

ESTUDOS SÔBRE A EIMERIOSE EM AVES. OBSERVAÇÕES A RESPEITO DA ETIOLOGIA¹.

WILHELM BRADA²

Sumário

São apresentadas observações sôbre eimérias encontradas no intestino delgado de galinhas e no trato intestinal de perus e pombos.

É descrita também uma espécie de eiméria em pintos, cujos caracteres morfológicos diferem daqueles descritos nas demais espécies de coccídias na galinha. O autor indica o perigo de contaminação pela digestão de um só oocisto em pintos. Pelas observações pessoais *Eimeria tenella* pode conservar seu poder infestante na água de torneira por dois anos e dois meses e *E. necatrix* por um ano e dois meses.

INTRODUÇÃO

Cremer (1957) fez detalhada revisão bibliográfica sôbre pesquisas relacionadas com a coccidiose, da qual citaremos os mais importantes dados do histórico de sua investigação.

Em 1839, Hake observou oocisto no fígado de coelhos. Em 1865 Stidae esclareceu a evolução d'êstes oocistos fora do corpo do animal, refutando assim a opinião de diversos pesquisadores, de que tais organismos eram ovos de parasitos intestinais. Cinco anos mais tarde, Eimer descreveu pela primeira vez a esquizogonia. As formas evolutivas dentro do hospedeiro foram denominadas por Schneider em 1875 de "eimérias", enquanto que as formas redondas encontradas fora do hospedeiro, foram denominadas em 1879 por Leuckart de "coccídias". Três anos depois, Pfeiffer verificou a correlação entre os processos ocorridos dentro do corpo do hospedeiro e os processos fora do animal. Mas já em 1878, Schaudin e Sidlecki tinham dividido o ciclo evolutivo do protozoário em "esquizogonia e esporogonia". A esporogonia foi denominada por Hartmann em 1904 de "gametologia". Atualmente distinguimos durante o ciclo evolutivo de coccídias, uma forma endógena (esquizogonia, gametologia ou evolução sexual) e uma evolução endógena. No ano de 1873, Silvestrini e Rivolta denominaram tôdas coccídias encontradas em aves *Psorospermium avium*, denominação esta

mantida até 1891, quando Railliet e Lucet denominaram as coccídeas encontradas em galináceos *Coccidium tenellum*. Em 1910 Fanthan substituiu a denominação "coccidia" pelo nome "eiméria". Até o ano 1910 tôdas espécies de coccídias encontradas em aves domésticas e selvagens foram denominadas *Eimeria tenella* Railliet e Lucet com sinônimo *Eimeria avium* Rivolta. Em 1916, Smith comunicou ter encontrado também em perus, várias espécies de eimérias.

Reich *et al.* citado por Yakimoff e Rastegaieff (1923), observaram eimérias em galinhas e afirmaram tratar-se de várias espécies. Johnson (1930) separou pelo tamanho de oocistos encontrados, diversas coccídias de galinhas e perus. Tyzzer (1929) como primeiro pesquisador, diferenciou coccídias em galinhas, perus e faisões, verificando em galinhas quatro espécies bem distintas: *E. tenella*, *E. mitis*, *E. acervulina* e *E. maxima*. Além disso, Johnson (1930) descreveu *E. necatrix* e *E. praecox*. Na União Soviética, Yakimoff e Rastegaieff (1923) diagnosticaram mais três espécies, *E. johnsoni*, *E. tyzzeri* e *E. beachi*. Scholtyssek (1953) porém, duvida tratar-se de espécies diferentes. Levine (1938) descreveu outra espécie *E. hagani* e mais uma outra, *E. brunetti* (Levine 1942).

O causador da eimeriose em aves é um protozoário do gênero *Eimeria*. Segundo Morgan e Hawkins (1952) existem em galinhas oito espécies de eimérias: *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. brunetti*, *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. hagani*, *E. mitis* e *E. praecox*. Em perus, as mais importantes são *E. meleagridis* e *E. meleagritidis*; em gansos *E. parvula*, *E. truncata*, *E. ganseris* e *E. nocens*; em pombos a mais importante é *E. labbeana*; em faisões temos *E. phasianis* e

¹ Trabalho realizado sob auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas nos anos de 1959 e 1960. Recebido para publicação em 12 de abril de 1966 e constitui o Boletim Técnico n.º 31 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS).

² Biologista da Seção de Ornitopatologia do Serviço de Pesquisas de Patologia Animal do IPEACS, Km 47, Campo Grande, Rio de Janeiro.

E. dispersa. Em patos as referências são escassas a respeito de coccídias.

O diagnóstico de diversas espécies de eimérias parasitando um determinado animal é feito pelo aspecto de alterações anátomo-patológicas provocadas pelo protozoário, pela localização destas alterações no trato intestinal, pelo tamanho e pelos caracteres morfológicos do parasita, pelo tempo da esporulação dos oocistos coletados, pela duração do período de incubação, pelo exame histológico do órgão atacado, pelo resultado da experimentação em animais do laboratório e pela imunização cruzada.

