

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia



Tese

**Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Eimeria* spp. em
ovinos no sul do Brasil**

Natália Soares Martins

Pelotas, 2022

Natália Soares Martins

**Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Eimeria* spp. em
ovinos no sul do Brasil**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Parasitologia).

Orientador: Dr. Jerônimo Lopes Ruas

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Nara Amélia da Rosa Farias

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M379p Martins, Natália Soares

Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Eimeria* spp. em ovinos no sul do Brasil / Natália Soares Martins ; Jerônimo Lopes Ruas, orientador ; Nara Amélia da Rosa Farias, coorientadora. — Pelotas, 2022.
55 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Coccidiose. 2. Ovinocultura. 3. *Eimeria crandallis*. 4. *Eimeria ovinoidalis*. I. Ruas, Jerônimo Lopes, orient. II. Farias, Nara Amélia da Rosa, coorient. III. Título.

CDD : 593.115

Natália Soares Martins

Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Eimeria* spp. em ovinos no sul do Brasil

Tese aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Parasitologia), Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da realização do Exame: 25/02/2022

Banca examinadora:

Dr. Jerônimo Lopes Ruas (Orientador). Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Diego Moscarelli Pinto. Doutor em Fitossanidade pela Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dra. Eleonor Adegas Castro Janer. Doutora em Ciências pela Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Felipe Geraldo Pappen. Doutor em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Marcos Marreiro Vilella. Doutor em Ciências da Saúde pela Fundação Oswaldo Cruz

**Aos meus pais,
o amor é a gênese de tudo.**

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que, de alguma maneira, contribuíram para a minha formação profissional, educacional e social, inclusive aquelas que não irei mencionar nos parágrafos seguintes.

Aos meus professores, que serviram como inspiração e incentivo, e me instigaram a seguir a carreira acadêmica. Especialmente ao meu amigo e orientador, Jerônimo Ruas, o qual aprendi a admirar e respeitar, pela dedicação, ensinamentos, apoio e, sobretudo, por acreditar em minha capacidade. Esse trabalho também é em grande parte mérito teu. À prof. Nara Farias, agradeço pelas contribuições, conhecimentos e conselhos compartilhados a mim e ao projeto.

Aos colegas da pós-graduação e aos alunos colaboradores, em especial à Sara da Motta e Carolina dos Santos, minha gratidão pelo convívio, parceria e amizade. Sobretudo pelo auxílio durante a execução dos nossos projetos. Vocês foram imprescindíveis para a realização de todo o trabalho.

Agradeço a minha grande família. Essencialmente aos meus pais, Milton e Jane, meus exemplos de vida e luta, que estiveram sempre ao meu lado durante esta jornada, me encorajando e sendo meu esteio. Aos meus irmãos e sobrinhos, pelo companheirismo, cumplicidade e amparo em todos os momentos da minha vida.

Ao Junior, pelo amor, incentivo, paciência e compreensão. Muito obrigada pelo apoio constante nas grandes e pequenas coisas.

Agradeço a todos os veterinários e proprietários que nos receberam e disponibilizaram os seus ovinos para esta pesquisa.

Por fim, manifesto minha gratidão à Universidade Federal de Pelotas, que serve como um centro de produção, compartilhamento e transmissão de conhecimento, através das atividades indissociáveis de ensino, pesquisa e extensão. Agradeço igualmente à Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas de estudo a diversos pós-graduandos, permitindo que esses pesquisadores possam se dedicar exclusivamente a seus objetos de estudo.

Nossa lealdade está com as espécies e com o planeta. Uma nova consciência está se desenvolvendo, em que a Terra é vista como um único organismo e reconhece que um organismo em guerra consigo mesmo está condenado. Nesse momento, enfrentamos um ponto de ruptura na História. O que fizermos com nosso mundo agora mesmo, afetará poderosamente o destino dos nossos descendentes. Se nos rendermos à superstição, à ganância, à estupidez, podemos mergulhar nosso mundo numa profunda escuridão. Entretanto, nós também somos capazes de usar nossa compaixão, inteligência, tecnologia e riqueza para criar uma vida de significado e abundância para cada habitante desse planeta, para aumentar grandiosamente a nossa compreensão sobre o Universo e para nos carregar até às estrelas.

(Carl E. Sagan)

Resumo

MARTINS, Natália Soares. **Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Eimeria* spp. em ovinos no sul do Brasil**. 2022. 55f. Tese (Doutorado em Microbiologia e Parasitologia) - Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

A ovinocultura sempre foi uma atividade tradicional e de importância econômica para o estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Entretanto, nas últimas décadas, este setor produtivo vem enfrentando dificuldades. Entre os principais entraves para que a ovinocultura se torne comercialmente viável, destacam-se os problemas parasitários, e são escassas as informações sobre a ocorrência de *Eimeria* spp. Este protozoário interfere no crescimento e ganho de peso dos animais, podendo causar diarreia, anorexia, debilidade e subdesenvolvimento, especialmente em ovinos jovens. Portanto, um estudo transversal foi realizado para relatar dados epidemiológicos sobre a ocorrência de *Eimeria* spp. em ovinos da região sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Amostras fecais de 502 ovinos foram testadas para a presença de oocistos, esses animais eram provenientes de 21 fazendas, localizadas em 11 municípios da região. Foi aplicado um questionário estruturado, para avaliar o conhecimento sobre saúde dos ovinos e práticas de manejo utilizadas na propriedade, essas informações foram utilizadas para a busca de fatores de risco associados à infecção. A prevalência geral de *Eimeria* spp. foi 68,69%, sendo significativamente afetada pela idade dos ovinos, com maior prevalência em animais menores de 18 meses. Oito espécies de *Eimeria* foram identificadas; *Eimeria* *ovinoidalis* foi a mais comum, seguida por *Eimeria* *crandallis*, *Eimeria* *granulosa*, *Eimeria* *ahsata*, *Eimeria* *faurei*, *Eimeria* *bakuensis*, *Eimeria* *punctata* e *Eimeria* *pallida*. Todos os rebanhos foram positivos, com infecções concomitantes. Entre as práticas de manejo e criação; a infecção prevaleceu em pequenas propriedades com alta densidade animal, em ovinos destinados a produção de carne, sistema semi-intensivo de criação e pastejo rotacionado ($p < 0,05$). Este trabalho descreve pela primeira vez a ocorrência das espécies patogênicas, *E. crandallis* e *E. ovinoidalis*, na área de estudo. Os resultados encontrados, evidenciam a importância e os danos potenciais da coccidiose ovina nos rebanhos gaúchos.

Palavras-chave: coccidiose, ovinocultura, *Eimeria crandallis*, *Eimeria ovinoidalis*.

Abstract

MARTINS, Natália Soares. **Prevalence and risk factors associated with *Eimeria* infection in sheep in southern Brazil**. 2022. 55p. Thesis (Doctorate in Microbiology and Parasitology) – Graduation Program in Microbiology and Parasitology, Biology Institute, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Traditionally, the sheep industry has always been relevant to the economy of the Rio Grande do Sul state, Brazil. However, in last decades sheep farming has declined in the area. Among the main obstacles for sheep farming to become commercially viable, parasitic problems stand out. Epidemiology data of *Eimeria* spp. infection in the state are scarce. This protozoan interferes with animal growth and weight gain, and can cause diarrhea, anorexia, weakness and underdevelopment, especially in young sheep. Therefore, a cross-sectional study was carried out to report epidemiological data of *Eimeria* spp. infections in sheep from southern Rio Grande do Sul, Brazil. Fecal samples from 502 sheep were tested for the presence of oocysts. 21 farms located in 11 municipalities were included in the study. A structured questionnaire was administered, to assess the knowledge of sheep health and husbandry and farm management practices, this information was used to search for risk factors associated with *Eimeria* infection. The overall prevalence of *Eimeria* spp. was 68.69% and was significantly affected by age of the sheep, with highest prevalence in animals under 18 months of age. Eight *Eimeria* species were identified. *Eimeria ovinoidealis* was the most common, followed by *Eimeria crandallis*, *Eimeria granulosa*, *Eimeria ahsata*, *Eimeria faurei*, *Eimeria bakuensis*, *Eimeria punctata* and *Eimeria pallida*. All herds were positive, with concomitant infections. Among management and husbandry practices; farm size, animal density, farming system, breeding objectives, and pasture system influenced the prevalence of *Eimeria* species. The infection was more prevalent on small farms with high animal density, in sheep raised for meat, semi-intensive system, and rotational grazing ($p < 0.05$). This research describes for the first time the occurrence of *E. crandallis* and *E. ovinoidealis* in the study area. These results show the importance and potential damage of coccidiosis in sheep flocks in Rio Grande do Sul.

Keywords: coccidiosis, sheep farming, *Eimeria crandallis*, *Eimeria ovinoidealis*.

Lista de Figuras

Revisão bibliográfica

- Figura 1 Ilustração das fases endógena (merogonia e gametogonia) e exógena (esporogonia) do ciclo de vida de *Eimeria* spp. 12

Artigo 1

- Figura 1 Municipalities from the southern Rio Grande do Sul state where lamb stool samples were collected for the detection of *Eimeria* in 2018 and 2019..... 22

Artigo 2

- Figura 1 Cities from the southern Rio Grande do Sul state, Brazil, where sheep stool samples were collected for the detection of *Eimeria* in 2018 and 2019..... 29

Lista de Tabelas

Revisão bibliográfica

Tabela 1	Espécies de <i>Eimeria</i> e local de infecção em ovinos.....	11
----------	---	----

Artigo 1

Tabela 1	Presence of <i>Eimeria</i> oocysts in lambs from southern Rio Grande do Sul state, Brazil.....	23
----------	--	----

Artigo 2

Tabela 1	Mean of OPG ¹ and prevalence (%) of <i>Eimeria</i> spp. in sheep from southern state of Rio Grande do Sul, Brazil.....	31
Tabela 2	Risk factors associated with <i>Eimeria</i> species on sheep breeding farms from the southern Rio Grande do Sul state, Brazil.....	32

Sumário

1 Introdução	8
2 Objetivos.....	9
2.1 Objetivo Geral	9
2.2 Objetivos Específicos	9
3 Revisão de Literatura.....	10
3.1 <i>Eimeria</i> spp.	10
3.1.2 Biologia	11
3.1.2.1 Fase endógena	12
3.1.2.1.1 Merogonia	12
3.1.2.1.1 Gametogonia.....	13
3.1.2.2 Fase Exógena	13
3.1.2.2.1 Esporogonia	13
3.1.3 Epidemiologia.....	14
3.1.4 Patogenia e patologia.....	15
3.1.5 Sinais clínicos	16
3.1.6 Diagnóstico	17
3.1.7 Controle	18
4 Atividades de pesquisa	21
Artigo 1 - <i>Eimeria</i> spp. infection in lambs from southern Brazil.....	23
Artigo 2 - Ovine <i>Eimeria</i> infections in southern Brazil - prevalence and risk factors	28
5 Considerações finais	40
Referências.....	41
Apêndice.....	46
Apêndice A - Questionário	47
Anexos.....	48
Anexo A - Certificado Comissão de Ética e Experimentação Animal da UFPel	49

1 Introdução

Tradicionalmente, a ovinocultura desempenha um papel de grande importância na economia do estado do Rio Grande do Sul. Mesmo com as crises ocorridas nas décadas de 1980 e 1990, o rebanho ovino gaúcho continua sendo um dos maiores do Brasil, com aproximadamente 2.646.969 cabeças, e a sua distribuição permanece concentrada na região sul do estado (SILVA et al., 2013; IBGE, 2018). Essa atividade ainda enfrenta alguns obstáculos, sendo as infecções parasitárias um dos fatores que influenciam na redução do desempenho por animal.

