

Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2020; 10:1-11. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.20>
Nota Curta. Recebido: 02/05/2020. Aceito: 03/08/2020. Publicado: 17/08/2020. Chave:2020-59.

Avaliação do desprendimento de oócistos de *Eimeria maxima* e *Eimeria acervulina* em frangos de engorda

Evaluation of oocyst shedding of *Eimeria maxima* and *Eimeria acervulina* in broiler chickens

Lauren Laverty¹ ID, Roberto Señas-Cuesta¹ ID, Sergio Martínez-González^{*2} ID, Callie Selby¹ ID, Guillermo Tellez-Jr¹ ID, Xochitl Hernandez-Velasco³ ID, Christine Vuong¹ ID, Billy Hargis¹ ID, Guillermo Tellez-Isaias¹ ID, Danielle Graham¹ ID

¹Department of Poultry Science, University of Arkansas Division of Agriculture, Fayetteville, AR 72701.

²Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Nayarit. México.

³Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM 04510, México. *Corresponding author: Universidad Autónoma de Nayarit, Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Km 3.5 Carretera Compostela-Chapalilla. Compostela, Nayarit, México. CP. 63700. lmlavert@uark.edu, rsenascu@uark.edu, sergio.martinez@uan.edu.mx, mcreer@uark.edu, memotellez98@gmail.com, xochitl_h@yahoo.com, vuong@uark.edu, bhargis@uark.edu, gtellez@uark.edu, bmahaffe@uark.edu

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o dia e a hora da coleta da amostra dum desafio experimental com *Eimeria maxima* (EM) e *Eimeria acervulina* (EA) em frangos de engorda. Frangos Cobb-Vantress machos de um dia de idade foram distribuídos aleatoriamente em um de três grupos com dez repetições (n = 8 frangos/réplica). Os frangos foram colocados em gaiolas de bateria em um ambiente controlado apropriado para a idade: Grupo 1) Controle negativo (sem desafio ou tratamento); 2) Controle de desafio (apenas desafio *Eimeria*); 3) Desafio + salinomicina. Aos 14 dias de idade, os frangos foram desafiados oralmente com a cultura mista EM/EA (10.000 MS esporulado contendo 4% de EA de tipo selvagem). Os parâmetros de desempenho foram registrados nos dias 7, 14, 20 e 23. Os escores das lesões foram registrados post mortem nos dias 20 e 23. Oocisto por grama (OPG) foi realizado nos dias seis, sete e oito após o desafio, e as amostras foram coletadas às 9h00 e às 18h00 de cada dia, respectivamente. As contagens de oócistos foram significativamente diferentes (P <0,05) entre a manhã e a tarde no dia seis após o desafio com coccidios. Os resultados deste estudo mostram que o dia e a hora em que as amostras são coletadas podem ter um efeito significativo na confiabilidade e validade dos dados.

Palavras-chave: *Eimeria maxima*; *Eimeria acervulina*; desprendimento de oócistos; parâmetros de desempenho.

ABSTRACT

The purpose of the present study was to evaluate the day and the time of sample collection of an experimental challenge with *Eimeria maxima* (EM) and *Eimeria acervulina* (EA) in broiler chickens. One-day old male Cobb-Vantress broiler chickens were randomly allocated to one of three groups with ten replicates (n=8 chickens/replicate). Chickens were placed in battery cages with a controlled age-appropriate environment: Group 1) Negative control (no challenge or treatment); 2) Challenge control (*Eimeria* challenge only); 3) Challenge + Salinomycin. Challenged chickens were orally gavaged with the mixed culture of EM/EA (10,000 sporulated EM containing 4% wild-type EA) at 14 days of age. Performance parameters were recorded at days 7, 14, 20, and 23. Lesions scores were recorded post-mortem on days 20 and 23. Oocyst per gram (OPG) was performed on days six, seven, and eight post-challenge, and samples were collected at 9:00 AM and 6:00 PM on each day, respectively. Oocyst counts were significantly different (P < 0.05) between morning and afternoon on day six post coccidia challenge. The results of this

study show that the day and the time at which samples are collected can have a significant effect on the reliability and validity of data.