A seguir apresentaremos:

1. Observações sobre eimérias do intestino delgado em galinhas.
2. Observações sobre eimérias em outras aves (perus, pombos e patos).
3. Dois experimentos colaterais com *E. tenella* e *E. necatrix* a respeito do poder infestante.

Os resultados de nossos estudos sobre eimérias encontradas em periquitos são reservados para publicação separada.

MATERIAL E MÉTODOS

As eimérias diagnosticadas e isoladas provinham de pintos, frangos e galinhas adultas, de perus, pombos, patos, provenientes do Estado do Rio e da Guanabara.

Como animais da experimentação utilizamos animais a partir de um dia de idade. A esporulação foi realizada em placas de Petri com bicromato de potássio 2,5% na temperatura entre 20 e 30°C em ambiente ou estufa a 37°C. As medidas de oocistos foram efetuadas por meio dum micrômetro ocular, munido de parafuso para medições exatas (da firma Leitz) ou por meio de uma ocular micrométrica incluída dentro da ocular. Foram medidas em média 50 oocistos para se verificar a dimensão média do parasita. Para isolamento de oocistos usamos o micromanipulador (da firma Leitz). Conseguimos a separação do parasito em estudo, por seguidas passagens do organismo em gotas de sôro fisiológico, sempre se obtendo um número menor de oocistos até se conseguir isolar um oocisto único. Este oocisto foi colocado em cima de uma gota de parafina sólida e introduzido por meio dum pinça fina no Inglúvio do animal de experimentação.

O número de oocistos introduzidos para fins de infestações artificiais, variava entre 1 até 200.000. Trabalhamos sempre com dois grupos, um testemunha. Os animais assim infestados foram criados sob condições especiais, para evitar contaminação acidental.

Para verificar o tempo de virulência dos oocistos, trituramos o conteúdo intestinal com bicromato de potássio a 2,5% e colocamos em placas de Petri até a esporulação; o material era depois passado em filtro de gaze, lavado em salina e guardado em frascos de Erlenmeyer ou tubos de ensaio com água.

RESULTADOS

Eimérias encontradas no intestino delgado de galinhas

Pelas nossas observações durante três anos e cinco meses *E. tenella* se mostrou o mais freqüente causador de eimeriose em galinhas.

Diagnosticamos esta espécie em 86 casos (74 vezes em pintos, 11 vezes em frango e uma vez em galinha adulta).

A eimeriose com oocistos localizados no trato intestinal fora dos cecos particularmente no intestino delgado foi observada 37 vezes (16 vezes em pintos, nove vezes em frangos e 12 vezes em aves adultas).

Era interessante observar que esta forma de eimeriose não se manifestava em forma dum epizootia grave, como ocorre durante a infestação causada por *E. tenella*. Em geral entraram para exame alguns casos esporádicos com a anamnese, de que não havia grande mortalidade entre os animais.

Para a identificação das eimérias localizadas nesta parte do intestino, serviram-nos em primeiro lugar as lesões anátomo-patológicas e a localização destas alterações. Assim encontramos em 16 casos entre 37, graves lesões no intestino delgado, particularmente na parte média do órgão, em alguns casos já começando pouco distante da saída da moela no duodeno. Estas alterações eram muito bem visíveis através da serosa do intestino não aberto. O órgão nesta parte se apresentou dilatado, inflamado com focos esbranquiçados, associados com focos escuros avermelhados, ambos do tamanho da cabeça de alfinete e maiores. No corte estes focos se encontraram profundamente situados dentro da parede intestinal. A parede desta parte do trato digestivo se mostrou em alguns casos de consistência friável e arrebentava quando apanhada pela pinça.

Verificamos espessamento acentuado da parede. O intestino aberto revelou conteúdo mucoso até gelatinoso escuro e amarelo-sanguinolento. Na mucosa intestinal encontramos hemorragias puntiformes ou petéquias e em forma de estrias e focos pequenos amarelados. Estas alterações diminuíam de intensidade nas partes finais do intestino. Os cecos se apresentavam macroscopicamente normais.

O exame microscópico da parte média do intestino delgado revelou merozoítos em grande número e eritrócitos. Na parte inferior do órgão e nos cecos en-

contramos oocistos com polos mais estreitos, com casca dupla e com pequeno espaço vazio entre a membrana e o plasma. Não encontramos sempre corpúsculo polar. O tamanho destes oocistos variava entre 13,9 x 10,9 micra até 22 x 19 micra. O número de oocistos menores era preponderante. A esporulação dos oocistos coletados ocorreu a partir de 24 horas e terminou em 48 horas, embora não totalmente. Acharmos este fato interessante, porque a esporulação de oocistos de *E. tenella* em condições idênticas ocorreu sempre durante 24 horas.