Dentre estas, destaca-se o protozoário *Eimeria* spp., responsável por interferir no crescimento e ganho de peso dos animais, tornando-os mais suscetíveis a outros agentes infecciosos. Esse parasito causa a coccidiose, podendo manifestar-se de maneira subclínica ou clínica, causando importante impacto econômico na pecuária. Cordeiros são mais suscetíveis a coccidiose, especialmente em condições estressantes, sendo infectados por diferentes espécies do parasito. *Eimeria crandallis* e *Eimeria ovinoidalis* são consideradas as mais patogênicas, podendo causar subdesenvolvimento, desidratação, anorexia e morte (CHARTIER & PARAUD, 2012).

Embora a ovinocultura tenha grande relevância social e econômica no Rio Grande do Sul, são escassos os dados sobre a ocorrência de *Eimeria* spp. no estado. Novos trabalhos são imprescindíveis para melhor compreender a epidemiologia desta infecção, de forma a poder intervir com consciência, elaborando planos para um controle eficiente e sustentável.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Estudar a ocorrência de *Eimeria* spp. em ovinos da região sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

2.2 Objetivos Específicos

Estimar a prevalência de *Eimeria* spp. em ovinos da região sul do Rio Grande do Sul;

Identificar quais espécies de *Eimeria* spp. acometem ovinos na região estudada;

Avaliar fatores de risco associados à infecção por *Eimeria* spp. em rebanhos ovinos.

3 Revisão de Literatura

3.1 *Eimeria* spp.

Eimeria spp. é um protozoário da Classe Sporozoasida, Família Eimeriidae. Estes parasitos afetam porções do trato gastrointestinal de seus hospedeiros. Os animais se infectam por via oral, através da ingestão de oocistos esporulados, e podem ser acometidos simultaneamente por diferentes espécies do parasito. O ciclo de vida é complexo e envolve estágios sexuais e assexuais. Este parasito causa a Coccidiose ou Eimeriose, essa enfermidade é especialmente importante em ruminantes, nos quais pode causar infecção subclínica ou clínica (ANDREWS, 2013).

A gravidade da doença varia de autolimitante, na qual os animais se recuperam sem tratamento, até casos graves, nos quais o quadro clínico evolui rapidamente, culminando no óbito. A infecção subclínica causa redução do ganho de peso, da taxa de crescimento e aumenta a susceptibilidade a outras doenças. A coccidiose clínica ocasiona diarreia grave, anorexia, fraqueza, dor abdominal e desidratação (CHARTIER & PARAUD, 2012).

Ao menos treze espécies de *Eimeria* são conhecidas por infectarem ovinos (Tabela 1), sendo *Eimeria crandallis* e *Eimeria ovinoidalis* as mais patogênicas. Os sinais clínicos variam desde perda da capacidade de formar cíbalas fecais, até perda de peso, anorexia e diarreia. *Eimeria* é comum em ovinos de todas as idades, entretanto prevalece em animais jovens, submetidos a condições estressantes, como o desmame, intempéries climáticas, mudanças na dieta e transporte. Estes fatores resultam em imunossupressão, tornando os animais mais suscetíveis a infecções por *Eimeria* spp. (KHODAKARAM-TAFTI & HASHEMNIA, 2017).

Tabela 1. Espécies de *Eimeria* e local de infecção em ovinos

Espécie	Local de infecção
<i>Eimeria crandallis</i> *	Intestinos delgado e grosso
<i>Eimeria ovinoidalis</i> *	Intestinos delgado e grosso
<i>Eimeria ahsata</i>	Intestino delgado
<i>Eimeria bakuensis</i>	Intestino delgado
<i>Eimeria faurei</i>	Intestinos delgado e grosso
<i>Eimeria gilruthi</i>	Abomaso
<i>Eimeria granulosa</i>	Desconhecido
<i>Eimeria intricata</i>	Intestinos delgado e grosso
<i>Eimeria marsica</i>	Desconhecido
<i>Eimeria pallida</i>	Desconhecido
<i>Eimeria parva</i>	Intestinos delgado e grosso
<i>Eimeria punctata</i>	Desconhecido
<i>Eimeria weybridgensis</i>	Intestino delgado

Dados obtidos a partir de Chartier & Paraud (2012), Taylor et al. (2017), Keeton & Navarre (2017).

(*) espécies mais patogênicas.

3.1.2 Biologia

O complexo ciclo de vida dos protozoários do gênero *Eimeria* pode ser dividido em duas fases: endógena (período parasitário) e exógena (período de vida livre no ambiente). No interior do hospedeiro, ocorrem os processos denominados merogonia e gametogonia, fases assexuada e sexuada do ciclo, respectivamente. No ambiente, ocorre a esporogonia que dá origem aos oocistos esporulados, formas infectantes de *Eimeria*. A ruptura dos enterócitos infectados ocorre em todos os estágios do ciclo de vida do parasito (ZACHARY & MCGAVIN, 2013) (Figura 1).

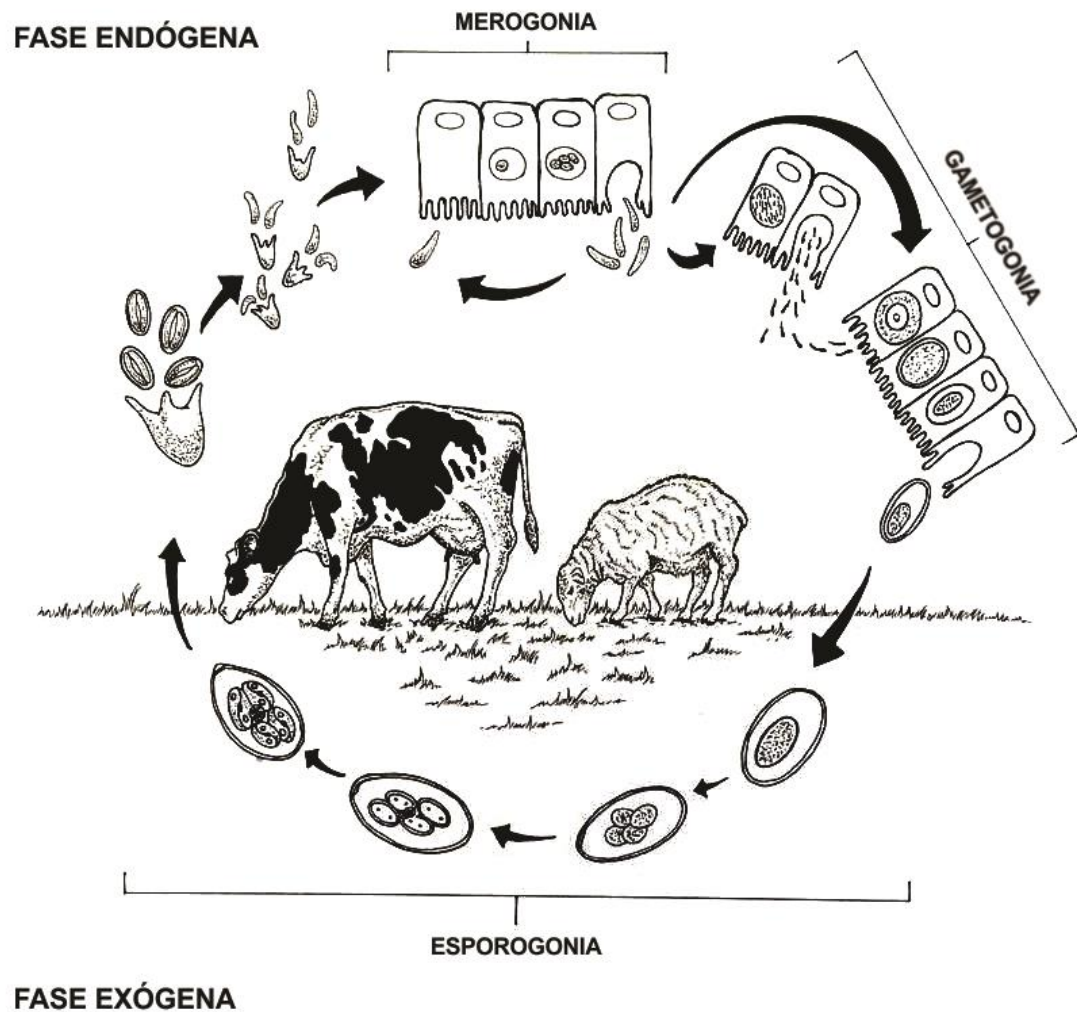


Figura 1 - Ilustração das fases endógena (merogonia e gametogonia) e exógena (esporogonia) do ciclo de vida de *Eimeria* spp.

Fonte: os autores

3.1.2.1 Fase endógena

3.1.2.1.1 Merogonia

O hospedeiro se infecta ao ingerir oocistos esporulados juntamente com a água ou alimento. Posteriormente, ocorre a liberação dos esporocistos, com consequente ativação dos esporozoítos por ação da tripsina e bile. Estes invadem as células epiteliais hospedeiras e dão origem aos trofozoítos. Após múltiplas divisões, os trofozoítos dão origem aos merontes, que são estruturas repletas de formas unicelulares denominadas merozoítos. Transcorridos alguns dias, a divisão se

completa e a célula hospedeira se rompe, liberando um grande número de merozoítos que invadem as células adjacentes. Este processo é denominado merogonia e pode repetir-se sucessivas vezes dependendo da espécie de *Eimeria* envolvida. A merogonia se encerra quando os merozoítos dão origem aos macrogametócitos e microgametócitos (KEETON & NAVARRE, 2017; KHODAKARAM-TAFTI & HASHEMNIA, 2017).

