

Identificação de espécies de *Eimeria* sp e avaliação do escore de lesões intestinais entre frangos vacinados e tratados com anticoccidiano, produzidos no sistema colonial/caipira

Identification of *Eimeria* species and evaluation of intestinal lesion scores in vaccinated chickens and chickens treated with anticoccidial drugs in the free-range chicken systems

Stanislau Parreira Cardozo¹ Milton Hissashi Yamamura^{2*}

Resumo

Este trabalho tem por objetivo identificar as espécies de *Eimeria* que acometem os frangos criados no Sistema Colonial/Caipira que utilizam como medidas profiláticas a vacinação e medicação anticoccidiana. E avaliar as lesões intestinais causadas pelas cepas vacinais e de campo. A ocorrência das espécies de *Eimeria* em frangos tratados e vacinados foram respectivamente de 46% e 49% para a *Eimeria maxima*, 35% e 28% para a *Eimeria tenella*, 26% de *Eimeria acervulina* para frangos vacinados e para os tratados 8% de *Eimeria necatrix* e 8% de *Eimeria praecox*. As médias do escore de lesões intestinais foram de 0,28 e 0,80 na porção superior do intestino; 0,07 e 0,03 na porção média; e 0,05 e 0,10 para o ceco, em frangos vacinados e tratados, respectivamente. As aves vacinadas apresentaram pico de eliminação de oocistos na idade de 21 dias de produção sendo a média da contagem de 70.828 oocistos por grama de excretas e para aves tratadas com anticoccidiano obteve-se o pico de eliminação de 7.020 oocistos na idade de 37 dias de produção. Embora as aves vacinadas tenham apresentado uma média de eliminação de oocistos superior à das aves tratadas o escore de lesão destas foi inferior conferindo melhor proteção às aves.

Palavras-chave: Coccidiose, frango caipira, epidemiologia, *Eimeria*, vacina, anticoccidiano.

Abstract

The purpose of this research was to identify the *Eimeria* species, in free-range chickens as well as to propose a prophylactic treatment through vaccination and the use of anticoccidial drugs, and to evaluate the intestinal damages caused by strains of vaccinal and field oocysts. In this system the occurrence of *Eimeria* species in chickens which were treated and vaccinated were respectively of 46% and 49% for *Eimeria maxima*, 35% and 28% for *Eimeria tenella*, 26% for *Eimeria acervulina* for vaccinated chickens and for those which were treated 8% for *Eimeria necatrix* and *E. praecox*. The averages of intestinal damages measured by lesion score were 0.28 and 0.80 respectively in the upper intestine for vaccinated and treated chickens, 0.07 and 0.03 for the middle intestine, and 0.05 and 0.10 for the ceca. The vaccinated chickens showed peaks of oocyst elimination in the 21th day with an average of 70,828 oocysts per gram of excretas and the chickens treated with anticoccidial drugs had an average of 7,020 in the 37th day. Although the vaccinated chickens presented an average of oocysts elimination higher than the treated chickens, the lesion score of these chickens was lower.

Key words: Coccidiosis, free range chickens, *Eimeria*, vaccine, anticoccidial, epidemiology

¹ Mestre em Ciência Animal pelo Depto. Med. Vet. Preventiva; Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina.

² Docente Titular do Depto. Med. Vet. Preventiva, CCA, UEL, cx postal: 6001, Cep.:86010 – 970, Campus Universitário – Londrina – Paraná.

* Autor para correspondência.

Introdução

A coccidiose é uma doença de grande importância na produção de aves. É causada por protozoários do gênero *Eimeria* (LILLEHOJ, 1998), e possui sete espécies reconhecidas e de importância econômica para a avicultura (LAURENT et al., 2001), que se multiplicam nas células intestinais causando, má absorção de nutrientes, desidratação, perda de sangue e aumento da susceptibilidade para outros agentes (REID; McDOUGALD, 1991).

Alguns fatores que contribuem para o aumento da susceptibilidade das galinhas para infecções com coccídeos são a presença de outras espécies na propriedade, aves com diferentes idades (TEILLEN, 1970), a produção de aves com acesso a piquetes, movimentação de pessoal e equipamentos entre propriedades (RUFF, 1999).