Com estes oocistos esporulados infestamos pintos de 7 dias e provocamos a moléstia no sexto e sétimo dia após a contaminação. Os primeiros oocistos apareceram nas fezes sete dias após a contaminação. O exame histológico das partes do intestino alterado revelou esquizontes numerosos no epitélio intestinal e em abundância nas glândulas da mucosa, bem como forte descamação epitelial e hiperemia. Hemorragias nas porções profundas das criptas eram bem perceptíveis. (Figs. 1 e 2)



FIG. 1. Esquizontes de *E. necatrix* nas glândulas da mucosa intestinal. Obj. 20

O experimento da transmissão da doença foi realizada em cinco casos entre 16, revelando os animais artificialmente contaminados as mesmas lesões e os mesmos oocistos vistos nos animais com a doença natural.

Embora não tenha sido feita a imunização para completar o nosso diagnóstico, julgamos ter neste caso identificado a eimeriose por *E. necatrix*.

Em quatro casos encontramos lesões do intestino delgado que nos levaram a suspeitar de se tratar da eimeriose causada por *E. acervulina*. Particularmente

um caso da eimeriose em pintos de 7 dias se apresentou com todas as características desta moléstia.

Pela anamnese havia mortalidade elevada nesta criação. Durante a necrópsia verificamos o trato in-



FIG. 2. Grande número de esquizontes nas extremidades das vilosidades intestinais. Obj. 20

testinal de aspecto macroscopicamente normal. Abrindo o intestino delgado, o conteúdo se apresentou de consistência líquida, em parte mucosa, de cor amarelada. A mucosa da parte inicial do órgão se mostrou congesta, inflamada, apresentando numerosos focos amarelo-esbranquiçados de tamanho menor que a cabeça de alfinete. Não encontramos macroscopicamente traços de sangue no conteúdo intestinal nem hemorragias na mucosa.

Retiramos da superfície da mucosa material para exame microscópico e verificamos numerosos oocistos de tamanho de 16,8 x 14,6 até 20 x 16,2 micra de forma ovóide com casca dupla. O plasma enchia totalmente o oocisto; em alguns casos havia espaço vazio entre o citoplasma e a membrana. A esporulação dos oocistos terminou dentro de 17 horas. Foram infestados com material esporulado nove pintos de idade de 1 dia que adoeceram quatro dias após a infestação. No sexto dia morrem dois, no sétimo dia dois animais e o resto foi sacrificado no mesmo dia. A necrópsia de todos os animais revelou enterite catarral acentuada com hemorragias muito discretas e focos amarelados, pequenos, contendo oocistos em grande número e alguns merozoítos. Pelo exame histológico verificamos já com pequenos aumentos, que as porções superficiais das vilosidades mostraram-se parasitadas por esquizontes ovóides; estas formas evolutivas quando examinadas com maiores aumentos de-

monstraram ser constituídas de inúmeros e pequenos núcleos; os elementos celulares invadidos pelo parasito deixaram ver um núcleo em meia lua e de situação periférica. Nas porções inferiores de algumas criptas, alguns oocistos eram observáveis. (Fig. 2)

Lesões semelhantes causadas pelo mesmo parasita encontramos em pintos de dois meses e em frangos de quatro meses, como também em uma galinha adulta em plena postura, que apresentou além disso lesões de leucose linfóide. Com os oocistos coletados deste animal conseguimos infestar pintos de 1 dia os quais adoeceram e morreram entre o sétimo e oitavo dias. Os resultados de nossas experiências confirmaram nosso diagnóstico de se tratar de eimeriose causada por *E. acervulina*.

E. maxima foi por nós diagnosticada em dois casos. Um frango apresentou na metade inferior do intestino delgado conteúdo mucoso, ligeiramente sanguinolento. A mucosa de aspecto congesto mostrou coloração acinzentada. No material coletado verificamos oocistos grandes de cor amarelada e de forma ovóide com casca muito bem distinta e de tamanho de $24,1 \times 19,8$ micra até 35×31 micra. A esporulação ocorreu em 24 horas embora não totalmente, (número de esporulados aproximadamente igual ao número dos oocistos não esporulados), permanecendo neste estado continuamente. Os mesmos oocistos encontramos numa galinha adulta com enterite catarral no intestino delgado, sendo as alterações nítidas a partir do duodeno até o ponto da bifurcação dos cecos. Os oocistos apresentaram tamanho $27,8 \times 21,7$ micra até $32,1 \times 25,7$ micra. Eram de cor amarelada, com grande espaço vazio entre o citoplasma e a casca. A esporulação começou a partir de 20 horas e acabou incompleta em 24 horas. Não conseguimos infestar pintos com os oocistos esporulados.