3.1.2.1.1 Gametogonia

Os macrogametócitos darão origem aos macrogametas ou gametas femininos e apesar de serem unicelulares, tornam-se grandes estruturas que se expandem até preencher a célula hospedeira, permanecendo imóveis no interior desta. Os gametas masculinos, ou microgametas, se originam dos microgametócitos, após múltiplas divisões que dão origem a essas estruturas flageladas que são liberadas após a ruptura da célula hospedeira. Os microgametas penetram nos macrogametas, havendo a fusão dos núcleos, dando origem ao zigoto. Ocorre a formação de uma parede cística ao redor do zigoto, formando o oocisto. Após a ruptura celular, os oocistos não esporulados são liberados juntamente com as fezes (KHODAKARAM-TAFTI & HASHEMNIA, 2017; TAYLOR et al., 2017).

3.1.2.2 Fase Exógena

3.1.2.2.1 Esporogonia

Os oocistos não esporulados são excretados nas fezes de hospedeiros infectados. Em condições ambientais apropriadas, o núcleo se divide e dá origem ao esporoblasto. Este, por sua vez, origina quatro esporocistos, cada qual com dois esporozoítos em seu interior. O tempo gasto para que aconteça estas alterações varia de acordo com a oxigenação, temperatura e umidade, mas em condições ideais ($\pm 27^{\circ}\text{C}$ e $\text{UR} \geq 80\%$) ocorre em 2 a 4 dias. Ao fim deste processo, é formado o oocisto esporulado, que é o estágio infectante. O oocisto esporulado possui quatro esporocistos, cada qual, com dois esporozoítos (KEETON & NAVARRE, 2017; TAYLOR et al., 2017).

3.1.3 Epidemiologia

Eimeria spp. tem ampla distribuição mundial, apresentando altos níveis de contaminação em áreas com maior agrupamento de animais e concentração de material fecal, como por exemplo, estábulos, confinamentos e apriscos. Em animais criados a campo, a superlotação de piquetes também favorece a infecção por *Eimeria*, especialmente em torno de áreas de irrigação e alimentação. Águas paradas são bons reservatórios de oocistos tanto a campo, quanto em estábulos (MITCHELL et al., 2012).

Os coccídios apresentam alto poder de contaminação ambiental, visto que possuem grande capacidade reprodutiva. Durante a fase endógena, cada oocisto esporulado ingerido tem potencial para produzir 23 milhões de oocistos em apenas 21 dias. No ambiente, os oocistos esporulados são extremamente resistentes podendo sobreviver por semanas ou meses, dependendo das condições climáticas (KEETON & NAVARRE, 2017).

Eimeria é comum em ovinos de todas as idades, entretanto, prevalece em animais jovens recentemente desmamados ou em confinamento. Estudos brasileiros e mundiais encontraram prevalência variável de espécies de *Eimeria* em ovinos; porém, na maioria dos casos, os animais jovens apresentaram maiores taxas de positividade para o parasito e em infecções subclínicas (CARRAU et al., 2018; LOPES et al., 2013; KHAN et al., 2011; SOUZA et al., 2015). Entretanto, surtos com diarreia severa podem ocorrer, inclusive associados à infecção oportunista por *Giardia duodenalis* (BASTIANI et al., 2012). Em casos graves, a mortalidade pode chegar a 20% devido à ausência de imunidade específica (KOMMURU et al., 2014).

Alguns fatores podem interferir na gravidade da infecção, além da idade e imunidade, as características do parasito, manejo e clima também contribuem para a ocorrência da coccidiose. Entre os fatores relacionados aos coccídios destacam-se a espécie de *Eimeria* envolvida, o número de células intestinais destruídas, a dose infectante, o sítio de infecção, o grau de reinfecção, o tamanho dos estágios endógenos e a viabilidade e virulência dos oocistos ingeridos. O manejo também influi diretamente sobre as características da infecção por *Eimeria* spp. Em sistemas de produção intensivos, a alta densidade populacional facilita a transmissão do protozoário, havendo disponibilidade de grande quantidade de oocistos no ambiente. As principais fontes de infecção são as áreas sombreadas e úmidas, como ao redor de bebedouros ou em camas sujas e molhadas (LIMA, 2004).

Em animais saudáveis, mantidos em condições adequadas de manejo, uma baixa ingestão de oocistos induz o desenvolvimento de resposta imunológica protetora, a qual limita, mas não extingue, a infecção (AMARANTE, 2014). Tornando comum a observação de quantidades mínimas de oocistos eliminados por animais adultos. Estes, normalmente não apresentam sinais clínicos, mas podem servir como fonte de infecção para animais suscetíveis (MARTINS et al., 2020).

3.1.4 Patogenia e patologia

A patogenicidade por espécie está diretamente relacionada com os sítios de infecção e a quantidade de oocistos esporulados ingeridos pelo hospedeiro. Os coccídios que invadem apenas o intestino delgado, geralmente produzem menos efeitos patogênicos, uma vez que se trata de um órgão muito longo, garantindo um grande número de células hospedeiras e, conseqüentemente, um alto potencial de replicação parasitária com dano mínimo, havendo ainda possibilidade de compensação por parte do intestino grosso. As espécies de *Eimeria* que infectam o intestino grosso tendem a ser mais patogênicas, visto que a taxa de multiplicação dos enterócitos é muito menor e não há efeito compensatório de outras regiões do intestino, o que resulta redução da absorção de água, acarretando em diarreia (TAYLOR, 2000). Os animais jovens são mais suscetíveis a doença devido a reduzida renovação epitelial (ZACHARY & MCGAVIN, 2013), e baixa imunidade, especialmente imunossupressão induzida pelo estresse (AMARANTE, 2014; KHODAKARAM-TAFTI & HASHEMNIA, 2017).

As lesões têm caráter proliferativo e ocorrem por meio da hipertrofia e hiperplasia dos enterócitos infectados, culminando na morte das células devido a liberação das formas de vida do parasito. Macroscopicamente é observado espessamento focal de mucosa em padrão adenomatoso a cerebriforme, bem como hiperemia ativa, hemorragia e necrose; cilindros fibrinosos e/ou fibrino-hemorrágicos podem ser observados no lúmen intestinal (ZACHARY & MCGAVIN, 2013). Devido a essas alterações, a área disponível para absorção na mucosa é diminuída, acarretando em redução do ganho de peso e desidratação (SHARMA et al., 2015; KHODAKARAM-TAFTI & HASHEMNIA, 2017).

E. crandallis promove lesões especialmente no íleo, ceco e cólon; os processos de merogonia e gametogonia promovem atrofia das vilosidades intestinais levando à má absorção de nutrientes. As lesões na mucosa podem levar ao desprendimento

epitelial, sendo estes, evidentes nas fezes. *E. ovinoidalis* causa lesões no ceco e cólon, levando a hemorragias petequiais, espessamento, edema, hiperplasia de cripta, destruição do epitélio de superfície e desnudação da mucosa, acarretando em atrofia de vilosidades e consequentemente má absorção. O resultado destes processos é o subdesenvolvimento de cordeiros e, em casos mais graves, a morte (TAYLOR et al., 2017).

3.1.5 Sinais clínicos

A severidade da infecção, os sinais clínicos e a quantidade de eliminação de oocistos vão variar conforme as espécies de *Eimeria* envolvidas. A idade dos hospedeiros e fatores estressores (desmame, clima, má nutrição, entre outros) podem contribuir para a diminuição da imunidade dos animais e consequente aumento da suscetibilidade à coccidiose. A coccidiose subclínica geralmente está associada a infecção por espécies pouco patogênicas ou ao prévio desenvolvimento de imunidade competente, mesmo assim, podem levar a redução do crescimento devido à diminuição da eficiência alimentar (DAUGSCHIES et al., 2007; KOUTNY et al., 2012).

Nos ovinos, os sinais clínicos são geralmente mínimos e, na maioria dos animais, inaparentes. Entretanto, é comum haver algum grau de inapetência ou anorexia, bem como redução no ganho de peso e/ou emagrecimento e atraso de desenvolvimento (ANDREWS, 2013). Pode-se observar diarreia aquosa, raramente sanguinolenta, inapetência e desidratação (CHARTIER & PARAUD, 2012). Nas infecções causadas por *E. crandallis* e *E. ovinoidalis* os sinais clínicos são similares, sendo que o retardo de desenvolvimento é o primeiro indicativo de que estas espécies possam estar presentes no rebanho; além disso, animais jovens podem apresentar sujidades fecais nos quartos posteriores devido à diarreia. Com o agravamento do quadro clínico, os cordeiros desenvolvem diarreia aquosa profusa que pode conter estrias de sangue. Se não for realizado tratamento, o óbito ocorre em decorrência da desidratação intensa (TAYLOR et al., 2017).

Vale ressaltar que o efeito patogênico dos coccídios é frequentemente agravado por outros agentes patogênicos, como os nematoides, vírus ou bactérias gastrintestinais (DE WALL, 2012).

3.1.6 Diagnóstico

Para uma avaliação epidemiológica, dados referentes a topografia, presença de aguadas e temperaturas médias anuais devem ser consideradas. A idade dos animais atingidos no surto é um fator muito importante na formação de um conceito diagnóstico. É importante estabelecer ligações entre os achados clínicos, achados macroscópicos, microscópicos e exames coproparasitológicos.

Na presença de óbitos, uma necropsia deve ser conduzida, visando identificar áreas com alterações compatíveis com coccidiose, podendo-se realizar exame direto com raspado de mucosa e busca de formas do parasito que antecedem a eliminação de oocistos (GREGORY et al., 1980; LIMA, 2004). A ausência de oocistos não significa que o animal não esteja com coccidiose, pois na fase aguda da doença, pode não haver eliminação destes nas fezes, mas grande quantidade de merontes ou gametócitos nas células intestinais, os quais são observados à necropsia através de raspado da mucosa intestinal (GREGORY et al., 1980).

A análise coproparasitológica para detectar a presença de oocistos nas fezes dos ruminantes é realizada por técnicas de flutuação com solução saturada. Um exame frequentemente empregado para o diagnóstico de *Eimeria* em ruminantes é a técnica de Gordon & Whitlock (1939) que permite quantificar o número de oocistos por grama de fezes (OoPG). Para dimensionar a intensidade da infecção, pode ser estabelecido um sistema de escala de quatro escores, classificando as amostras do rebanho como: classe 1 (isentas de coccídios), classe 2 (<1.800 OoPG), classe 3 (1.800 a 6.000 OoPG) e classe 4 (>6.000 OoPG) (IDRIS et al., 2012).