Keywords: *Eimeria maxima*; *Eimeria acervulina*; oocysts shedding; performance parameters

INTRODUÇÃO

A coccidiose atualmente prova ser uma doença protozoária importante e urgente na indústria avícola em todo o mundo (Dalloul e Lillehoj, 2006). A coccidiose é causada por um parasita protozoário do gênero *Eimeria*. O ciclo de vida dos parasitas coccidianos inclui estágios de replicação assexuada e sexual e começa quando uma ave ingere oócistos esporulados do ambiente, conforme descrito por Conway e McKenzie (2007). Após a ingestão, quatro esporocistos contidos em um único oocisto esporulado liberam dois esporozoítos. A liberação dos esporozoítos é causada pela atividade digestiva do frango. Os esporozoítos liberados então "invadem as células epiteliais numa zona específica do intestino ou ceco"; que é dependente da espécie *Eimeria* (Chapman, 2003). Dentro da célula, os esporozoítos tornam-se trofozoítos e se alimentam por 12 a 48 horas para crescer e, por fim, dividir-se assexuadamente por meio da esquizogonia ou merogonia; este estágio é conhecido como esquizontes ou meront. Dentro do parasita, os estágios de merozoítos se formam e são liberados depois que o esquizontes amadurece e se rompe, o que leva três dias. Esta primeira geração de merozoítos invadirá mais células epiteliais e repetirá o processo de multiplicação. A segunda geração de merozoítos pode induzir um terceiro ciclo esquizogônico; isso também depende da espécie *Eimeria*. Os gametócitos masculinos (microgametócitos) e femininos (macrogametócitos) se formarão. Os macrogametócitos se transformarão em macrogametas. Os microgametócitos amadurecem, se rompem e liberam microgametas biflagelados que fertilizam os macrogametas femininos. Após a fertilização, uma "parede espessada se forma ao redor do macrogameta, formando um zigoto" (Conway e McKenzie, 2007; McDougald and Fitz-Coy, 2013). Na conclusão deste ciclo, um novo oocisto é formado e passará pelas fezes da ave após romper sua célula hospedeira (Tewari e Maharana, 2011).

Eimeria spp. oócistos, duma ou várias infecções simultâneas, são excretados nas fezes durante um período de vários dias. A eliminação de oócistos começa baixo, atinge um platô e depois diminui até que a doença siga seu curso (Clarke, 1979; Williams, 1973). Curiosamente, vários pesquisadores relataram que as contagens de oócistos diferem entre as coletas de amostras matinais e noturnas (Hudman *et al.*, 2000; Brown *et al.*, 2001). Essa variabilidade foi reconhecida por vários anos, mas foi amplamente esquecida (Misof, 2004). Recentemente, no entanto, foi demonstrado que o dia pós-inoculação e a hora do dia em que as amostras são coletadas podem ter um efeito significativo na confiabilidade e validade dos dados (Brawner e Hill, 1999). Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da variação da eliminação de oócistos e do dia de amostragem no desafio experimental com *Eimeria maxima* e *Eimeria acervulina* em frangos de engorda.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cepas de desafio

Oócistos de *Eimeria maxima* M6 (EM) e *E. acervulina* de tipo selvagem (EA) foram fornecidos pelo Dr. John. R. Barta, Universidade de Guelph, Canadá. Os métodos de detecção e recuperação de oócistos de frangos infectados, esporulação de oócistos e preparação de doses infecciosas foram conduzidos conforme descrito anteriormente (Haug *et al.*, 2006). Um estudo de titulação de dose foi realizado para determinar a dose de co-desafio de coccídios EM/EA antes de iniciar o ensaio experimental. Aos 13 dias de idade, os frangos foram pesados, divididos em três grupos (n = 15/grupo) e desafiados com três doses diferentes (10.000, 20.000 ou 40.000) de oócistos esporulados em volume de 1 mL por gavagem oral. O quarto grupo de pintos foi mantido como controle negativo. Cinco dias após o desafio, o peso corporal (PC) e o ganho de peso corporal (GPC) foram registrados. No presente estudo, os frangos desafiados foram administrados por sonda oral às 9:00 da manhã com a cultura mista de EM/EA (10.000 EM esporulado contendo 4% de EA de tipo selvagem) aos 14 dias de idade, pois esta dosagem reduziu o GPC em 35,82%. Isso se baseia no critério de que a dose de desafio deve causar coccidiose subclínica, consistindo numa redução entre 25-35% no GPC sem a presença de sinais clínicos.