Além dessas eimérias por nós identificadas em cultura pura encontramos em seis casos, tanto em frangos, como em galinhas adultas, infestações causadas tanto por *E. necatrix* como também por *E. acervulina* num animal só. Verificamos lesões anátomo-patológicas no intestino delgado em forma de enterite grave, alterações profundas da parede e alterações superficiais na mucosa da parte inicial do órgão, com focos pequenos amarelados situados na mucosa. O exame microscópico destas lesões revelou oocistos de *E. acervulina* enquanto o material coletado da porção inferior do intestino mostrou oocistos de *E. necatrix*, misturados com *E. acervulina*. Coletadas ambas as formas de oocistos, uma dessas esporulou durante 17 horas e outras no fim de 48 horas.

Uma associação de *E. necatrix* e *E. maxima* encontramos quatro vezes em frangos de três meses. Os

animais apresentavam enterite catarral com conteúdo intestinal mucoso e com traços finos de sangue. O exame microscópico revelou duas formas de oocistos bem diferentes pelo seu tamanho, a sua cor, sendo uma espécie de coloração amarelada. Ambos oocistos esporularam em 48 horas. Introduzido os oocistos em pintos de 7 dias os animais adoeceram oito dias após a infestação. Os oocistos apareceram nas fezes no sexto e sétimo dias. Sacrificados os animais, estes apresentaram enterite acentuada com espessamento da parede e petéquias e focos amarelados associados a manchas vermelhas, particularmente na parte média do intestino delgado; o exame microscópico da superfície da mucosa revelou oocistos de *E. necatrix* e de *E. maxima*.

Em três casos encontramos em frangos duas espécies de oocistos coletados da parte inicial do duodeno. Este órgão se apresentou ligeiramente inflamado com focos pequenos esbranquiçados associados com manchas avermelhadas. No microscópio verificamos oocistos oblongos de *E. acervulina* e oocistos redondos com casca dupla de tamanho de $12,9 \times 10,6$ até $18,2 \times 17,9$ micra e formas esféricas de $10,9$ até $13,8$ micra de diâmetro, quase sem espaço vazio entre o citoplasma e a casca do organismo. A esporulação ocorreu em dois períodos a saber: em 20 horas em oocistos oblongos e 48 horas em oocistos esféricos. Os oocistos introduzidos em pintos sensíveis não produziram sintomas de doença; os oocistos porém apareceram no quinto dia por infestação. Nos animais sacrificados no décimo dia encontramos as duas espécies de oocistos sem apresentarem nos intestinos lesões apreciáveis.

Pelos caracteres morfológicos dos oocistos redondos e esféricos julgamos ter identificado uma infestação por *E. mitis* associada a *E. acervulina*.

Dois vezes encontramos em pintos de 6 a 8 semanas oocistos esféricos, incolores, com membrana dupla, com citoplasma granuloso, redondo, situado concêntricamente dentro do oocisto, deixando grande espaço vazio entre a casca e o citoplasma. A dimensão destes oocistos se mostrava constante, isto é, entre $29,1$ micra até $29,2$ micra de diâmetro. Alguns oocistos mostraram corpúsculo polar. A esporulação no bicromato de potássio começou no fim de 24 horas formando-se dentro do oocisto quatro esporos oblongos de 25 a 26 micra de comprimento. Estes oocistos encontramos associados uma vez com *E. tenella* e uma vez no intestino delgado com *E. necatrix*. Não conseguimos isolar e identificar este microorganismo por falta de um micromanipulador na época da verificação destes oocistos.

Realizamos um experimento colateral, aproveitando material de um frango com graves lesões de eimerio-

se causada por *E. necatrix*. Inoculamos uma suspensão de merozoíto desta espécie após a laparotomia diretamente no duodeno em cinco pintos de 8 dias de idade para verificar se conseguíamos infestar êstes animais por esta via de inoculação. Não conseguimos provocar a doença. Os animais se comportaram durante 21 dias de observação normais e sacrificados não mostram órgãos alterados nem foram observadas formas do parasita.

Eimérias identificadas em outras aves

Em peruzinhos de dois meses de idade encontramos duas espécies diferentes de oocistos que provocaram graves lesões no trato intestinal em forma de tiflite caseosa ou enterite catarral. Nos cecos os oocistos se apresentavam de forma elipsóide com corpúsculo polar, incolores e de tamanho mínimo de 22×18 micra e máximo $25,3 \times 19$ micra em média $23,8 \times 19,4$ micra. A esporulação ocorreu durante 24 horas começando já com 20 horas.

Uma outra forma encontrada no intestino delgado mostrou o tamanho mínimo de $14,9 \times 13,9$ micra e máximo de $17,3 \times 15,3$ micra em média $15,9 \times 13,9$ micra, com aspecto oblongo e incolor cuja esporulação ocorreu após 24 horas. Não conseguimos com nenhuma destas formas infestar pintos (de galinha). Pela forma, tamanho e pelas lesões provocadas pelas coccídias, pela inocuidade do parasita para pintos de galinha, julgamos se tratar de eimérias específicas para perus, sendo uma espécie *E. meleagridis* e a outra *E. meleagrimitis*.