Por vezes, os resultados dos exames coproparasitológicos não são suficientes para o diagnóstico individual da coccidiose, pois nem sempre animais que estão apresentando sinais clínicos têm altos índices de eliminação de oocistos. Entretanto, estas análises são ferramentas úteis na avaliação da infecção no rebanho (LIMA, 2004). Para tanto, recomenda-se a colheita de amostra fecal diretamente da ampola retal de pelo menos 10% do total de animais de cada categoria, realizando a remessa do material coletado ao laboratório em caixas isotérmicas, para manter a integridade das amostras. A partir dos valores de OoPG obtidos por meio da técnica de Gordon & Whitlock modificada (UENO & GONÇALVES, 1998), o veterinário de campo pode ter uma avaliação geral do grau de infecção do rebanho.

Nos casos da presença de oocistos nas fezes, deve-se identificar a espécie de *Eimeria*, pois infecções com espécies não patogênicas podem ocorrer. O diagnóstico

para detectar as espécies presentes nas fezes dos animais, é realizado por meio da análise da morfologia e morfometria dos oocistos em microscopia óptica, após esporulação em dicromato de potássio a 2%. Além da análise morfológica, técnicas moleculares podem ser usadas para a identificação específica do parasito (DE WALL, 2012), contudo seu uso é limitado devido ao alto custo em comparação aos métodos tradicionais de diagnóstico.

O curso subclínico da enfermidade, a inespecificidade dos sinais clínicos, bem como, a dificuldade de obter um diagnóstico individual por meio do exame coproparasitológico, são obstáculos à detecção da coccidiose pelos veterinários de campo. Dessa forma, o diagnóstico de certeza deve ser baseado em uma análise abrangente dos dados clínicos, exame das fezes, necropsia, avaliação meticulosa do manejo dos animais, idade e fatores climáticos.

3.1.7 Controle

O controle bem-sucedido da coccidiose pode ser alcançado quando há conhecimento detalhado sobre o sistema de produção do rebanho específico. De forma ampla, o controle deve focar em proporcionar condições higiênicas nas instalações, redução de fatores estressantes, nutrição adequada e uso de drogas anticoccidianas. Adoção e melhorias nas medidas higiênicas são essenciais para evitar o aparecimento da forma clínica da coccidiose, principalmente em sistemas intensivos de produção (CHARTIER & PARAUD, 2012).

Para o controle da coccidiose, medidas profiláticas são imprescindíveis, tanto pelas perdas econômicas relacionadas às infecções subclínicas, quanto pelos custos do tratamento químico. Minimizar o estresse dos animais, evitar a superlotação de estábulos e piquetes, manter os locais de confinamento limpos e secos, promover a limpeza frequente de bebedouros e comedouros, são medidas profiláticas que podem ser adotadas nas propriedades. A exposição à luz solar e consequente dessecação de oocistos também são meios capazes de reduzir a contaminação ambiental com oocistos (AMARANTE, 2014).

A higiene das instalações é o fator mais importante para prevenir ou reduzir a ingestão de oocistos presentes nas instalações, podendo ter efeitos superiores na redução da carga parasitária dos animais comprado ao uso de medicamentos coccidiostáticos (LOPES et al., 2014). Contudo, alguns princípios ativos podem ser utilizados tanto na prevenção, quanto no tratamento da coccidiose, destacando-se o

amprólio, o decoquinato, o toltrazuril, as sulfonamidas e antibióticos ionóforos (monensina, salinomina e lasalocida) (SPINOZA et al., 2018). Vale ressaltar, que em alguns casos o tratamento da coccidiose subclínica é economicamente inviável; no entanto, pode ser praticável quando utilizado para prevenir a perda de peso por coccidiose clínica (RODRIGUES et al., 2017). O uso de drogas anticoccidianas deve ser recomendado quando as alternativas profiláticas de higienização e manejo se mostrarem ineficientes ou em propriedades com histórico de surtos de coccidiose.

O amprólio, derivado da pirimidina, atua nos merontes de primeira geração, impedindo a diferenciação em merozoítos, tendo efeito coccidiostático e podendo ser empregado de maneira profilática ou terapêutica. É importante salientar, que o amprólio é um antagonista competitivo da tiamina (vitamina B1) devido a semelhanças estruturais, e em altas doses pode causar poliencefalomalácia (NOGUEIRA et al. 2010; KEETON & NAVARRE, 2017).

O decoquinato atua nos esporozoítos e merontes de primeira geração, interrompendo o desenvolvimento dos coccídios no início de seu ciclo de vida, antes que possam causar danos no intestino. Pode ser administrado como um aditivo à dieta dos animais, se mostrando eficiente na prevenção da coccidiose clínica e subclínica, melhorando a eficiência alimentar e o ganho de peso (ANDRADE JUNIOR et al., 2012; SPINOZA et al., 2017).

O toltrazuril, derivado da triazina, é um composto efetivo contra todos os estágios intracelulares de eimerídeos, sendo utilizado principalmente no tratamento de surtos de coccidiose. Este fármaco impede o desenvolvimento das fases assexuada e sexuada do ciclo biológico, produzindo anormalidades no aparelho de Golgi, retículo endoplasmático e espaço perinuclear, que impedem a divisão celular e a formação da parede do microgametócito e do macrogametócito. Dessa forma, contribui para a redução de excreção de oocistos, e consequentemente a contaminação ambiental (SARATSI et al., 2013; TAYLOR et al., 2017).

As sulfonamidas (sulfadimidina, sulfametoxipiridazina, sulfaguanidina, sulfaquinoxalina e sulfacloropirazina) foram os primeiros medicamentos com ação frente aos coccídios, sendo coccidiostáticos em baixas doses e coccidiocidas em doses maiores (SPINOZA et al., 2017). A administração destes medicamentos é comumente utilizada para tratar a coccidiose em muitas espécies, mas o mecanismo exato não é conhecido. Sua eficácia clínica pode estar mais relacionada ao controle da enterite bacteriana secundária do que a um efeito direto em coccídios (KEETON &

NAVARRE, 2017). Em ovinos clinicamente assintomáticos a administração da associação de sulfadoxina e trimetoprima demonstrou ter pouco efeito sobre a eliminação de oocistos (LOPES et al., 2014).

Os antibióticos ionóforos (monensina, salinomicina e lasalocida) são amplamente utilizados para o controle da coccidiose aviária; para ruminantes são efetivos como profiláticos fornecidos juntamente com o alimento. Atuam nos estádios livres intestinais de *Eimeria* (esporozoítos, merozoítos e gametócitos) quando a droga entra em contato com eles no lúmen intestinal. Melhoram a conversão alimentar e o ganho de peso dos animais (KEETON & NAVARRE, 2017).

4 Atividades de pesquisa

Durante o período de março de 2018 a dezembro de 2021 foram realizadas atividades relacionadas ao projeto “Ocorrência de protozooses intestinais em ovinos da região sul do Rio Grande do Sul” (CEEA 15450-2018). Nesse ínterim, foram coletadas 502 amostras de fezes de ovinos de diferentes categorias, das quais 255 foram de cordeiros de até 6 meses de idade; 236 de ovelhas; e 11 de carneiros. Foram colhidas amostras de pelo menos 10% do total de ovinos de cada fazenda, e apenas uma vez de cada animal. No estudo, participaram 21 propriedades, de 11 municípios das regiões da Campanha e Sul do Rio Grande do Sul: Aceguá, Bagé, Canguçu, Capão do Leão, Cerrito, Dom Pedrito, Herval, Pedro Osório, Pelotas, Piratini e Sant’Ana do Livramento. Um questionário estruturado com questões relativas à epidemiologia, forma de manejo, tipo de criação, entre outros (Apêndice A), foi aplicado a fim de avaliar fatores de risco relacionados a infecção por *Eimeria* spp.

As amostras de fezes foram processadas pela técnica de Gordon & Whitlock modificada (UENO & GOLÇALVES, 1998) para estimar o número de oocistos de *Eimeira* spp. Após esporulação, os oocistos desse parasito foram identificados de acordo com características morfométricas e morfológicas (CARRAU et al., 2018; SOUZA et al., 2015; MACEDO et al., 2019).

A análise descritiva, foi realizada utilizando o pacote de software Excel® 2019 e das calculadoras epidemiológicas EpiTools (Sergeant 2018). Para identificar as características de manejo associadas à presença de espécies de *Eimeria* spp., foi realizada a análise univariada por teste qui-quadrado (χ^2) ou Exato de Fischer; este último quando se observou menos que cinco observações no quadrante do teste. As variáveis que mostraram associação com $p \leq 0,2$ pelo teste de χ^2 , ou Exato de Fischer,

foram selecionadas para a construção do modelo múltiplo. A existência de associação entre os fatores foi verificada utilizando o modelo múltiplo *Generalized Estimating Equations* (GEE) de regressão logística.

Artigo 1

Publicado no periódico Pesquisa Veterinária Brasileira
(<http://www.pvb.com.br/>)



***Eimeria* spp. infection in lambs from southern Brazil¹**

Natália S. Martins² , Sara P. da Motta², Carolina C. Santos², Andrios S. Moreira²,
Nara A.R. Farias³ and Jeronimo L. Ruas^{4*}

ABSTRACT. Martins N.S., Motta S.P., Santos C.C., Moreira A.S., Farias N.A.R. & Ruas J.L. 2020. *Eimeria* spp. infection in lambs from southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 40(11):871-874. Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, Travessa André Dreyfus s/n, Capão do Leão, RS 96010-900, Brazil. E-mail: jeronimo.ruas@gmail.com

Eimeria infections are common in the sheep industry worldwide. Lambs are more susceptible to coccidiosis, especially in stressful conditions, being infected by different species of the parasite. *Eimeria crandallis* and *Eimeria ovinoidalis* are considered the most pathogenic, causing reduced growth, dehydration, anorexia, and death. In this study, the frequency of *Eimeria* species was evaluated in lambs from the southern region of the Rio Grande do Sul state, Brazil. Fecal samples from 248 lambs, from 19 farms, were tested for the presence of oocysts. The positive samples were re-examined and the sporulated oocysts analyzed morphometrically to identify the presence of *Eimeria* species. In 100% of the evaluated farms, there were animals positive for the protozoan. The frequency of *Eimeria* species was: *E. ovinoidalis* (94.74%), *E. crandallis* (89.47%), *E. granulosa* (78.95%), *E. parva* (68.42%), *E. ahsata* (63.13%), *E. punctata* (42.11%), *E. bakuensis* (36.84%), *E. faurei* (10.53%), and *E. pallida* (5.26%). Mixed infection was found in 94.74% of the samples. This research describes, for the first time, the occurrence of *E. crandallis* and *E. ovinoidalis* infecting lambs in the study area. The wide distribution of this protozoan and the high frequency of pathogenic species show the importance and potential damage of sheep coccidiosis in herds from Rio Grande do Sul.