Fonte animal e desenho experimental

Duzentos e quarenta frangos de corte machos Cobb-Vantress dum dia de idade (Fayetteville, AR, EUA) foram pesados e alocados aleatoriamente em um de três grupos com dez repetições (n = 8 frangos/repetição). As frangos foram colocados em gaiolas de bateria, com ambiente controlado e adequado à idade: Grupo 1) Controle negativo (sem desafio ou tratamento); 2) Controle de desafio (*Eimeria* desafio apenas); 3) Desafio + Salinomicina a 60 g/ton (Bio-Cox 60, Huvepharma, Peachtree City, GA 30269). Os pintinhos receberam acesso ad libitum a água e ração por 23 dias. Uma dieta inicial experimental (Tabela 1) foi formulada de acordo com as exigências nutricionais de frangos de corte, conforme recomendado pelo National Research Council (NRC, 1994) e ajustada às recomendações do criador Cobb, 2015). As frangos receberam 23 horas de luz dos dias 1 a 4, 20 horas de luz dos dias 5 a 14 e 18 horas de luz dos dias 15 a 23. A intensidade da luz foi fixada em 30 pés de vela na primeira semana, 1 pé de vela de dias oito a quatorze, e 0,5 pés de vela dos dias 15 a 23. A temperatura e a luz foram definidas para imitar as condições comerciais de d 1-21 em todas as salas com uma redução gradual na temperatura de 32 para 24 °C e umidade relativa de 55±5%.

Parâmetros de desempenho: peso corporal (PC), ganho de peso corporal (GPC), consumo de alimento (CA) e taxa de conversão alimentar (TCA) foram registrados nos dias 7, 14, 20 e 23. No dia 20, metade dos frangos de cada repetição foram pesados e sacrificados enquanto os frangos restantes foram pesados e sacrificados no dia 23 a fim de avaliar as lesões macroscópicas de acordo com o sistema de pontuação de Johnson e Reid (Johnson e Reid, 1970). Oócisto per grama (OPG) foi avaliado nos dias seis, sete

e oito pós-desafio, e as amostras foram coletadas às 9h00 e 18h00 em cada dia, respectivamente. Todos os procedimentos de manuseio de animais obedeceram ao Comitê Institucional de Uso e Cuidado de Animais (IACUC) da Universidade de Arkansas, Fayetteville. Explicitamente, o IACUC aprovou este estudo sob o protocolo # 21020.

Tabela 1. Composição de ingredientes e conteúdo de nutrientes numa dieta inicial de milho-soja usada em todos os grupos experimentais numa base as-is.

Ítem	Dieta inicial
Ingredientes (%)	
Milho	57.34
Refeição de grãos de soja	34.66
Gordura de frango	3.45
Fosfato dicálcico	1.86
Carbonato de cálcio	0.99
Sal	0.38
DL-Metionina	0.33
L-lisina HCl	0.31
Treonina	0.16
Vitamina premix ¹	0.20
Mineral premix ²	0.10
Cloreto de colina 60%	0.20
Antioxidante ³	0.02
Análise calculada	
Energia metabolizável (kcal / kg)	3,035
Proteína bruta (%)	22.16
Extrato de éter (%)	5.68
Lisina (%)	1.35
Metionina (%)	0.64
Metionina + cistina (%)	0.99
Treonina (%)	0.92
Triptofano (%)	0.28
Cálcio total	0.90
Fósforo disponível	0.45
Análise determinada	
Proteína bruta (%)	21.15
Extrato de éter (%)	6.05
Cálcio (%)	0.94
Fósforo (%)	0.73

¹ A pré-mistura de vitaminas foi fornecida por kg por kg: vitamina A, 20.000 UI; vitamina D3, 6.000 UI; vitamina E, 75 UI; vitamina K3, 6,0 mg; tiamina, 3,0 mg; riboflavina, 8,0 mg; ácido pantotênico, 18 mg; niacina, 60 mg; piridoxina, 5 mg; ácido fólico, 2 mg; biotina, 0,2 mg; cianocobalamina, 16 µg; e ácido ascórbico, 200 mg (Nutra Blend LLC, Neosho, MO 64850). ²Mineral foi fornecido com a pré-mistura por kg: manganês, 120 mg; zinco, 100 mg; ferro, 120 mg; cobre, 10 a 15 mg; iodo, 0,7 mg; selênio, 0,4 mg; e cobalto, 0,2 mg (Nutra Blend LLC, Neosho, MO 64850). ³Etoxiquina.