Várias estratégias para o controle desta doença estão sendo utilizadas em diferentes sistemas de produção. Considerando-se o sistema intensivo de produção o método mais empregado é o uso de drogas anticoccidianas adicionadas na ração, com grande difusão desta técnica nos últimos cinquenta anos (PETERSON; LABORDE, 1961; ALLEN et al., 1998; WILLIAMS, 1999; YOUN; NOH, 2001). No entanto, o uso de medicamentos de forma preventiva tem sido dificultado devido à ocorrência do fenômeno de resistência aos anticoccidianos (BOURDEAU et al., 1994; McDOUGALD; SEIBERT, 1998; LAURENT et al., 2001; YOUN; NOH, 2001). Este fenômeno pode ser reduzido, ou evitado, com o uso alternado de drogas de um lote para outro ou também com a administração de drogas diferentes no mesmo lote (McLOUGHLIN, 1970; RUFF, 1999; GARG et al., 1999; YOUN; NOH, 2001).

Outra alternativa para o controle da coccidiose e para a redução do efeito de resistência é o uso de vacina com oocistos atenuados de *Eimeria* sp (DANFORTH, 1998; MUIR et al., 2000). A resposta vacinal pode ser melhorada com a intensificação de procedimentos de higienização e vazios sanitários entre lotes devido à morte de grande parte dos oocistos,

facilitando a substituição das cepas patogênicas pelas vacinais (WILLIAMS, 1999).

Outras alternativas baseadas no manejo do lote, principalmente em frangos produzidos em sistemas alternativos, como os sistemas orgânico e caipira, têm sido desenvolvidas, e estão baseadas na sanitização, na redução de visitas e transporte de equipamentos entre criadores, na ausência de diferentes espécies de aves, no desenvolvimento das técnicas de ventilação, no aquecimento e no abastecimento de água, no controle integrado de pragas e melhoria das práticas de manejo, na produção com o rodízio de piquetes e na diminuição da densidade de produção (THAMSBORG et al., 1999; RUFF, 1999).

O diagnóstico da coccidiose na produção é baseado no escore de lesões, considerando-se as características e a localização das lesões no trato intestinal, segundo descrito por JOHNSON; REID (1970), para identificação da provável espécie que acomete o lote. O diagnóstico laboratorial rotineiramente utilizado está centrado no escore e características das lesões intestinais associado com a morfologia dos oocistos, dos gametócitos ou dos esquizontes que possuem características distintas para cada espécie (HEMSLEY, 1964).

Neste sentido objetivou-se verificar a ocorrência das espécies de *Eimeria* spp que acometem aves de corte tratadas com anticoccidiano e aves vacinadas contra coccidiose aviária, criadas no sistema Colonial/Caipira, através do escore de lesões e da morfometria dos oocistos.

Material e Métodos

Localização das propriedades e características dos aviários

As propriedades avaliadas produzem frangos no sistema Colonial/Caipira e se localizam na região de Uberaba – MG. Nas propriedades foram observados diferentes tipos de aviários os quais foram

classificados segundo a área construída, sendo de pequeno, médio ou grande porte. Algumas propriedades possuem mais de um piquete com o tamanho sendo proporcional ao número de aves a ser alojado.

Os aviários de pequeno porte são aqueles construídos com área inferior a 300 m², com material alternativo como bambu, madeira, cobertura com folha seca de coqueiro e outros. Na maioria das propriedades não há comedouros nem tampouco bebedouros automáticos, o que requer um maior número de horas dedicadas à produção, sendo freqüente o emprego exclusivo da mão de obra familiar.

Os aviários considerados de médio porte têm área construída entre 300 e 1.000 m², fabricados com material de alvenaria e telhado, cortinas com material alternativo semelhante ao empregado nos de pequeno porte. Há certa tecnificação da produção com comedouros semi-automáticos e bebedouros tipo pendular e empregam mão de obra familiar.

Os aviários de grande porte possuem área maior que 1.000m² e geralmente tiveram suas instalações feitas para a produção industrial de frango de corte, por motivos pessoais ou de mercado os produtores mudaram para o sistema de produção de frango de corte colonial/caipira. Os aviários têm infra-estrutura sólida, geralmente possuem tanto bebedouros quanto comedouros automatizados devido à presença de mais de um aviário por propriedade e utilizam mão de obra terceirizada.