INDEX TERMS: Infection, lambs, Brazil, sheep industry, coccidiosis, *Eimeria crandallis*, *Eimeria ovinoidalis*.

RESUMO. [Infecção por *Eimeria* spp. em cordeiros do sul do Brasil.] As infecções por *Eimeria* são comuns na ovinocultura mundial. Cordeiros são mais suscetíveis a coccidiose, especialmente em condições estressantes, sendo infectados por diferentes espécies do parasito. *Eimeria crandallis* e *Eimeria ovinoidalis* são consideradas as mais patogênicas, causando redução do crescimento, desidratação, anorexia e morte. Neste estudo, a prevalência de *Eimeria* spp. foi avaliada em cordeiros da região sul do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Amostras fecais de 248 cordeiros, provenientes de 19 fazendas, foram testadas quanto à presença

de oocistos. As amostras positivas foram reexaminadas e os oocistos esporulados analisados morfometricamente para identificação das espécies de *Eimeria* presentes. Em 100% das fazendas avaliadas houve animais positivos para o protozoário. A frequência das espécies de *Eimeria* foi: *E. ovinoidalis* (94.74%), *E. crandallis* (89.47%), *E. granulosa* (78.95%), *E. parva* (68.42%), *E. ahsata* (63.13%), *E. punctata* (42.11%), *E. bakuensis* (36.84%), *E. faurei* (10.53%) e *E. pallida* (5.26%). Infecção mista foi encontrada em 94.74% das amostras. Este trabalho descreve pela primeira vez a ocorrência de *E. crandallis* e *E. ovinoidalis* infectando cordeiros na área de estudo. Este trabalho descreve pela primeira vez a ocorrência de *E. crandallis* e *E. ovinoidalis* infectando cordeiros na área de estudo. A ampla distribuição desse protozoário e a alta frequência das espécies patogênicas evidenciam a importância da coccidiose ovina e os danos potenciais nos rebanhos do Rio Grande do Sul.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Infecção, cordeiros, Brasil, ovinocultura, coccidiose, *Eimeria crandallis*, *Eimeria ovinoidalis*, ovinos.

¹ Received on August 17, 2020.

Accepted for publication on August 31, 2020.

² Graduate Program in Microbiology and Parasitology, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Av. Eliseu Maciel s/n, Capão do Leão, RS 96160-000, Brazil.

³ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário, Travessa André Dreyfus s/n, Capão do Leão, RS 96010-900, Brazil.

⁴ Laboratório Regional de Diagnóstico, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Av. Eliseu Maciel s/n, Capão do Leão, RS 96160-000, Brazil.

*Corresponding author: jeronimo.ruas@gmail.com

INTRODUCTION

Traditionally, the sheep industry has always been relevant to the economy of the Rio Grande do Sul state. Even with the crises that occurred in the 80s and 90s, the herd remains one of the largest in Brazil, and its distribution remains concentrated in the southern state region (Silva et al. 2013, IBGE 2017). This industry still faces some obstacles; parasitic infections being one of the factors that influences a reduction in sheep production performance. Among such diseases, coccidiosis causes significant economic losses as a result of clinical (diarrhea) and subclinical disease (poor weight gain) (Chartier & Paraud 2012).

Coccidiosis of farm animals is caused by coccidial parasites of the genus *Eimeria* which develop in the small and the large intestines. Coccidiosis is of great economic importance, not only in terms of its effect on the animal (poor weight gain in particular) but also in terms of the required treatment costs. Many *Eimeria* infections in sheep are asymptomatic; however, more frequently in lambs, some species have been associated with diarrhea and stunted growth (Chartier & Paraud 2012). Infections occur due to the ingestion of sporulated oocysts, and the hosts can be simultaneously infected by different species of the parasite. Currently, eleven *Eimeria* species are recognized as causing sheep infections, with *E. crandallis* and *E. ovinoidalis* being the most pathogenic (Andrews 2013). Species differentiation is still a challenge, requiring coprological examination with a precise morphometric analysis of sporulated oocysts (Macedo et al. 2019).

Clinical signs are unapparent in most *Eimeria* infected animals. However, it is common to have some degree of inappetence or anorexia, weight loss and growth retardation (Andrews 2013). Infection leads to underdevelopment due to parasite multiplication occurring within enterocytes, which causes villous atrophy, leading to malabsorption of nutrients (Martins et al. 2020). Fecal staining around the hindquarters, due to diarrhea, can occur. As the clinical conditions worsen, lambs develop profuse watery diarrhea that may contain

blood-streaks (Keeton & Navarre 2017). If treatment is not performed, intense dehydration can lead to death.

Subclinical disease and the non-specificity of clinical signs are obstacles to the detection of coccidiosis by farmers and veterinarians. Thus, the diagnosis must be based on the analysis of clinical signs, coprological examinations, animal management, age, and climatic factors (Martins et al. 2020).

Coccidiosis is a substantial problem, causing an important economic impact on livestock and, although the sheep industry is a traditional activity in Rio Grande do Sul, the epidemiology data of this parasitosis in the state are scarce, especially in the southern region.

Given that, the aim of this study was to estimate the frequency of *Eimeria* species in lambs from the southern Rio Grande do Sul state, Brazil.

MATERIALS AND METHODS

All procedures performed in this study were approved by the Ethics Commission on Animal Experimentation of the Federal University of Pelotas under protocol number 15450/2018.

A cross-sectional epidemiological study was carried out on 19 ruminant farms from 8 cities of the southern Rio Grande do Sul state, Brazil (Fig.1). The minimum sample size ($n=246$) was estimated, with EpiInfo™ epidemiological calculators, based on the sheep population ($n=499,898$) of the study area (IBGE 2019). A confidence level of 95% and statistical error of 5% were considered.

From August 2018 to September 2019, stool samples were collected directly from the rectum of 248 animals, which represented at least 10% of the total lambs from each farm. Analyzed farms adopted an intensive, extensive or semi-extensive production system. Animals enrolled in this study were observed for the presence of clinical signs related to coccidiosis (low body condition, diarrhea, apathy, and emaciation).

The samples were examined for the presence and number of oocysts per gram (OPG) of feces using the modified Gordon & Whitlock technique (Ueno & Gonçalves 1998). Subsequently, positive samples

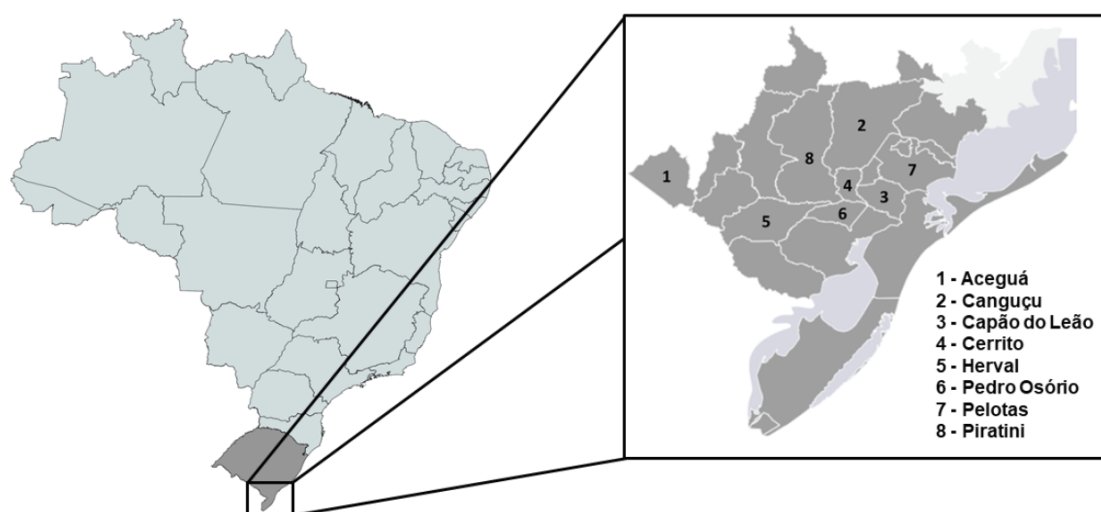


Fig.1. Municipalities from the southern Rio Grande do Sul state where lamb stool samples were collected for the detection of *Eimeria* in 2018 and 2019.

from each farm were pooled and stored in Falcon tubes containing 2.5% potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$), which were regularly moved in order to allow oxygenation and kept at room temperature for ten days until sporulation of *Eimeria* oocysts was completed (Carrau et al. 2018). Sporulated oocysts were separated from the fecal mixture and potassium dichromate using a modified centrifugal flotation technique (Duszynski & Wiiber 1997). Ultimately, 100 oocysts from each sample were randomly selected in the optical microscopy examination. In samples with less than 100 oocysts, all were analyzed. Species differentiation was based on morphometric and morphological characteristics, such as: shape, color, and presence or absence of micropyle and micropylar caps, following Souza et al. (2015) and Macedo et al. (2019).

For descriptive analysis, the Excel® 2019 software package was used. True prevalence, and the Chi-square test, was performed to compare the occurrence of *Eimeria* species in different breeding systems, with a 5% significance level, using EpiTools epidemiological calculators (Sergeant 2018).

RESULTS

Eimeria oocysts were found in 85.98% of the fecal samples with a mean of 5,034 oocysts per gram (OPG) of feces (0 a 120,100 OPG). Furthermore, at least one animal showed *Eimeria* infection in all farms (100%). The overall results of positivity for any *Eimeria* species are shown in Table 1. Overall, 9 *Eimeria* species were identified in fecal samples with the following prevalence: *E. ovinoidalis* (94.74%), *E. crandallii* (89.47%), *E. granulosa* (78.95%), *E. parva* (68.42%), *E. ahsata* (63.13%), *E. punctata* (42.11%), *E. bakuensis* (36.84%), *E. faurei* (10.53%) and *E. pallida* (5.26%). Concomitant infections were found in 94.75% of analyzed farms, with 3 to 8 different *Eimeria* species present in the same pooled sample (Table 1). No significant changes of color, odor or consistency were identified in the samples. Diarrhea was not observed in the analyzed lambs although, in some farms, poor body condition and apathy was noted.

DISCUSSION

The results obtained in this research showed that the *Eimeria* species has a wide distribution in the study area. Brazilian and worldwide studies have found a variable prevalence of *Eimeria* species in sheep; however, in the majority of cases,

young animals had higher rates of positivity for the parasite (Lopes et al. 2013, Souza et al. 2015, Carrau et al. 2018). The high prevalence of positive samples found in the present study (85.98%) probably occurred due to the focus on young lambs, the age group most susceptible to coccidiosis.