Dados e análise estatística

Pontuações de lesões, oócistos por grama e dados de desempenho foram submetidos a ANOVA como um desenho completamente aleatório usando o procedimento GLM do SAS (SAS, 2002). Para os parâmetros de desempenho de crescimento (PC, GPC, CA e TCA), cada gaiola replicada foi considerada uma unidade experimental. As médias do tratamento foram divididas usando o teste de faixa múltipla de Duncan em $P < 0,05$ indicando significância estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação do peso corporal, ganho de peso corporal, ingestão de ração e taxa de conversão alimentar em frangos de corte desafiados com coccídios estão resumidos na Tabela 2. Todos os três grupos começaram com PC semelhante; no entanto, no d 7, houve um aumento no PC dos frangos tratados com Salinomicina. No dia 20 (6 dias após o desafio), o grupo de controle negativo (sem desafio ou tratado) e o grupo tratado com salinomicina de desafio exibiram um aumento significativo no PC quando comparado com o grupo de controle desafiado ($P < 0,05$). Curiosamente, no dia 23 (9 dias após o desafio), havia apenas diferenças significativas no peso corporal entre o grupo de controle negativo e o controle de desafio. Uma tendência semelhante foi observada em GPC e TCA. Não foram observadas diferenças significativas no CA entre os três grupos (Tabela 2).

A Tabela 3 mostra os resultados da avaliação da contagem de oócistos de *E. maxima* por grama nas fezes de frangos no dia 6 ao dia 8 pós-desafio em diferentes momentos do dia, a média por dia. Embora tenha havido alguma recuperação de oócistos de frangos controle não tratadas não contestadas, houve significativamente menos OPG neste grupo em comparação com ambos os grupos de desafio. Nenhuma diferença significativa no OPG foi observada entre ambos os grupos de desafio durante os três dias de avaliação (Tabela 3). No presente estudo, foi notável descobrir que os oócistos EM foram excretados em números muito altos no dia 6 após o desafio à noite para todos os três grupos experimentais. Ao combinar e obter o OPG médio, o dia 6 apresentou um maior número de oócistos EM, sendo observadas as diferenças significativas esperadas entre o OPG entre os três grupos experimentais (Tabela 3). Da mesma forma, diferenças significativas foram encontradas nas pontuações de lesão para EM para ambos os dias de avaliação (20 e 23 d) entre os três grupos experimentais. No entanto, um número maior de oócistos foi recuperado no d 20 em ambos os grupos desafiados em comparação ao d 23 (Tabela 3). No presente estudo, frangos de controle negativo foram distribuídas aleatoriamente em grupos experimentais que foram desafiados com coccídios. Talvez por isso esses frangos apresentassem alguma infecção, devido à contaminação cruzada de fezes entre as gaiolas. Claramente, em estudos futuros, os frangos de controle negativo devem ser colocados em uma sala separada e, se isso não for possível, em gaiolas separadas e isoladas.

Os resultados da avaliação da contagem de oócistos de *E. acervulina* por grama nas fezes de frangos de corte no dia 6 ao dia 8 pós-desafio em diferentes momentos do dia, a média por dia e as pontuações de lesões nos dias 20 e 23 são resumidos em Tabela 4. Uma tendência semelhante foi observada no OPG para EA, embora mais oócistos estivessem presentes no dia 23 nos grupos desafiados do que no dia 20 (Tabela 4). As pontuações das lesões intestinais macroscópicas nos dias 20 e 23 de idade são apresentadas na Tabela 5. Em resumo, as contagens de oócistos foram significativamente diferentes entre a manhã e a noite no dia 6 pós-desafio. O aumento da eliminação de oócistos nas coletas de amostras noturnas está de acordo com estudos anteriores sobre a excreção diurna de oócistos de *Eimeria* spp., (Hudman *et al.*, 2000; Brown *et al.*, 2001; Misof, 2004).