Em três pombos jovens com poucos dias de vida com fraqueza nas pernas, encontramos enterite catarral acentuada do duodeno. O exame microscópico das fezes revelou *Trichomonas* associadas com grande número de oocistos de coccídias, com forma oblonga oval, com casca dupla muito delicada, o plasma enchia o espaço do oocisto totalmente ou não. O tamanho era de $19,2 \times 15,6$ micra no mínimo, e 32×29 micra no máximo.

A esporulação ocorreu em 24 horas. Depois da permanência do material coletado por cinco dias em bicromato de potássio e depois de lavagem com salina os oocistos esporulados foram introduzidos em dez pombos jovens com poucos dias de idade. Cinco dias após a infestação apareceram oocistos nos excrementos, sem apresentarem os animais sintomas de doença. Sacrificados os pombinhos nos oito dias após a infestação verificamos enterite catarral não muito acentuada e o exame do conteúdo intestinal revelou em todos os animais oocistos em número pequeno.

Não conseguimos infestar com êstes oocistos pintos. É interessante mencionar que os oocistos espo-

rulados destas espécies guardados em salina não se conservaram por muito tempo e se destruíram por si mesmo, já após dois meses, o que nunca aconteceu com outras espécies de oocistos em aves por nós estudadas. Em um pato de três meses de idade com diarréia e fraqueza nas pernas encontramos oocistos associados com *Trichomonas* no intestino delgado. Sem tratamento algum, os tricômonas diminuíram e o número de oocistos, aumentou de modo que durante nove dias encontramos no conteúdo intestinal somente oocistos ovais, com casca fina, de tamanho mínimo de $12 \times 9,6$ micra e no máximo de $14,8 \times 12$ micra. A esporulação se deu em quatro dias na temperatura de 23°C mas não completa. Não conseguimos infestar pintos com êstes oocistos.

Experimentos colaterais com oocistos de E. tenella e de E. necatrix a respeito de poder infestante e da resistência no meio líquido

A evolução da moléstia e a letalidade em consequência da infestação pelas eimérias, são influenciadas essencialmente pelo número de oocistos ingeridos e pelo poder infestante dos oocistos, dependente das condições do ambiente externo.

Realizamos neste sentido cinco experimentos e verificamos que um único oocisto esporulado de *E. tenella*, isolado pelo micromanipulador e introduzido no inglúvio de um pinto de um dia de idade, provocou a doença com tôdas as fases evolutivas. Os cecos dêstes animais após inclusão em parafina e coloração pela hematoxilina-eosina mostraram nos cortes, quando examinados com pequenos aumentos, uma perfeita preservação não só do epitélio que recobria a mucosa como também das porções superficiais destas, percebendo-se contudo nas partes profundas das criptas células parasitadas por esquizontes, os quais apresentavam um núcleo relativamente volumoso, em forma de meia lua e recalcado para a periferia do corpo celular; aquêles esquizontes eram constituídos ora de merozoíto arredondados e de núcleos debilmente corados, ora de merozoíto com boa afinidade tintorial pela hematoxilina e em forma de meia lua, não sendo rara a disposição dêstes últimos, como a dos gomos de laranjas.

Algumas células epiteliais das criptas mostraram o seu citoplasma nitidamente vacuolar e a presença de merozoítos redondos, ovóides, basófilos no conjunto e determinantes também da expulsão do núcleo para periferia na célula. Entre as criptas notavam-se pequenas hemorragias e infiltrações de eosinófilos.

Em outra série de experiências, aproveitamos oocistos esporulados e conservados em água durante os vários períodos abaixo mencionados, para introduzi-los posteriormente em pintos sensíveis.

Infestamos dez pintos com 10.000 oocistos de *E. tenella* guardados um ano e cinco meses e provocamos infestação latente. Somente pela necrópsia e pelo exame microscópico comprovamos a eimeriose. Após a infestação com 100.000 oocistos esporulados da mesma eiméria, guardados por um ano e três meses, a moléstia se manifestou tanto clinicamente como também por lesões anátomo-patológicas. Com 200.000 oocistos da mesma espécie guardados durante dois anos e dois meses conseguimos infestar todos os dez animais da experimentação.

Ao contrário de *E. tenella* não conseguimos infestar pintos com 200.000 oocistos de *E. necatrix* guardados por dois anos. Porém, o mesmo número de oocistos guardados por um ano e dois meses provocou a enfermidade dentro de 14 dias em todos pintos, com lesões anátomo-patológicas características de *E. necatrix*.