The pathogenic species for sheep, *E. crandallii* and *E. ovinoidalis* (Andrews 2013), were the most prevalent in the present study, which indicates that the evaluated farms have considerable risk for losses associated with coccidiosis. This is the first description of these species in the study area. The results are similar to the data found by Carrau et al. (2018), who obtained prevalence for *E. ovinoidalis* and *E. crandallii* of 97% and 89.4%, respectively. These two species are usually associated with reduced fluid absorption and consequent diarrhea, but are also known to induce strong protective immunity without clinical signs (Carrau et al. 2018).

E. ahsata, *E. bakuensis*, *E. granulosa*, *E. faurei*, *E. parva*, *E. pallida*, and *E. punctata* are considered nonpathogenic but can cause impairment of growth due to nutrient malabsorption (Keeton & Navarre 2017, Taylor et al. 2017), which might trigger subclinical coccidiosis in animals. Investigations carried out in different regions of Brazil already describe the presence of these species infecting sheep with variable prevalence (Tembue et al. 2009, Silva et al. 2011, Lopes et al. 2013, Souza et al. 2015, Macedo et al. 2019).

Previously studies demonstrated that the intensive and semi-intensive farming systems could facilitate the dissemination of *Eimeria* species (Lopes et al. 2013, Tomczuk et al. 2015). In this study, there were statistical differences ($p=0.028$) between animal infection and different breeding systems. Lambs raised under the intensive system had a higher frequency of parasitism by *Eimeria* (Table 1), with statistical difference in relation to the semi-extensive regime ($p=0.010$), which agrees with previous reports (Lopes et al. 2013, Macedo et al. 2019). In intensive breeding conditions accompanied by a high animal density, coccidiosis can become an infection of significant economic importance (Chartier & Paraud 2012). Lower frequency was found in the semi-extensive system, however the lambs raised in this regime has greater excretion of oocysts (Table 1). This fact could be related with the poor hygienic sanitary conditions and high stocking rates observed on some of these farms, which may be considered an aggravating factor for the spread of coccidiosis (Macedo et al. 2019). Chartier & Paraud (2012) suggested that the economic impact of coccidiosis in small ruminants from tropical regions is probably not of a significant impact compared with other infections; however, coccidiosis was considered a potential risk for sheep raised under extensive systems in Brazil (Silva et al. 2011, Souza et al. 2015). The high frequency of *Eimeria* infections and oocysts shedding found in extensive breeding, indicating that the presence of this parasite cannot be underestimated.

For Keeton & Navarre (2017), mixed infections with multiple pathogenic and nonpathogenic species are common. This was observed in almost all positive lambs and suggests that these infections usually occur by more than one species in the study region. In fact, field-acquired infections are generally mixed, as the animals are more exposed to the existing environmental biodiversity (Silva et al. 2011).

Despite the high occurrence and the mixed infection of *Eimeria* species, no significant changes in stool characteristics,

Table 1. Presence of *Eimeria* oocysts in lambs from southern Rio Grande do Sul state, Brazil

	Mean (OPG)	Median (OPG)	Frequency (%)
Farming systems			
Intensive	5,971	1,000	95.24% ^a
Semi-extensive	8,916	1,200	76% ^{bc}
Extensive	4,250	1,100	87.8% ^{ac}
P value	-	-	0.0281
Co-infections			
Triple	7,805	3,600	10.54% ^a
Quadruple	2,568	200	42.11% ^b
Quintuple	4,561	1,100	31.58% ^{ab}
> Six	13,795	2,300	10.52% ^a
P value	-	-	0.0193

OPG = Oocysts per gram; ^{abc} Different lowercase letters on the same column indicate a statistically significant difference (Chi-square $P<0.05$).

such as diarrhea, were observed. However, some animals presented at least one suggestive clinical sign of coccidiosis, such as poor body condition, rough hair coat, and apathy. A poor growth rate, in an appropriate epidemiological setting, should indicate a diagnosis of subclinical coccidiosis (Chartier & Paraud 2012), with consequent economic losses for farmers. The non-specificity or nonexistence of clinical signs makes coprological monitoring essential to identify losses in livestock production, as is the development of partnerships between veterinarians and farmers.

So far, little is known about ovine coccidiosis in the southern Rio Grande do Sul region. This study on natural infections of *Eimeria* species is considered to contribute to the better understanding of coccidiosis epidemiology in this study area. New studies should be encouraged to elucidate the risk factors of these parasites, emphasizing the need to develop diagnostic and control programs, contributing to the progress of the sheep industry.

CONCLUSIONS

The results obtained in this research showed that *Eimeria* species constitute an endemic infection on the evaluated farms, with a wide distribution of the parasite. *Eimeria ovinoidalis* and *Eimeria crandallis* was the most frequent species, followed by *Eimeria granulosa*, *Eimeria parva*, *Eimeria ahsata*, *Eimeria punctata*, *Eimeria bakuensis*, *Eimeria faurei*, and *Eimeria pallida*.

Higher levels of parasitism were diagnosed in animals that were raised in an intensive breeding system ($P \leq 0.05$).

Concomitant infections were found in almost all analyzed farms.

The high frequency of this protozoan, and the description of the pathogenic species *E. crandallis* and *E. ovinoidalis* for the first time in the region, highlight the importance of sheep coccidiosis in the southern Rio Grande do Sul state, Brazil.

Acknowledgments.- This study was financed in part by the "Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior" (CAPES), Brazil, Finance Code 001. The authors would also like to express their gratitude and appreciation to the farmers and veterinarians who participated in this research.

Conflict of interest statement.- The authors have no competing interests.

REFERENCES

- Andrews A.H. 2013. Some aspects of coccidiosis in sheep and goats. *Small Rumin. Res.* 110(2/3):93-95. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.11.011>>
- Carrau T., Silva L.M.R., Pérez D., Failingd K., Martínez-Carrasco C., Macías J., Taubert A., Hermosilla C. & Ruiz de Ybáñez R. 2018. Associated risk factors influencing ovine *Eimeria* infections in southern Spain. *Vet. Parasitol.* 263:54-58. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.10.004>>
- Chartier C. & Paraud C. 2012. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. *Small Rumin. Res.* 103(1):84-92. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.10.022>>
- Duszynski D.W. & Wiiber P.G. 1997. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *J. Parasitol.* 83(2):333-336. <PMid:9105325>
- IBGE 2017. Produção da Pecuária Municipal 2017. *Prod. Pec. Mun.*, Rio de Janeiro, 45:1-8.
- IBGE 2019. Censo Agropecuário 2017. *Censo Agropec.*, Rio de Janeiro, 8:1-105.
- Keeton S.T.N. & Navarre C.B. 2017. Coccidiosis in Large and Small Ruminants. *Vet. Clin. N. Am., Food Anim. Pract.*, 34(1):201-208. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2017.10.009>> <PMid:29249601>
- Lopes W.D.Z., Borges F.A., Faiolla T.P., Antunes L.T., Borges D.G.L., Rodriguez F.S., Ferraro G., Teixeira W.F., Maciel W.G., Felippelli G., Costa A.J., Pereira V. & Martinez A.C. 2013. *Eimeria* species in young and adult sheep raised under intensive and/or semi-intensive systems of a herd from Umuarama city, Parana State, Brazil. *Ciência Rural* 43(11):2031-2036. <<https://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782013001100018>>
- Macedo L.O., Santos M.A.B., Silva N.M.M., Barros G.M.M.R., Alves L.C., Giannelli A., Ramos R.A.N. & Carvalho G.A. 2019. Morphological and epidemiological data on *Eimeria* species infecting small ruminants in Brazil. *Small Rumin. Res.* 171:37-41. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.12.006>>
- Martins N.S., Motta S.P., Santos C.C., Moreira A.S., Farias N.A.R. & Ruas J.L. 2020. Eimeriose em bovinos e ovinos: uma inimiga invisível. *Braz. J. Develop.* 6(4):19421-19434. <<https://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n4-201>>
- Sergeant E.S.G. 2018. Epitools Epidemiological Calculators. Ausvet. Available at <<http://epitools.ausvet.com.au>> Accessed on Apr. 15, 2020.
- Silva A.P.S.P., Santos D.V., Kohek Jr I., Machado G., Hein H.E., Vidor A.C.M. & Corbellini L.G. 2013. Ovinocultura do Rio Grande do Sul: descrição do sistema produtivo e dos principais aspectos sanitários e reprodutivos. *Pesq. Vet. Bras.* 33(12):1441-1446. <<https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013001200010>>
- Silva R.M., Facury-Filho E.J., Souza M.F. & Ribeiro M.F.B. 2011. Natural infection by *Eimeria* spp. in a cohort of lambs raised extensively in Northeast Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 20(2):134-139. <<https://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612011000200008>>
- Souza L.E.B., Cruz J.F., Teixeira Neto M., Albuquerque G.R., Melo A.D.B. & Tapia D.M.T. 2015. Epidemiology of *Eimeria* infections in sheep raised extensively in a semiarid region of Brazil. *Revta Bras. Parasitol. Vet.* 24(4):410-415. <<https://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015070>> <PMid:26648007>
- Taylor M.A., Coop R.L. & Wall R.L. 2017. *Parasitologia Veterinária*. 4ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.1733-1758.
- Tembue A.A.S.M., Ramos R.A.N., Lima M.M., Faustino M.A.G., Meunier I.M.J. & Alves L.C. 2009. Species of the genus *Eimeria* Schneider, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) in small ruminants from Ibimirim county, Pernambuco state. *Vet. Not.* 15(2):51-57.
- Tomczuk K., Grzybek M., Szczepaniak K., Studzinska M., Demkowska-Kutrzepa M., Roczen-Karczmarz M. & Klockiewicz M. 2015. Analysis of intrinsic and extrinsic factors influencing the dynamics of bovine *Eimeria* spp. from central-eastern Poland. *Vet. Parasitol.* 214(1/2):22-28. <<https://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.09.027>> <PMid:26455571>
- Ueno H. & Gonçalves P.C. 1998. Manual para Diagnóstico das Helmintoses de Ruminantes. 4ª ed. JICA, Tokyo, p.16-18.

Artigo 2

Publicado no periódico Semina: Ciências Agrárias
(<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/>)

Ovine *Eimeria* infections in southern Brazil – prevalence and risk factors

Infecções por *Eimeria* em ovinos do sul do Brasil – prevalência e fatores de risco

Natália Soares Martins^{1*}; Sara Patron da Motta¹; Carolina Caetano dos Santos¹; Andrios da Silva Moreira¹; Tainá Ança Evaristo²; Nara Amélia da Rosa Farias³; Jerônimo Lopes Ruas⁴

Highlights

High prevalence in animals and herds.

Pathogenic *Eimeria* species were the most prevalent.

Age and management practices were risk factors associated with protozoan infection.