A coccidiose continua sendo uma das doenças mais críticas em aves e resulta na perda anual de milhões de dólares americanos para a indústria avícola (Williams, 2005; Chapman, 1999). Uma prática comum no manejo da coccidiose é o uso de drogas profiláticas e antimicrobianas que inibem o desenvolvimento de esporozoítos / merozoítos. No entanto, a indústria avícola está experimentando um aumento na resistência aos medicamentos em cepas de *Eimeria* (Abbas *et al.*, 2012). Assim, a pressão da diminuição da eficácia química aumentou a demanda por novos métodos de tratamento, como por meio de produtos vegetais. Como existem vantagens claras para um agente de controle eficaz sem complicações com a resistência aos medicamentos *Eimeria*, há mérito na busca de métodos eficazes com mecanismos alternativos aos quimioterápicos anticoccidianos tradicionais (Naidoo *et al.*, 2008; Masood *et al.*, 2013). A vacinação contra a coccidiose é uma alternativa ao uso de produtos químicos. Ao vacinar contra a coccidiose, o sistema imunológico natural do animal é empregado para combater possíveis infecções no futuro (Shivaramaiah *et al.*, 2014). Convencionalmente, são utilizados parasitas vivos ou atenuados e as vacinas específicas de *Eimeria* podem incorporar várias espécies ou cepas (Shivaramaiah *et al.*, 2014). Parasitas atenuados de *Eimeria* podem ser selecionados por meio de "precocidade", em que "cepas virulentas e sensíveis a drogas de *Eimeria* spp." podem passar através de uma espécie hospedeira, reproduzindo-se e sendo desenvolvida em vacinas atenuadas (Peek e Landman, 2011; Shirley *et al.*, 2007).

Pesquisas anteriores descreveram a variação circadiana na eliminação de oócistos em várias espécies de aves hospedeiras (Hudman *et al.*, 2000; Brown *et al.*, 2001). Conseqüentemente, se a variação circadiana na eliminação de oócistos não for contabilizada, os resultados de tais testes não são confiáveis e podem ser enganosos (Misof, 2004). Um método adequado para obter dados precisos parece ser restringir o período de amostragem.

Os resultados deste estudo mostram que o dia e a hora em que as amostras são coletadas podem ter um impacto significativo nos dados e reforçam a importância da coleta das amostras fecais no mesmo horário do dia pós-desafio. As contagens de

oócistos foram significativamente diferentes entre a manhã e a tarde no dia seis após o desafio com coccídios. A amostragem da carga de coccídios deve ser restrita à segunda metade do tempo total de luz do dia. Este período mais restritivo deve, portanto, ser considerado como o período preferencial para a obtenção de informações confiáveis.

Tabela 2. Avaliação do peso corporal, ganho de peso corporal, consumo de ração e taxa de conversão alimentar em frangos de corte desafiados com coccídios.

Item	Controle negativo (sem desafio ou tratamento)	Controle de desafio (apenas desafio Eimeria)	Desafio + Salinomicina de Sódio tratada (60 g / ton)
Peso corporal (g)			
d 0	46.60 ± 0.19	46.16 ± 0.36	46.70 ± 0.42
d 7	145.05 ± 2.16 ^{ba}	144.48 ± 2.51 ^{ba}	148.95 ± 2.33 ^a
d 14	401.30 ± 7.28 ^{bc}	402.63 ± 9.21 ^{bac}	429.16 ± 5.11 ^a
d 20	736.14 ± 11.23 ^a	671.97 ± 16.35 ^b	751.09 ± 8.00 ^a
d 23	927.51 ± 20.06 ^a	781.25 ± 42.28 ^b	881.38 ± 23.87 ^{ba}
Ganho de peso corporal (g)			
d 0 to 7	98.45 ± 2.13 ^{ba}	98.31 ± 2.54 ^{ba}	102.25 ± 2.36 ^a
d 7 to 14	256.26 ± 6.15	258.16 ± 7.55	280.21 ± 3.82 ^a
d 14 to 20	334.84 ± 5.67 ^a	269.34 ± 11.69 ^b	321.93 ± 5.47 ^a
d 0 to 23	890.31 ± 29.18 ^a	735.65 ± 42.60 ^b	834.03 ± 23.61
Consumo de alimento (g)			
d 0 to 14	609.89 ± 12.51	621.93 ± 16.27	641.06 ± 15.45
d 0 to 20	930.19 ± 37.87	909.81 ± 36.98	770.41 ± 30.53
d 0 to 23	1323.79 ± 31.08	1198.68 ± 57.19	1325.55 ± 29.11
Taxa de conversão alimentar (ajustada)			
d 0 to 14	1.50 ± 0.03	1.53 ± 0.03	1.50 ± 0.04
d 0 to 20	1.44 ± 0.01 ^b	1.49 ± 0.02	1.45 ± 0.02
d 0 to 23	1.41 ± 0.06 ^b	1.54 ± 0.03	1.51 ± 0.03