Todos os aviários possuem aquecedores de diferentes tipos, como campânula a gás, energia elétrica ou aquecedor com uso de lenha, sendo que o material utilizado como cama do aviário na maioria das vezes é a maravalha.

Manejo nas propriedades

Todas as propriedades seguem as normas de produção recomendadas pelo médico veterinário responsável tanto pela granja quanto pela integração, o que possibilita padronizar o manejo da produção,

desde o alojamento até a retirada do lote para abate.

Para o alojamento há separação de aproximadamente um terço do aviário, que é feita com círculos de alojamento ou com uso de divisória, esta opção é de acordo com o tamanho do aviário e condições do produtor. O principal objetivo da formação de local para recebimento dos pintainhos é a redução do custo para o aquecimento das aves.

A ração fornecida é produzida pela própria empresa, no entanto é recomendado o complemento com produtos alternativos como mamão, abóbora, cenoura e outros vegetais durante a produção, para melhorar a pigmentação da carcaça e servirem como redutores do problema de bicagem e canibalismo das aves.

Colheita das amostras de excretas de aves tratadas com anticoccidiano

Foram colhidas amostras em um aviário de pequeno porte, um em aviário de médio porte e em oito aviários de grande porte. Coletou-se uma amostra em cada piquete de produção. Cada piquete representou uma idade diferente. Para a composição da amostra coletou-se 10 pools, sendo que cada pool era composto por excretas colhidas em 10 a 15 diferentes pontos, dentro ou fora do aviário. O intervalo entre as idades foi de aproximadamente sete dias, como segue, 07, 17, 20, 30, 37, 43, 48, 57, 64 e 71. O medicamento foi utilizado na ração desde o primeiro dia de alojamento das aves. As amostras foram colhidas no mês de outubro do ano de 2001.

Colheita das amostras de fezes de aves vacinadas contra coccidiose aviária

Foram colhidas amostras em um aviário de pequeno porte, um em aviário de médio porte e em seis aviários de grande porte. As amostras foram colhidas da mesma forma como descrito no item anterior. Porém as idades foram as seguintes, 09, 15, 21, 30, 35, 42, 49 e 56. A vacina em spray foi aplicada nas aves de um dia, no incubatório e é composta de

oocistos não atenuados. As amostras foram colhidas no mês de março de 2002. O lote vacinado não recebeu tratamento com drogas anticoccidianas. Não foi possível a padronização das idades das aves amostradas devido a ausência de lotes com idades iguais.

Avaliação do escore de lesões intestinais de aves tratadas com anticoccidiano e de aves vacinadas

Para o lote de aves tratadas com anticoccidiano na ração foram avaliadas 307 amostras de intestinos e para as aves vacinadas foram avaliadas 195 amostras, quanto ao escore de lesões intestinais segundo técnica descrita por JOHNSON; REID (1970). Foi calculada a média aritmética ponderada do escore de lesões, multiplicando-se o número de amostras positivas pelo escore correspondente, somando-se os resultados e dividindo pelo total de amostras avaliadas. Foram colhidos fragmentos de tratos intestinais com lesões macroscópicas para a realização do exame histopatológico utilizando a técnica de Hematoxilina e Eosina. Os fragmentos intestinais foram conservados em solução de formol a 10% tamponado.

Contagem de oocistos por grama de fezes (OPG) e cálculo da média.

A contagem de oocistos por grama de fezes (OPG), foi realizada conforme técnica descrita por Conway *et al.*, (1991).

A média aritmética da contagem de oocistos em câmara McMaster foi calculada a partir do número de oocistos contados em cada um dos 10 pools de excretas colhidas e processadas onde conjunto de pool representa uma idade e uma propriedade diferente.

Morfometria dos oocistos e Identificação das espécies

A micrometria dos oocistos foi realizada segundo técnica descrita por Long; Reid, (1982), utilizando a

Câmara McMaster. Foi feita a micrometria de 100 oocistos esporulados, provenientes de uma mistura das amostras positivas previamente analisadas. Com o intuito de auxiliar na identificação das espécies e sua prevalência, utilizou-se o sistema óptico LEICA e computador acoplado ao microscópio por uma microcâmera. Para auxiliar na identificação das espécies de coccideos foram utilizadas características métricas (Conway *et al.*, 1991) e morfológicas dos oocistos: oocistos subsféricos tiveram a relação entre o comprimento e largura variando de 1,01 a 1,10; oocistos oblongos entre 1,11 e 1,20 e oocistos ovais maiores que 1,21.