DISCUSSÃO

Como foi apresentada na introdução uma revisão geral sobre a ocorrência de eimérias em aves, limitar-nos-emos a discutir os resultados obtidos com as coccídias encontradas no intestino delgado.

Após a eimeriose causada por *E. tenella*, é aquela causada por *E. necatrix* a mais importante das galinhas, isto é, pelos danos que ela acarreta a estas aves. A identificação desta eimeriose se faz pela localização das lesões no órgão, pelo aspecto de alterações (profundas ou superficiais), pela presença das chamadas "colônias na mucosa", pelo poder infestante das eimérias encontradas, pelo tempo da esporulação, pelos seus caracteres morfológicos e pelo exame histológico do intestino lesado, pelo tempo da incubação (dia do aparecimento de oocistos nas fezes após a infestação artificial) e pela imunização cruzada.

No que se refere a evolução da doença, a eimeriose causada por *E. necatrix* é chamada "coccidiose crônica". Anteriormente foi *E. acervulina* responsabilizada pela evolução crônica desta eimeriose. Tyzzer *et al.* (1932) porém provou, que uma infestação artificial com esta espécie, nunca provocava lesões tão graves como durante infestações causadas por *E. necatrix*, cujo aspecto das alterações se mostravam por assim dizer patognomônica e nunca foi encontrada em nenhuma espécie de eiméria parasitando o intestino delgado. O termo "crônica" provavelmente foi usado em consequência da prolongada duração da moléstia em lotes de aves atacadas como também em animais em separado.

Enquanto a eimeriose causada por *E. tenella* com sua sintomatologia característica acompanhada com número alto de letalidade para, após um certo tem-

po, a eimeriose causada por *E. necatrix* se manifestar com a evolução mais lenta com menor número de casos mortais mas sempre com permanentes e inesperadas recidivas dentro da criação.

As alterações patológicas características junto, com os caracteres morfológicos, o poder infestante de oocistos e o exame histológico das alterações profundas no órgão lesado, permitem o diagnóstico desta espécie.

Um aspecto diferente mostra infestações causadas por *E. acervulina*. As alterações patológicas de caracter mais discreto, com sua sede na superfície da mucosa, a forma oblonga de oocistos associados com outras formas evolutivas do parasita nos focos denominados colônias, o tempo curto da esporulação e o exame histológico do intestino lesado justificam o diagnóstico desta espécie. Nossas experiências permitiram-nos também admitir patogenicidade elevada para galinhas, especialmente para animais jovens.

O diagnóstico da eimeriose provocada por *E. maxima* não devia causar dificuldades por causa da forma e do tamanho dos oocistos, de cor frequentemente amarelada. Também as lesões anátomo-patológicas pouco acentuadas e localizadas em todo o trato intestinal, exceto os cecos, ajudam identificar o parasita.

Somente *E. brunetti* poderia causar certas dúvidas. Ela porém se localiza nas partes inferiores do intestino delgado, no reto, nas partes estreitas dos cecos e na mucosa da cloaca. O tamanho destes oocistos é menor do que o de *E. maxima*, o comprimento médio de *E. maxima* se aproxima do comprimento máximo de *E. brunetti* (Levine 1942), o ciclo evolutivo é mais curto, os oocistos de *E. brunetti* são incolores. Os primeiros oocistos aparecem no fim do quinto dia após a infestação; os de *E. maxima* após o sexto dia.

A identificação de oocistos de uma espécie só, em geral não causa dificuldades. O assunto se complica porém, nos casos de uma infestação do animal com duas ou mais espécies, como acontece com muita frequência. Observamos durante nossos estudos tais infestações mixtas de *E. necatrix* com *E. acervulina* e *E. necatrix* com *E. maxima*, *E. acervulina* com *Eimeria* por nós considerada como *E. mitis*.

As nossas experiências nos ensinaram, que para a identificação de oocistos durante infestações mixtas, o tempo da esporulação como período da incubação (tempo da evolução do micróbio) coincide em várias espécies ou diferenças são muito pequenas. Levine (1940) examinou em 33 fazendas pintos, que em 92% não apresentavam sintomas de uma doença, para estudar a presença de oocistos nestes animais.

Os oocistos encontrados e isolados por meio de um micromanipulador foram após a esporulação introduzidos em pintos sensíveis, para elucidar o tempo da evolução das diversas espécies. Este experimento mostrou que os oocistos de *E. praecox* apareceram nas fezes no quarto dia, em alguns casos após três dias e 15 horas e meia, os de *E. maxima* na maioria no sexto dia, os de *E. hageni* no sétimo dia e os de *E. acervulina* e de *E. mitis* no quinto e os de *E. brunetti* no quinto dia.

O diagnóstico certo de diversas espécies de eimérias devia ser possível somente pela imunização cruzada, aproveitando-se a imunização adquirida dos animais após a infestação com determinada espécie de eimérias.