Os frangos foram desafiados com *Eimeria maxima* (M6) e *Eimeria acervulina* (tipo selvagem) por gavagem oral aos 14 dias. ^{a-c} Os valores médios na mesma linha que não compartilham uma letra comum diferem significativamente (P <0,05). Cada valor representa a média ± erro padrão. Possui réplicas, n = 8.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo mostram que o dia e a hora em que as amostras são coletadas podem ter um impacto significativo nos dados e reforçam a importância da coleta das amostras fecais no mesmo horário do dia pós-desafio. A amostragem da carga de coccídios deve ser restrita à segunda metade do tempo total de luz do dia. Este período mais restritivo deve, portanto, ser considerado como o período preferencial para a obtenção de informações confiáveis.

Tabela 3. Avaliação de oócistos de *E. maxima* por contagem de grama¹ nas fezes de frangos de corte no dia 6 ao dia 8 após o desafio em diferentes momentos do dia e média por dia.

Tratamento	Dia 6 / 9:00 AM (dia 20)	Dia 6 / 6:00 PM (dia 20)	Dia 6 Média AM/PM	Dia 7 / 9:00 AM (dia 21)	Dia 7 / 6:00 PM (dia 21)	Dia 7 Média AM/PM	Dia 8 / 9:00 AM (dia 22)	Dia 8 / 6:00 PM (dia 22)	Dia 8 Média AM/PM
Controle negativo	239 ± 123.12 ^{bz}	1,880 ± 350.09 ^{by}	1,059 ± 192.37 ^{bz}	2,214 ± 2,055.28 ^{by}	465 ± 164.91 ^{bz}	1,340 ± 1,080.81 ^{bz}	312 ± 247.92 ^{bz}	504 ± 399.77 ^{bz}	408 ± 319.28 ^{by}
Controle de desafio	39,756 ± 8,540.64 ^{ay}	392,859 ± 53742.38 ^{ay}	216,308 ± 26,680.84 ^{ax}	258,783 ± 34093.03 ^{aw}	73,803 ± 20,753.83 ^{ax}	166,293 ± 24,541.92 ^{ay}	39,751 ± 10,808.39 ^{ay}	12,844 ± 2,256.07 ^{az}	26,298 ± 5888.63 ^{az}
Desafio + Salinomicina de Sódio tratada	28,060 ± 11,708.46 ^{ay}	304,517 ± 31,024.37 ^{ay}	166,288 ± 11,708.46 ^{ay}	180,752 ± 39,771.21 ^{aw}	86,940 ± 22,231.97 ^{ax}	133,846 ± 39,771.21 ^{ay}	23,440 ± 5,199.72 ^{ayz}	11,966 ± 1,207.11 ^{az}	17,703 ± 5199.72 ^{az}

Tabela 4. Avaliação do oocisto de *E. acervulina* por contagem de grama¹ nas fezes de frangos de corte no dia 6 ao dia 8 após o desafio em diferentes momentos do dia e média por dia.

Tratamento	Dia 6 / 9:00 AM (dia 20)	Dia 6 / 6:00 PM (dia 20)	Dia 6 Média AM/PM	Dia 7 / 9:00 AM (dia 21)	Dia 7 / 6:00 PM (dia 21)	Dia 7 Média AM/PM	Dia 8 / 9:00 AM (dia 22)	Dia 8 / 6:00 PM (dia 22)	Dia 8 Média AM/PM
Controle negativo	83 ± 28.07 ^{ay}	52 ± 30.20 ^{cy}	55 ± 29.65 ^{cy}	0 ± 0 ^{cz}	0 ± 0 ^{bz}	0 ± 0 ^{cz}	52 ± 52.08 ^{cy}	26 ± 26.25 ^{cy}	52 ± 52.21 ^{cy}
Controle de desafio	1,000 ± 319.03 ^{ayz}	5,993 ± 995.74 ^{aw}	3,497 ± 352.58 ^{ay}	6,656 ± 1924.02 ^{aw}	3,007 ± 1266.66 ^{ax}	4,831 ± 1580.37 ^{ay}	1,800 ± 212.01 ^{aby}	779 ± 228.56 ^{abz}	1,289 ± 182.52 ^{ba z}
Desafio + Salinomicina de Sódio tratada	194 ± 54.9 ^{az}	1,849 ± 498.62 ^{bw}	1,022 ± 241.84 ^{by}	2,287 ± 335.90 ^{bw}	1,912 ± 514.33 ^{aw}	2,099 ± 270.65 ^{by}	1,339 ± 88.24 ^{bx}	552 ± 99.01 ^{by}	945 ± 69.81 ^{bz}