Para a identificação das espécies associou-se a característica e localização das lesões intestinais com a morfometria dos oocistos encontrados nas excretas.

Análise estatística

As médias dos escores de lesões nas porções intestinais foram comparadas usando o teste t de Student para amostras independentes, em nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Contagem de oocistos

- Lote tratado com anticoccidiano ionofórico

Na Tabela 1 pode observar pela contagem de oocistos, um pico de eliminação de oocistos na idade de 37 dias com uma eliminação de 7.020 oocistos por grama de fezes. Williams *et al.*, (1999) acompanharam a eliminação de oocistos de aves medicadas produzidas no sistema industrial, obtendo pico de eliminação de oocistos na idade 35 dias de produção com o valor médio de 42.400 oocistos por grama de fezes. Em outro trabalho com aves criadas no sistema Label Rouge, que se assemelha ao sistema Colonial/Caipira, Williams *et al.*, (1996) observaram a idade média do pico de eliminação de oocistos sendo 40 dias e a média de eliminação de oocistos neste

sistema de produção foi de 205.975 oocistos por grama de fezes.

Comparando-se os resultados dos trabalhos acima, pode-se observar que a idade do pico de eliminação de oocistos se aproxima em ambos os sistemas de produção. No entanto, aves criadas no sistema Label Rouge apresentaram maior média de eliminação de oocistos.

As prováveis causas para a observação do pico de eliminação de oocistos podem ter sido a mudança de anticoccidiano ionofórico entre os 21° e 28° dias de produção, considerando esta fase como a de maior concentração de fatores de estresse para o plantel, tais como o acesso das aves ao piquete de pastagem e a mudança do princípio ativo do anticoccidiano.

Tabela 1. Média da contagem de oocisto por grama (OPG) de fezes em amostras de dez lotes de aves criadas no sistema Colonial/Caipira e tratadas com anticoccidiano ionofórico.

Idade (dias)	07	17	20	30	37	43	48	57	64	71
Média (OPG)	00	00	295	1.242	7.020	600	330	280	50	00

• Lote vacinado

Na Tabela 2 pode se observar um pico de eliminação de oocistos segundo resultados obtidos na contagem, na idade de 21 dias com 70.828 oocistos por grama de fezes. A precocidade deste pico em relação ao lote tratado com anticoccidiano pode ter sido causado pelo contato das aves vacinadas com os oocistos ainda no primeiro dia de produção,

enquanto que para o lote tratado este contato ocorre somente após o acesso ao piquete de pastoreio que se dá entre o 21° e 28° dia de produção.

Williams et al., (1999) observaram, em aves vacinadas, no 5° dia de produção, a eliminação de oocistos e constataram um pico de eliminação que persistiu do 21° ao 35° dia variando entre 25.900 a 27.700 oocistos por grama de fezes.

Tabela 2. Média da contagem de oocistos por grama (OPG) de fezes de aves vacinadas contra coccidiose em diferentes idades e produzidas no sistema Colonial/Caipira.

Idade (dias)	09	15	21	30	35	42	49	56
Média (OPG)	00	2.520	70.828	31.020	6.240	3.000	480	2.930

Níveis de Lesões

• Lote tratado com anticoccidiano ionofórico

Na Tabela 3 pode-se observar que os resultados obtidos segundo as avaliações dos escores de lesões intestinais, são considerados leves. Observou-se maior intensidade de lesões na porção superior do intestino. A localização destas lesões pode estar relacionada com as espécies de *Eimeria acervulina* e *Eimeria praecox*, no entanto há o diferencial

quanto às características das lesões encontradas que não eram indicativas de presença de *E. acervulina*.

A ausência de lesões tipicamente ocasionadas por *E. acervulina*, provavelmente se deve a uma recuperação tecidual, a qual pode ter mascarado as lesões observadas. Pode ter ocorrido também uma migração de *Eimeria maxima* para a porção superior do intestino uma vez que havia lesões típicas desta espécie na porção superior.