Para completar os nossos estudos sobre as eimérias em galinhas temos que mencionar uma espécie por nós encontrada e associada, com *E. tenella* e *E. necatrix*. Com sua forma sempre esférica, a sua dimensão constante de 29 micra de diâmetro, esta eiméria não se pode enquadrar em nenhuma espécie de eiméria até hoje assinalada em galinhas. Fica fora de nosso alcance, se se trata duma nova espécie. Como a forma e o tamanho de oocistos dependem da composição do alimento e os caracteres morfológicos, são influenciados em grande parte pelo meio exterior em que o parasita foi eliminado, e pelas condições químicas do conteúdo intestinal, é possível que sob certas condições ecológicas, o convívio de diversas espécies de animais por exemplo, pode acontecer a transmissão dum parasita dum hospedeiro para um outro de espécie totalmente diferente. Ry-savy (1956) afirmou em experiências estes fatos.

Durante o período de nove anos de nossas observações, uma única vez encontramos oocistos de eiméria em pombos, remetidos para esta seção em número reduzido; aliás, esta eiméria foi por nós diagnosticada como *E. labbeana*; ela não se mostrava muito virulenta em animais jovens. Segundo Giovanoni e Malheiro (1952), esta eiméria ocorre em 4% dos pombos encontrados no mercado de São Paulo.

O único material investigado relativo a eimeriose em patos não permite em absoluto a suposição de se tratar duma eiméria específica desta espécie. Relembrando a possibilidade da transmissão duma eiméria específica para um hospedeiro heterólogo em consequência de condições ecológicas, podemos admitir em nosso caso esta possibilidade, tanto mais que os patos ficaram em observações em gaiolas, onde antigamente foram sempre criadas galinhas. Por outro lado, não devemos contudo desprezar o fato de que não conseguimos com este material infestar pintos de galinha.

O resultado de nosso experimento da contaminação por um oocisto esporulado de *E. tenella* em pintos sensíveis se mostrou muito importante em relação ao poder infestante desta espécie de eimérias. Convém lembrar, que sob circunstâncias favoráveis, de um oocisto com oito esporozoítos, cada esporozoíto produz 900 merozoítos de 1.^a geração (Ruebem 1958). De cada merozoíto se formam 350 novos merozoítos. Assim resultam para um oocisto ingerido 2 520 000 merozoítos de 2.^a geração.

A quantidade de oocistos produzidos varia entre as diversas espécies; assim por ex.: um oocisto de *E. tenella* produz 400.000 oocistos, *E. brunetti* 400.000, *E. acervulina* 72.000, *E. necatrix* 58.000 e *E. maxima* 12.000.

Infestações com maior número de oocistos não condicionam maior eliminação de oocistos. O número relativamente maior produz infestações fracas. Neste sentido *E. acervulina* produz 430.000.000 oocistos, *E. tenella* 65.000.000, *E. brunetti* 55.000.000 e *E. necatrix* 12.000.000 oocistos.

Embora os resultados discutidos deste experimento, como também do seguinte não digam diretamente respeito à etiologia, não podemos deixar de comentar os resultados a respeito da virulência de oocistos conservados em meio líquido. Koutz (1950) verificou que oocistos de *E. tenella* presentes no solo ainda após 272 dias eram capazes de contaminar pintos. Os nossos experimentos mostraram que era possível contaminar pintos com 200.000 oocistos esporulados de *E. tenella* guardados por dois anos e dois meses em frascos de Erlenmeyer, apesar das temperaturas oscilantes entre 18° e 33°C. De outro lado, oocistos de *E. necatrix* conservaram sua virulência após um ano e dois meses em meio igual, provocando em pintos o quadro característico desta enfermidade.

Estes conhecimentos justificam a suposição duma contaminação de aves criadas sob condições naturais em plantéis expostos à água estagnadas.

CONCLUSÕES

Das galinhas examinadas durante três anos e cinco meses encontramos e identificamos no intestino delgado *E. necatrix*, *E. acervulina* e *E. maxima* como causadores da eimeriose. A identificação destes parasitos foi realizada pelas lesões anátomo-patológicas, pela sua localização no trato intestinal, pelos caracteres morfológicos dos oocistos, pelo tempo da esporulação, pelo tempo do ciclo evolutivo, pelo exame histológico e pela experimentação em animais sensíveis. Durante infestações mistas com diversas espécies dentro dum animal, somente a imunização cruzada poderia resolver o caso, porque em várias espé-

cies de eimérias o tempo da esporulação e o período da incubação coincide ou pouco diferem.

Em pintos de 6 a 8 semanas encontramos oocistos de eimérias que diferem nitidamente de todos os conhecidos infestando galinhas; limitamo-nos neste caso à descrição dos seus caracteres morfológicos, sem desprezar a possibilidade de se tratar de uma eiméria ainda não descrita.