Os frangos foram desafiados com *Eimeria maxima* (M6) e *Eimeria acervulina* (tipo selvagem) por gavagem oral aos 14 dias de idade. ¹Cada valor representa a média ± erro padrão. Cinco repetições / n = 5. ^{a-c} Os valores médios na mesma coluna que não compartilham uma letra comum diferem significativamente. ^{w-z} Os valores médios na mesma linha que não compartilham uma letra comum diferem significativamente. ²Cada valor representa a média ± erro padrão. Dez repetições / n = 8. ^{a-c} Os valores médios na mesma coluna que não compartilham uma letra comum diferem significativamente.

Tabela 5. Pontuação das lesões intestinais macroscópicas¹ nos dias 20 e 23 de idade para frangos de corte desafiados com *Eimeria acervulina* e *E. maxima*.

Tratamento	<i>Eimeria acervulina</i>		<i>Eimeria maxima</i>	
	dia 20	dia 23	dia 20	dia 23
Negative control	0.00 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^c	0.05 ± 0.03 ^c	0.00 ± 0.00 ^c
Controle de desafio	0.80 ± 0.12 ^{az}	1.45 ± 0.11 ^{ay}	1.93 ± 0.10 ^{ay}	1.25 ± 0.08 ^{az}
Desafio + Salinomicina de Sódio tratada	0.48 ± 0.11 ^{bz}	0.90 ± 0.09 ^{by}	1.28 ± 0.14 ^{by}	0.77 ± 0.09 ^{bz}

Os frangos foram desafiados com *Eimeria maxima* (M6) e *Eimeria acervulina* (tipo selvagem) por gavagem oral aos 14 dias de idade. ¹Cada valor representa a média ± erro padrão. Cinco repetições, n = 5. ^{a-c} Os valores médios na mesma coluna que não compartilham uma letra comum diferem significativamente. ^{w-z} Os valores médios na mesma linha que não compartilham uma letra comum diferem significativamente, (P <0,05). ²Cada valor representa a média ± erro padrão. Dez repetições, n = 8. ^{a-c} Os valores médios na mesma coluna que não compartilham uma letra comum diferem significativamente, (P <0,05).

Financiamento: A pesquisa foi apoiada em parte por fundos fornecidos pelo USDA-NIFA Sustainable Agriculture Systems, Grant No. 2019-69012-29905. Título do projeto: Capacitando a produção de frangos de corte dos EUA para a transformação e sustentabilidade USDA-NIFA (Sistemas de agricultura sustentável): No. 2019-69012-29905

Conflitos de interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesses.

LITERATURA CITADA

ABBAS R, Colwell D, Gilleard J. 2012. Botanicals: an alternative approach for the control of avian coccidiosis. *World's Poultry Science Journal*. 68(2):203-215. <https://doi.org/10.1017/S0043933912000268>

BRAWNER III WR, Hill GE. 1999. Temporal variation in shedding of coccidial oocysts: implications for sexual-selection studies. *Can. J. Zool*. 77:347-350. <https://doi.org/10.1139/z98-207>

BROWN MA, Ball S, Holman D. 2001. The periodicity of isosporan oocyst discharge in the greenfinch (*Carduelis chloris*). *J. Nat. Hist*. 35:945-948. <https://doi.org/10.1080/002229301300323875>

CHAPMAN HD. 2003. Origins of coccidiosis research in the fowl—The first fifty years. *Avian Dis*. 47:1-20. [https://doi.org/10.1637/0005-2086\(2003\)047\[0001:OOCRIT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1637/0005-2086(2003)047[0001:OOCRIT]2.0.CO;2)

CHAPMAN H. 1999. Anticoccidial drugs and their effects upon the development of immunity to *Eimeria* infections in poultry. *Avian Pathol*. 28:521–535. <http://doi.org/10.1080/03079459994317>

CLARKE PL. 1979. Coccidial infection with *Eimeria tenella* and caecal defaecation in chicks. *Br. Poult. Sci.* 20:317-322. <http://doi.org/10.1080/00071667908416586>

COBB-Vantress Inc. 2015. Cobb 500 broiler performance and nutrition supplement. Pp. 14. http://www.cobb-vantress.com/docs/default-source/cobb-500-guides/Cobb500_Broiler_Performance_And_Nutrition_Supplement.pdf