Abstract

Eimeria infections are common in sheep industry worldwide, however information about their epidemiology is scarce in southern state of Rio Grande do Sul, Brazil. Therefore, a cross-sectional study was carried out to determine the prevalence, species characterization, and associated risk factors between *Eimeria* species and sheep flocks. Fecal samples from 428 sheep from 21 farms were tested for the presence of oocysts. The overall prevalence of *Eimeria* spp. was 68.69% and was significantly affected by age of the sheep, with highest prevalence in animals under 18 months of age. Eight *Eimeria* species were identified. *Eimeria ovinoidalis* (85.71%) was the most common, followed by *Eimeria crandallis* (80.95%), *Eimeria granulosa* (78.95%), *Eimeria ahsata* (61.90%), *Eimeria faurei* (42.86%), *Eimeria bakuensis* (38.10%), *Eimeria punctata* (14.29%), and *Eimeria pallida* (9.52%). All herds were positive, with concomitant infections. Among management and husbandry practices; farm size, animal density, farming system, breeding objectives, and pasture system influenced the prevalence of *Eimeria* species. The infection was more prevalent on small farms with high animal density, in sheep raised for meat, semi-intensive system, and rotational grazing ($p < 0.05$). The wide distribution of this protozoan and the high frequency of pathogenic species show the importance and potential damage of coccidiosis in sheep flocks in Rio Grande do Sul.

Key words: Coccidiosis. *Eimeria crandallis*. *Eimeria ovinoidalis*. Sheep.

¹ Drs. Students, Graduate Program in Microbiology and Parasitology, Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Pelotas, RS, Brazil. E-mail: nataliasmartins@outlook.com; sarapatron@hotmail.com; carol_csantos@hotmail.com; andriossilvamoreira@gmail.com

² Undergraduate Student, School of Veterinary Medicine, UFPel, Pelotas, RS, Brazil. E-mail: evaristo.medvet@gmail.com

³ Prof. Dr., Department of Microbiology and Parasitology, UFPel, Pelotas, RS, Brazil. E-mail: naraameliafarias@gmail.com

⁴ Veterinarian, Dr., Regional Diagnostic Laboratory, UFPel, Pelotas, RS, Brazil. E-mail: jeronimo.ruas@gmail.com

* Author for correspondence

Resumo

As infecções por *Eimeria* são comuns na ovinocultura em todo o mundo, porém informações sobre sua epidemiologia são escassas no sul do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Portanto, um estudo transversal foi realizado para determinar a prevalência, caracterização das espécies e fatores de risco associados entre espécies de *Eimeria* e rebanhos ovinos. Amostras fecais de 428 ovinos, de 21 fazendas, foram testadas para a presença de oocistos. A prevalência geral de *Eimeria* spp. foi 68,69%, sendo significativamente afetada pela idade dos ovinos, com maior prevalência em animais menores de 18 meses. Oito espécies de *Eimeria* foram identificadas; *Eimeria ovinoidalis* (85,71%) foi a mais comum, seguida por *Eimeria crandallis* (80,95%), *Eimeria granulosa* (78,95%), *Eimeria ahsata* (61,90%), *Eimeria faurei* (42,86%), *Eimeria bakuensis* (38,10%), *Eimeria punctata* (14,29%) e *Eimeria pallida* (9,52%). Todos os rebanhos foram positivos, com infecções concomitantes. Entre as práticas de manejo e criação; tamanho da fazenda, densidade animal, sistema de criação, objetivo de criação e sistema de pastagem tiveram influência sobre a prevalência de *Eimeria* spp. A infecção foi mais prevalente em pequenas propriedades com alta densidade animal, em ovinos destinados a produção de carne, sistema semi-intensivo de criação e pastejo rotacionado ($p < 0,05$). A ampla distribuição desse protozoário e a alta frequência de espécies patogênicas mostram a importância e os danos potenciais da coccidiose ovina nos rebanhos gaúchos.

Palavras-chave: Coccidiose. *Eimeria crandallis*. *Eimeria ovinoidalis*. Ovinos.

Introduction

Coccidiosis is one of the most important parasitic diseases of small ruminants worldwide. It is caused by coccidian parasites of the genus *Eimeria* which develop in the small and large intestines. Coccidiosis has considerable economic importance, causing decreases in productivity, low growth performance, diarrhea, and mortality (Khodakaram-Tafti & Hashemnia, 2017). Furthermore, treatment costs are high and are not always economically viable, especially in subclinical infections (Rodrigues et al., 2017). Many *Eimeria* infections in sheep are asymptomatic; however, more frequently in lambs, some species have been associated with diarrhea and stunted growth (Chartier & Paraud, 2012). Infections occur due to the ingestion of sporulated oocysts and the hosts can be simultaneously infected by different species of the parasite. Currently, 11 *Eimeria*

species are recognized as causing sheep infections, with *E. ovinoidalis* being the most pathogenic followed by *E. crandallis* and *E. ahsata* (Andrews, 2013; Bangoura & Bardsley, 2020; Gregory Catchpole, Nolan, & Hebert, 1989). Species differentiation remains a challenge, requiring coprological examination with a precise morphometric analysis of sporulated oocysts (Macedo et al., 2019).

Clinical signs are unapparent in most *Eimeria* infected animals. However, it is common to have some degree of inappetence or anorexia, weight loss, growth retardation, rough hair coat, and weakness (Andrews, 2013). Infection leads to underdevelopment due to parasite multiplication occurring within enterocytes, which causes villous atrophy, leading to malabsorption of nutrients. Fecal smearing may occur around the hindquarters due to diarrhea. As the clinical condition worsens, lambs develop profuse watery

diarrhea that may contain blood-streaks (Keeton & Navarre, 2017). If treatment is not undertaken, intense dehydration can lead to death. The severity of infection is a result of multiple conditions, including decreased host immunity, high parasite load, management and sanitary conditions, animal density, breed susceptibility, and presence of pathogenic *Eimeria* species (Khodakaram-Tafti & Hashemnia, 2017; Rodrigues et al., 2017).

Coccidiosis is frequent and potentially damaging to sheep in southern Rio Grande do Sul, as previously reported (Martins et al., 2020). However, epidemiology data of this parasitosis in the state are scarce, especially on the risk factors associated with *Eimeria*. Thus, the aim of this study was to report epidemiological data of *Eimeria* spp. infections in sheep flocks in southern Rio Grande do Sul, Brazil, evaluating the prevalence and associated risk factors.

Material and Methods

Study area and sample collection

The current study was conducted on 21 farms from 11 cities of the southern Rio Grande do Sul state, Brazil, from August 2018 to September 2019 (Figure 1). The minimum sample size ($n = 384$) was estimated, with EpiInfo™ epidemiological calculators, based on the sheep population ($n = 499,898$) of the study area (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE], 2017). A confidence level of 95%, expected frequency of 50%, and statistical error of 5% were considered. Animals enrolled in this study were observed for the presence of clinical signs related to coccidiosis (low body condition, diarrhea, apathy, and emaciation). In total, 428 fecal samples were obtained rectally and analyzed for the detection of *Eimeria* oocysts. On each farm, at least 10% of the total sheep population was included in the study.

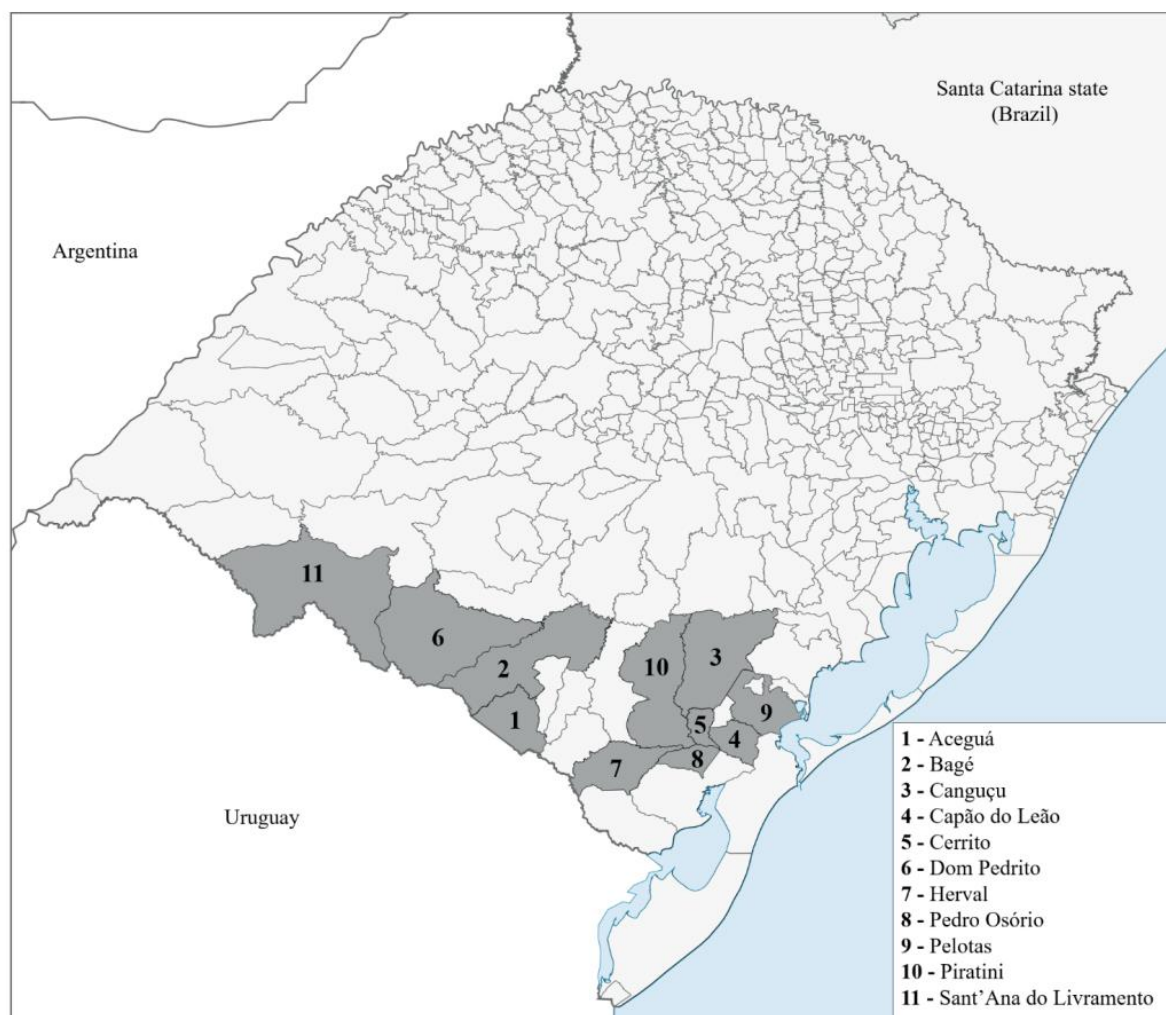


Figure 1. Cities from the southern Rio Grande do Sul state, Brazil, where sheep stool samples were collected for the detection of *Eimeria* in 2018 and 2019.