Com nossos experimentos de contaminar pintos com um só oocisto de *E. tenella*, queremos indicar o perigo da infestação e propagação da eimeriose por pequeno número de oocistos.

Pelas nossas experiências realizadas no laboratório, os oocistos de *E. tenella* podem conservar o seu poder infestante até dois anos e dois meses, quando guardados na água por este tempo. *E. necatrix* quando colocada em idênticas condições, se mostra ainda virulenta após um período de um ano e dois meses.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Leonhard Riedmüller, Chefe da Seção de Zoonoses Bacterianas do antigo Instituto de Biologia Animal pela orientação valiosa; ao Prof. Dr. Jefferson Andrade dos Santos, ex-Chefe da Seção de Anatomia Patológica do mesmo Instituto, pela realização dos exames histo-patológicos e pela revisão e redação do vernáculo. Os nossos agradecimentos também ao Dr. Jaime Lins de Almeida, ex-Diretor do antigo Instituto de Biologia Animal pelo interesse, permitindo-nos a aquisição de um micromanipulador indispensável para isolamento de oocistos. Agradecemos ainda ao Dr. Fritz Bauer da "Farbwerke Hoechst" em Frankfurt, Alemanha, pela gentil atenção de ter enviado bibliografia recente.

REFERÊNCIAS

- Cremer, M. 1957. Die Kokzidiose der Hühnerkücken im Lichte deutscher und ausländischer Forschung. Diss., Vet. Med. Fakultät der Justus Liebig-Hochschule, Giessen.
- Giovanoni & Malheiro 1952. Rev. Fac. Med. Vet., S. Paulo, 4:595. (Cit. por Reis & Nóbrega 1956)
- Johnson, W.T. 1930. Avian coccidiosis. Poul. Sci. 2: 146. (Cit. por Tyzzer et al. 1932)
- Koutz, F.R. 1950. The survival of oocysts of avian coccidia in the soil. The Speculum 3 (3).
- Levine, P.P. 1938. *Eimeria hagani* n.sp. (Protozoa: Eimeriidae) a new coccidium of the chicken. Cornell Vet. 28:236-266.
- Levine, P.P. 1940. Subclinical coccidial infection in chickens. Cornell Vet. 30:127-132.
- Levine, P.P. 1942. A new coccidium pathogenic for chickens *Eimeria brunetti* n.sp. (Protozoa: Eimeriidae). Cornell Vet. 32(4)
- Morgan, B.B. & Hawkins, P.A. 1952. Veterinary protozoology. Burges Publ. Co., Minneapolis, Minnesota. (Cit. por Rueben 1958)
- Reich, J. & Wenyon. (Cit. por Yakimoff & Rastegaieff. 1923).
- Reis, J. & Nóbrega, P. 1956. Tratado de doenças das aves. Vol. 3. Melhoramentos, Brasil, p. 108.
- Rueben, S. 1958. Experimentelle Untersuchungen zur praktischen Anwendung der Immunitätsverhältnisse bei der Hühnerkokzidiose mit einer Darstellung der Chemotherapie. Diss., Vet.-Med. Fakultät der Justus Liebig-Hochschule, Giessen.
- Rysavy, B. 1956. Frage der Spezifität und Variabilität der Kokzidien bei verschiedenen Wirten. Folia biológica 2 (2). Biologicky ústav cecoslovenské akademie ved Praha 19.
- Scholtzysek, E. 1953. Beitrag zur Kenntnis des Entwicklungsganges des Hühnerkokzids *Eimeria tenella*. Arch. Protistenk. 98:415-456. (Cit. por Cremer 1957)
- Tyzzer, E.E. 1929. Coccidiosis in galinaceous birds. Am. J. Hyg. 10: 269-383.
- Tyzzer, E.E., Theiler, H. & Jones, E. 1932. Coccidiosis in galinaceous birds. Am. J. Hyg. 15:320-393.
- Yakimoff, W.L. & Rastegaieff, 1923. Die Hühnerkokzidiose in Russland (UDSSR). Zbl. Bakt. 1(123):1-2. (Cit. por Cremer 1957)

STUDIES ON EIMERIOSIS IN BIRDS. OBSERVATIONS REGARDING THE ETIOLOGY

Abstract

The author describes the results of his observations on eimeriosis in the small intestine of poultry and of the digestive tract of turkeys, pigeons and ducks.

During these studies the author found in 6 to 8 weeks old chickens one species of *Eimeriae* which differed in the morphological characteristics of the oocysts from those of known species of *Coccideae* of poultry.

The author succeeded in infecting chickens with only one oocyst of *Eimeria tenella*. This shows the great danger of propagation of the disease, even when small numbers of oocysts are ingested.

In experiments performed at the same time, the author studied the maintenance of virulence of *E. tenella* and *E. necatrix*. He found that their oocysts, when kept in water, keeps their capacity of infestation for two years and two months or for one year and two months, respectively.