CONWAY DP, McKenzie ME. 2007. Poultry Coccidiosis Diagnostic and Testing Procedures. Third Edition. Blackwell Publishing. ISBN-13:978-0-8138-2202-0. ISBN-10: 0-8138-2202-5.

https://www.academia.edu/35924772/Poultry_Coccidiosis_Diagnostic_and_Testing_Procedures_THIRD_EDITION

DALLOUL RA, Lillehoj HS. 2006. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. *Expert. Rev. Vaccines* 5:143-163. doi:10.1586/14760584.5.1.143. <http://doi.org/10.1586/14760584.5.1.143>

HAUG A, Williams R, Larsen S. 2006. Counting coccidial oocysts in chicken faeces: a comparative study of a standard McMaster technique and a new rapid method. *Vet. Parasitol.* 136:233-242. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.024>

HUDMAN SP, Ketterson ED, Nolan V Jr. 2000. Effects of time of sampling on oocyst detection and effects of age and experimentally elevated testosterone on prevalence of coccidia in male dark-eyed juncos. *The Auk.* 117:1048-1051.

<http://doi.org/10.1093/auk/117.4.1048>

JOHNSON J, Reid WM. 1970. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Exp. Parasitol.* 28(1):3-36. [http://doi.org/10.1016/0014-4894\(70\)90063-9](http://doi.org/10.1016/0014-4894(70)90063-9)

MISOF K. 2004. Diurnal cycle of *Isospora* spp. oocyst shedding in Eurasian blackbirds (*Turdus merula*). *Can. J. Zool.* 82:764-768. <http://doi.org/10.1139/z04-054>

MASOOD S, Abbas R Z, Iqbal Z, Mansoor MK, Sindhu Z, Zia MA, Khan JA. 2013. Role of Natural Antioxidants for the Control of Coccidiosis in Poultry. *Pakistan Veterinary Journal.* 33(4):401-407.

https://www.researchgate.net/publication/260159600_Role_of_Natural_Antioxidants_for_the_Control_of_Coccidiosis_in_Poultry

MCDUGALD LR, Fitz-Coy SH. 2013. Coccidiosis. In: Swayne DE, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Suarez D, Nair V. (eds). *Diseases of Poultry*. 13th ed. Wiley-Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. Pp. 1148-1166. ISBN: 978-0-0470-95899-5.

NAIDOO V, McGaw L, Bisschop S, Duncan N, Eloff J. 2008. The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. *Veterinary Parasitology*. 153(3-4):214-219. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.02.013>

NRC. National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry, ninth ed. National Academy Press: Washington, DC. USA. Pp. 176. ISBN: 978-0-309-04892-7. <https://doi.org/10.17226/2114>

PEEK H, Landman W. 2011. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. *Veterinary Quarterly*. 31(3):143–161. <https://doi.org/10.1080/01652176.2011.605247>

SAS. Institute Inc. 2002. SAS/STAT 9.1 User's Guide. Cary, NC. USA. ISBN 1-59047-243-8. https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/91pdf/sasdoc_91/stat_ug_7313.pdf

SHIRLEY MW, Smith AL, Blake DP. 2007. Challenges in the successful control of the avian coccidia. *Vaccine*. 25(30):5540-5547. <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.030>

SHIVARAMAIAH C, Barta JR, Hernandez-Velasco X, Téllez G, Hargis BM. 2014. Coccidiosis: recent advancements in the immunobiology of *Eimeria* species, preventive measures, and the importance of vaccination as a control tool against these Apicomplexan parasites. *Veterinary Medicine (Auckl)*. 5:23-34. <http://doi.org/10.2147/VMRR.S57839>

TEWARI A, Maharana B. 2011. Control of poultry coccidiosis: changing trends. *Journal of Parasitic Diseases*. 10-17. <http://doi.org/10.1007/s12639-011-0034-7>

WILLIAMS R. 2005. Intercurrent coccidiosis and necrotic enteritis of chickens: rational, integrated disease management by maintenance of gut integrity. *Avian Pathol*. 34:159–180. <http://doi.org/10.1080/03079450500112195>

WILLIAMS RB. 1973. Effects of different infection rates on the oocyst production of *Eimeria acervulina* or *Eimeria tenella* in the chicken. *Parasitology*. 67:279-288. <http://doi.org/10.1017/s0031182000046515>