos de eimérias (486.000) de formato piriforme. 100X

da redução na capacidade digestiva e desidratação, pode-se inferir novamente a importância desta espécie no desenvolvimento de uma enteropatia grave em bezerros bubalinos.

As contagens médias de oocistos (OoPGs) segundo a idade dos animais encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Numero de animais por idade e contagem média de oocistos por grama de fezes de bezerros bubalinos, Oliveira, MG, 2007.

Idade (dias)	N	Média ± dp	Idade (dias)	N	Média ± dp
2	2	2.2±4.91	13	18	394.44±464.59
3	7	57.14±151.18	14	8	425.00±934.65
4	5	280.00±626.09	15	18	1615.78±5019.76
5	11	15900.00±516242.37	16	8	740.00±1057.46
6	8	450.00±754.03	17	21	10914.29±31800.08
7	14	450.00±1125.06	18	13	48932.31±79066.34
8	6	466.66±445.72	19	20	26971.43±65156.74
9	11	963.63±1196.05	20	14	213561.50±400121.3
10	6	14133.33±32474.03	21	23	117058.30±251978.40
11	14	592.85±936.82	22	14	104675.40±133179.30
12	6	133.33±150.55	23	19	125436.80±280986.30

Verifica-se a presença de oocistos nas fezes de bezerros com idade superior a dois dias, com um pico de contagem nos animais de cinco e 10 dias de idade, cuja origem provavelmente resultou da contaminação ambiental e ingestão acidental no ato de mamada (Figura 3a), conforme já observado também por Bhatia (1992). Este processo de contaminação poderá ou não, dependendo do estado de evolução das formas infectantes ingeridas, resultarem em infecção ativa e em doença (Figura 3b). Este processo provavelmente explica a precocidade das manifestações da coccidiose bufalina a partir dos 13 a 16 dias de idade dos animais conforme observado neste trabalho. Observa-se ainda uma elevação intensa das contagens de OoPG a partir do 17º dia de idade (Figura 3c) que permaneceram crescentes até ao 23º dia de vida em observação, período que culminou com as mortes ocorridas no rebanho estudado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASTIANETTO, E. *Helminthoses de bubalinos no município de Dorcas do Indaiá – Minas Gerais, Brasil*. 2006, 54f. Tese (Mestrado) Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.
- BHATIA, B. B. Parasites of river buffaloes In: TULLOH, N.M.; HOLMES, J. H.G. *Buffalo Production*. Amsterdam:FAO, 1992, Cap. 15, p. 309-310.
- BISWAL, G. Coccidiosis in Buffaloes Calves. *Indian Veterinary Journal*, v. 25, n.1, p. 36-38, 1948.
- CABRAL, D.D. *Ocorrência de Coccídios em Búfalos da Micro-Região de Uberlândia, Minas Gerais*. 1987. 62f. Tese (Mestrado) Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1987.
- GRIFFITHS, R. B. Parasites and Parasitic Disease. In COCKRILL W.R, *The Husbandry and Health of Domestic Buffalo*, Roma: FAO 1974, Cap 10, p 236-275
- KPAHRA, S.; SINGH, J. Coccidiosis in Buffaloes: Calves and its Treatment. *Buffalo Bulletin*, v. 5, n. 1, p. 9-17, 1986.
- LÁU, H.D. *Doenças em Búfalos no Brasil: Diagnóstico, Epidemiologia e Controle*. Belém: Embrapa-CPATU, 1999 p 27-31.
- LEVINE, N. D. *Protozoan parasites of domestic animals and man*. Minneapolis: Burgess Publishing Company. 1973, p. 175.
- LEVINE, N.D.; IVES, V. *The coccidia parasites (Protozoa, Sporozoa) of rodents*. Urbana, Univ. Illinois Press, 1965, 365p.
- MAGDOUB, A.A.; SAYED I.A.; MANDY A.E. Relationship between system of raising Egyptian buffaloes and effect of climate conditions on the helminthic infection rate, middle delta, Egypt. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, v. 29, n. 2, p. 505-515, 1999.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/page/mapa/estatisticas/pecuaria/3.7.xls>>. Acesso em: Fev 2006.
- NALBANTOGLU, S.; SARI, B.; CICEK, H.; KARAER, Z. Prevalence of Coccidian Species in the Water Buffalo (*Bubalus Bubalis*) in the Province of Afyon, Turkey. *Acta Veterinaria*, v. 77, n.1, p. 111-116, 2008
- OLIVEIRA, A.L. Búfalos: produção, qualidade de carcaça e de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.29, n.2, p.122-134, 2005.
- PANDE, B.P.; BHATIA, B.B.; CHAUHAN, P.P.S. Sexual stages and associated lesions in *Eimeria bareillyi* of buffalo calves. *Indian Journal Animal Science*, n. 41, v. 3, p. 151-154, 1971.
- RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H.; JEREZ, J. A.; LEITE, D. S.; FERREIRA, F.; GENNARI, S. M. Identification of enteropatogens from buffalo calves with and without diarrhoea in the Ribeira Valley, State of São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 37, n. 2, 2000. Disponível em : <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95962000000200013&lng=en&nrm=iso&tlang=en>, acesso em: 03/11/2008
- SANYAL, P.K.; RUPRAH, N.S.; CHHABRA, M.B. Chemotherapeutic efficacy of sulphadimidine, amprolium, halofuginone and chloroquine fosphate in experimental *Eimeria bareillyi* coccidiosis of buffaloes. *Veterinary Parasitology*, v.17, n. 2, p. 117-122, 1985.
- UENO, H.; GONÇALVES, P. C. *Manual para Diagnóstico da Helminthoses de Ruminantes*. 4ªed. Porto Alegre: JICA. 1998, p. 72.

Recebido em 30 de abril de 2008.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2008.