Tabela 3. Número de amostras, percentual e média do escore de lesões intestinais de aves tratadas preventivamente com anticoccidiano, abatidas com idade média de 78 dias, produzidas no sistema Colonial/Caipira.

Escore\Porção	Superior	(%)	Médio	(%)	Baixo	(%)	Ceco	(%)
0	163	53,09	300	97,72	307	100,00	283	92,18
1	68	22,15	04	1,29	00	0,00	20	6,51
2	53	17,26	03	0,99	00	0,00	03	0,99
3	20	6,51	00	0,00	00	0,00	00	0,00
4	03	0,99	00	0,00	00	0,00	01	0,00
Total	307	100,00	307	100,00	307	100,00	307	100,00
Média*	0,80	-	0,03	-	0,00	-	0,10	-

* A média do escore de lesões foi calculada multiplicando-se o número de amostras positivas pelo escore correspondente, somando-se os resultados e dividindo pelo total de amostras avaliadas.

• Lote vacinado

Na Tabela 4 observa-se a partir do escore das lesões intestinais realizadas no abatedouro uma média de 0,28 para a porção superior, 0,07 para a porção média e 0,05 para o ceco; não foram observadas lesões na porção inferior do intestino e reto.

Analisando-se os resultados gerais pode-se considerar que o lote vacinado, mesmo apresentando pico de eliminação de oocistos mais expressivo que o pico do lote tratado com anticoccidiano obteve menos lesões no final da produção, provavelmente

devido à substituição dos oocistos de campo pelos oocistos vacinais que são menos patogênicos.

Avaliando as médias dos escores de lesões, nas porções intestinais, observou-se média + desvio padrão de 0,801 (s +1,008) na porção superior do intestino para o grupo tratado com anticoccidiano, enquanto que no grupo vacinado a média foi de 0,282 (s + 0,632). A diferença entra essas médias foi estatisticamente significativa (p=0,0001). Nas demais porções intestinais não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos de estudos (p.0,05).

Tabela 4. Número de amostras, percentual e média do escore de lesões intestinais de aves vacinadas contra coccidiose, abatidas com idade média de 85 dias, produzidas no sistema Colonial/Caipira.

Escore\Porção	Superior	(%)	Médio	(%)	Baixo	(%)	Ceco	(%)
0	155	79,49	186	95,38	195	100,00	186	95,39
1	29	14,87	05	2,57	0	0,0	09	4,61
2	07	3,59	04	2,05	0	0,00	00	0,00
3	04	2,05	00	0,00	0	0,00	00	0,00
4	00	0,00	00	0,00	0	0,00	00	0,00
Total	195	100,00	195	100,00	195	100,00	195	100,00
Média*	0,28	-	0,07	-	0,00	-	0,05	-

* A média do escore de lesões foi calculada multiplicando-se o número de amostras positivas pelo escore correspondente, somando-se os resultados e dividindo pelo total de amostras avaliadas.

Morfometria e identificação dos Oocistos

• Lote tratado com anticoccidiano ionofórico

Para a identificação de espécies de *Eimeria*, Thebo et al., (1998) utilizaram vários métodos e associaram o método empregado com a espécie identificada. Para a identificação da *E. maxima* o critério mais confiável foi à análise morfométrica dos oocistos, porém para *Eimeria mitis* obteve-se média confiabilidade.

Utilizando-se o período pré-patente a espécie possível de identificação foi a *E. praecox*. Quanto

às características e localização das lesões, as espécies mais facilmente identificadas foram a *E. acervulina* e a *E. tenella*, ficando a *E. necatrix* classificada como de confiabilidade média na utilização desta técnica. Na avaliação dos estágios endógenos as mais facilmente identificadas foram a *E. necatrix* e a *E. tenella*.

Na Tabela 5, foi utilizada a mensuração de oocistos associada às localizações e características das lesões intestinais, observa-se que o percentual das espécies identificadas foi: 49%, *E. maxima*; 35%, *E. tenella*; 08% *E. praecox*; e 08%, *E. necatrix*.

Tabela 5. Percentual de espécies identificadas, medições mínimas, máximas e médias do comprimento, largura e relação entre comprimento e largura de oocistos de *Eimeria* sp provenientes de frangos tratados com anticoccidiano e criados no sistema Colonial/Caipira.

Espécie	(%)	Comprimento			Largura			Comp/Larg		
		Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média
<i>E. maxima</i>	49	23,5	38,2	29,1	16,3	34,7	23,4	1,02	1,56	1,26
<i>E. tenella</i>	35	19,7	25,8	22,5	16,3	22,8	20,7	1,01	1,19	1,09
<i>E. praecox</i>	08	21,5	23,5	22,2	18,3	19,4	18,4	1,12	1,35	1,21
<i>E. necatrix</i>	08	16,7	22,1	19,9	13,6	16,3	14,7	1,15	1,74	1,35

A ocorrência de coccidiose no norte da Jordânia foi de 78% nas propriedades pesquisadas em 2001, onde a prevalência de *E. tenella* foi de 39%, *E. necatrix* e *Eimeria brunetti* 12%, *E. maxima* 10% e *E. acervulina* 3% segundo trabalho realizada por Al-Natour et al., (2002) em produções tipo industrial e com aves tratadas com anticoccidiano.

Uma ou mais espécies de *Eimeria* foram identificadas em 63% de lotes pesquisados na Holanda onde se obteve a ocorrência de 55% de *E. acervulina* isoladamente ou em associação com outras espécies, 31% de *E. tenella*, e 10% de *E. maxima* segundo pesquisa feita por Graat et al., (1998).

Quanto ao princípio ativo do anticoccidiano, Hemsley (1964), identificou *E. tenella* em lotes de aves comerciais tratadas com nicarbazina, também

observou a presença de *E. brunetti* e *E. maxima* em lotes tratados com zoalene e detectou *E. brunetti*, *E. maxima* e *E. acervulina* em lotes tratados com amprolium.

• Lote vacinado

A Tabela 6 indica a mensuração de oocistos e o percentual das espécies identificadas, 46% de *E. maxima*, 28% de *E. tenella* e 26% de *E. acervulina*.

Análises Histopatológicas

Para os dois experimentos o resultado obtido segundo análises histopatológicas foi à confirmação das lesões intestinais macroscópicas, sendo ocasionadas por *Eimeria* sp., pela observação de fases evolutivas do protozoário nas células intestinais.

Tabela 6. Percentual de espécies identificadas, medições mínimas, máximas e médias do comprimento, largura e relação entre comprimento e largura de oocistos de *Eimeria* sp provenientes de frangos vacinados contra coccidiose e criados no sistema Colonial/Caipira na região de Uberaba – MG, 2001.

Espécie	(%)	Comprimento			Largura			Comp/Larg		
		Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média
<i>E. maxima</i>	46	24,9	37,3	29,2	17,8	30,2	23,6	1,11	1,50	1,24
<i>E. tenella</i>	28	19,7	25,8	22,2	19,4	23,6	20,6	1,01	1,15	1,07
<i>E. acervulina</i>	26	17,7	20,2	19,2	13,8	16,2	15,4	1,18	1,34	1,25

Conclusões

As aves vacinadas apresentaram maior pico de eliminação de oocistos e menor média de escore de lesões intestinais em relação às aves tratadas com anticoccidiano.

Houve diferença significativa quanto ao escore de lesões somente na porção superior do intestino quanto ao lote tratado e vacinado.

A espécie mais prevalente no sistema de produção Colonial/Caipira foi a *E. maxima* com 49% dos oocistos contados para o lote tratado com anticoccidiano e 46% para o lote vacinado.

Referências Bibliográficas

AL-NATOUR, M.Q.; SULEIMAN, M.M.; ABO-SHEHADA, M.N. Flock-level prevalence of *Eimeria* species among broiler chicks in northern Jordan. *Preventive Veterinary Medicine*. n.1670, p.1-6. fev. 2002.

ALLEN, P.C.; DANFORTH, H.D.; AUGUSTINE, P.C. Dietary modulation of avian coccidiosis. *International Journal for Parasitology*. Sidney n.28, p.1131-1140. Jan. 1998.

BOURDEAU, P. Chimiorésistense chez les protozoaires – première et deuxième parties. *Le Point Vétérinaire*. Maisons-Lafort. v.26, n.160, p.65-73, May 1994.

CONWAY, D.P.; MCKENZIE, E. Poultry Coccidiosis – *Diagnostic and testing procedures*, 2. ed. New York. PFIZER, 1991.

DANFORTH, H.D. Use of live oocyst vaccines in the control of avian coccidiosis: experimental studies and field trials. *International Journal for Parasitology*, Sidney. n.28, p.1099-1109, mar. 1998.

GARG, R.; BANERJEE, D.P.; GUPTA, S.K. Immune response in chickens against *E. tenella* sporozoite antigen. *Veterinary Parasitology*. n.81, p.1-10, sept. 1999.

GRAAT, E.A.M.; VAN DER KOIJ, E.; FRANKENA, K.; HENKEN, A.M.; SMEETS, J.F.M.; HEKERMAN, M.T.J. Quantifying risk factors of coccidiosis in broilers using on-farm data based on a veterinary practice. *Preventive Veterinary Medicine*. n.33, p.297-308. jan. 1998.

HEMSLEY, L.A. Experiences of coccidiosis in young chickens fed a coccidiostat with particular reference to the incidence of coccidiosis in broiler chickens in the south of England, 1961-1964. *The Veterinary Record*, London n.76, p.1432-1436, dec. 1964.

JOHNSON, J.; REID, W.M. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Experimental Parasitology*. n.28, p.30-36. 1970.

LAURENT, F.; MANCASSOLA, R.; LACROIX, S.; MENEZES, R.; NACIRI, M. Analysis of chicken mucosal immune response to *Eimeria tenella* and *Eimeria maxima* infection by quantitative reverse transcription – PCR. *Infection and immunity*. n.69, v.4, p.2527-2534, jan. 2001.

LILLEHOJ, H.S. Role of T lymphocytes and cytokines in coccidiosis. *International Journal for Parasitology*, Sidney, n.28, p.1071-1081, mar. 1998.

LONG, P.L.; ROWEL, J.G. Counting oocysts of chicken coccidia. *Lab. Pract.* n.7, p.515-519, 1958.

MCDUGALD, L.R.; SIBERT, B.P. Residual activity of anticoccidial drugs in chickens after withdrawal of medicated feeds. *Veterinary Parasitology*. n.74 p.91-99, sept. 1998.

MCLOUGHLIN, D.K. Coccidiosis: experimental analysis of drug resistance. *Experimental Parasitology*. n.28, p.129-136, 1970.

MUIR, W.I.; BRYDEN, W.L.; HUSBAND, A.J. Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. *Developmental and Comparative Immunology*. n.24, p.325 – 342, nov. 2000.

PETERSON, E.H.; LA BORDE, J. A laboratory and diel evaluation of Amprolium – A new anticoccidial. *Avian Pathology*, Tucson, p.207-213. apr. 1961.

- RUFF, M.D. Important parasites in poultry production systems. *Veterinary Parasitology*. n.84, p.337–347, 1999.
- TEILEN, M.J.M. A production scores for broiler operations. *World's Poultry Science Journal*. n.26, p.569-570. 1970.
- THAMSBORG, S.M.; ROEPSTORFF, A.; LARSEN, M. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. *Veterinary Parasitology*. n.84, p.169–186, 1999.
- THEBO, P.; LUNDEN, A.; UGLA, A.; HOOSHMAND-RAD, P. Identification of seven *Eimeria* species in Swedish domestic fowl. *Avian Pathology*, Tucson, n.27, p.613-617, aug. 1998.
- WILLIAMS, R.B.; BURSHELL, A.C.; RÉPÉRANT, T.G.; DOY, T.G.; FRÉMONT, J.H. Y. A survey of *Eimeria* species in commercially reared chickens in France during 1994. *Avian Pathology*, Sidney, n.25, p.113-130, may. 1996.
- WILLIAMS, R.B. A compartmentalized model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chickens production industry. *International Journal for Parasitology*, Sidney, n.29, p.1209–1229, nov. 1999.
- WILLIAMS, R.B. CARLYLE, W.W.H.; BOND, D.R.; BROWN, I.A.G. The efficacy and economic benefits of Paracox^R, a live attenuated anticoccidial vaccine, in commercial trials with standard broiler chickens in the United Kingdom. *International Journal for Parasitology*. n.29, p.341–355, 1999.
- YOUN, H.J.; NOH, J.W. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. *Veterinary Parasitology*. n.96, p.257-263, jan. 2001.