All procedures performed in this study were approved by the Ethics Commission on Animal Experimentation of the Federal University of Pelotas under protocol number 15450/2018.

Coprological analysis

Samples were screened using the modified Gordon and Whitlock technique (Ueno & Gonçalves, 1998), estimating the presence and number of oocysts per gram of feces (OPG). Subsequently, positive samples from each farm were pooled and stored in conical centrifuge tubes containing 2.5%

potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$), which were moved regularly to allow oxygenation and kept at room temperature for ten days until sporulation of *Eimeria* oocysts was completed (Carrau et al., 2018). The Sporulated oocysts were separated from the fecal mixture and potassium dichromate using a modified centrifugal flotation technique (Duszynski & Wiiber, 1997). Ultimately, 100 oocysts from each pooled sample were randomly selected on optical microscopy examination. In samples with less than 100 oocysts, all were analyzed. Species differentiation was based on morphometric and morphological characteristics, such as shape, color, and presence or absence of micropyle and micropylar caps, following Souza et al. (2015) and Macedo et al. (2019).

Statistical analysis and risk factors

Sheep within a farm were considered to form one group, as all animals were exposed to the same risk of extrinsic infection. Because animal management and farming systems were diverse between farms, the risks were considered different. Consequently, the experimental unit was the farm, not the individual sheep. Therefore, after coprological screening, the positive samples were pooled in order to obtain one sample per flock. A farm was classified as positive when *Eimeria* oocysts were detected in at least one of the sheep investigated on the farm.

A structured questionnaire was administered via a face-to-face interview with the farmers, to assess their knowledge of sheep health and husbandry and farm management practices, this information was used to search for risk factors associated with coccidiosis. Visual observations were also

made to confirm questionnaire responses and assess farming practices. Information about the following variables was collected through a questionnaire:

1. Age: animals less than 18 months old were considered as young, the others as adults.
2. Breed: Corriedale, Ideal, Texel, and mixed-breed were studied.
3. Production system and management: type of farming system (intensive, extensive, or semi-intensive), breeding objectives (meat, wool, or multi-purpose), grazing management (continuous or rotational grazing and/or multi-species grazing), watering system (treated water or pond), acquisition and quarantine of new animals, herd size (animal density), and farm size (small, medium, or large). The farm size classification was defined by Brazilian law (Lei nº 8.629, 1993) and considers the fiscal module and not just the measure, which varies according to each city.
4. Herd health: sheep mortality and presence of diarrhea.
5. Veterinary assistance and knowledge about coccidiosis.

For the descriptive analysis, the Excel® 2019 software package was used. To identify the management characteristics associated with *Eimeria* species presence, a univariate analysis was performed using the chi-square (χ^2) or Fischer's exact test (when less than five observations were observed in the test quadrant). Variables that showed an association with $p \leq 0.2$ by the χ^2 test or Fischer's exact test were selected for multiple model construction. Finally, Generalized Estimating Equations a multiple logistic regression model, was used to verify the association between the factors.

Results and Discussion

Out of all samples analyzed, the prevalence of *Eimeria* was 68.69% (294/428) with a mean of 3126.21 OPG. Young animals had a higher prevalence and released a greater number of oocysts when compared to adults

($p < 0.05$) (Table 1). No significant changes of color, odor, or consistency were identified in the fecal samples. Diarrhea was not observed in the analyzed sheep although, on some farms, poor body condition and apathy was noted.

Table 1

Mean of OPG¹ and prevalence (%) of *Eimeria* spp. in sheep from southern state of Rio Grande do Sul, Brazil

Animal category	Mean OPG	Prevalence	<i>p</i> value	Odds ratio
Young (<18 months)	5492.40	86.55%	<0.0001	7.3
Adult	194.20	46.60%		

¹OPG = Oocysts per gram of feces.

Young sheep were more heavily parasitized by *Eimeria*, agreeing with previous reports (Carrau et al., 2018; Lopes et al., 2013; Khan et al., 2011; Souza et al., 2015). *Eimeria* is an intracellular parasite whose multiplication occurs within the cytoplasm of epithelial cells causing cell necrosis. As a result of diminished epithelial turnover in young animals, they are most susceptible to infection (Khodakaram-Tafti & Hashemnia, 2017). In the first days of life, sheep start ingesting sporulated oocysts with food or water, presenting a progressive increase in the prevalence and intensity of oocyst excretion by lambs until a peak is reached around the weaning period. Thereafter, the excretion intensity decreases to reach lower values as the sheep grow (Chartier & Paraud, 2012), which is compatible with the results of the OPG mean between young and adult sheep. Adult animals generally become immune to coccidiosis but serve as a reservoir for lambs. The severity of infection, clinical signs, and oocyst excretion

are affected by the *Eimeria* species involved, level of environmental exposure, and animal immunity (Keeton & Navarre, 2017).

Eimeria was detected in all herds studied (100%). Eight *Eimeria* species were identified during coproparasitological examination. *E. ovinoidalis* (85.71%) was the most common, followed by *E. crandallis* (80.95%), *Eimeria granulosa* (78.95%), *Eimeria ahsata* (61.90%), *Eimeria faurei* (42.86%), *Eimeria bakuensis* (38.10%), *Eimeria punctata* (14.29%), and *Eimeria pallida* (9.52%). Mixed infection was found on all farms. Furthermore, analysis of all the risk factors on the farms revealed that farm size, breed size, breeding objectives, farming system, and pasture system were the factors significantly associated ($p < 0.05$) with *Eimeria* species infection (Table 2).

E. crandallis and *E. ovinoidalis* were the most prevalent in the present study. These two species are highly pathogenic for sheep

and are usually associated with reduced fluid absorption and consequent diarrhea but are also known to induce strong protective immunity without clinical signs (Andrews, 2013; Carrau et al., 2018). The detected non-pathogenic species, *E. ahsata*, *E. bakuensis*, *E. faurei*, *E. granulosa*, *E. pallida*, *E. parva*, *E. punctata*, may be involved in cases of subclinical coccidiosis causing impairment of growth due to nutrient malabsorption (Keeton & Navarre, 2017; Taylor, Coop, & Wall, 2017). Concomitant infections were found on all analyzed farms. It is noteworthy that polyparasitism can aggravate the pathogenic effect of coccidia and may trigger more serious effects (Chartier & Paraud, 2012). Previous studies conducted in Brazil

have already described the presence of these species infecting sheep with variable prevalence (Lopes et al., 2013; Macedo et al., 2019; Martins et al., 2020; Souza et al., 2015).

As mentioned before, some factors can interfere with *Eimeria* prevalence and distribution, including management and sanitary conditions, host immunity, and breed susceptibility (Khodakaram-Tafti & Hashemnia, 2017). With that understanding, risk factors that could be related to *Eimeria* occurrence in the studied region were estimated. The results indicated that some management conditions presented a relevant risk factor with a significant influence on sheep coccidiosis (Table 2).

Table 2

Risk factors associated with *Eimeria* species on sheep breeding farms from the southern Rio Grande do Sul state, Brazil

Independent variables	Associated variables ¹			
	Parasite specie	Frequency	p value	Odds ratio
Farm size				
Small	<i>Eimeria ahsata</i>	88.9%	0.035	0.05
Herd size				
High animal density	<i>Eimeria ahsata</i>	53.85%	0.036	2.128
	<i>Eimeria crandallis</i>	84.6%	0.002	18.33
Breeding objectives				
Meat	<i>Eimeria crandallis</i>	93.8%	0.028	22.500
Farming system				
Semi-intensive	<i>Eimeria faurei</i>	37.5%	0.042	0.1538
	<i>Eimeria punctata</i>	80%	0.048	0.100
Pasture system				
Rotational grazing	<i>Eimeria ovinoidalis</i>	88.9%	0.035	0.050

¹Multiple logistic regression estimated by *Generalized Estimating Equations*; only factors that remained with a statistically significant association are included (p < 0.05).

Poor sanitation was considered as a risk factor for coccidiosis. This condition allows higher food and water contamination by sporulated oocysts, increasing sheep exposure to infection. Furthermore, paddock and facility overcrowding interfere with animal welfare and can result in a high burden of *Eimeria* infection by stress-induced immunosuppression (Khodakaram-Tafti & Hashemnia, 2017). On small properties with a high animal density, animals were bred for slaughter. Furthermore, on these farms there was a higher risk of infection by *E. ahsata* ($p = 0.036$) and *E. crandallis* ($p = 0.002$). Similar results were obtained by Cai and Bai (2009) who observed greater oocyst excretion in high density herds. This fact may be related to stressful situations that sheep are exposed to, interfering with their immunological status and making them more susceptible to coccidiosis (Cai & Bai, 2009).

The farming system has already been described as a possible risk factor for coccidiosis (Lopes et al., 2013; Macedo et al., 2019). In the semi-intensive system, sheep are confined at night. On some farms the animals receive food supplementation, and most animals were kept in small and poorly maintained barns. This practice is common in Rio Grande do Sul to avoid predation and sheep theft. In this breeding system, a higher frequency of nonpathogenic species *E. faurei* ($p = 0.042$) and *E. punctata* ($p = 0.048$) was observed. Sheep housing and poor facility conditions may have influenced the occurrence of the species. The clinical importance of these data is unknown; however, it cannot be ignored.

Grazing management can be performed differently according to the production system. Native grasslands were

considered as the main food source on the study farms, these grasslands present a great structural diversity in native forage species, with almost 800 grasses and 200 legumes (Nabinger, Moraes, & Maraschin, 2000). This uncultivated land consists of natural plant species, usually extensively grazed. Compared with native grasslands, pasture is cultivated with intentional species planting, irrigation, and fertilizers, and are managed more intensively (Eagle & Olander, 2012). Furthermore, rotational grazing is a system where a pasture is separated into smaller paddocks and the group of animals is moved regularly between paddocks, usually staying for 3–14 days; it is crucial that pastures are allowed to rest and recover to maintain adequate forage production (Eagle & Olander, 2012). Rotational grazing was used for 33.4% of farms in order to provide forage at ideal stages of height, nutrient concentration, and digestibility. These farms had a higher frequency of parasitism by *E. ovinoidalis*, with a statistical difference in relation to continuous grazing ($p = 0.035$ OR = 0.050). Rotational grazing contributes to parasite control in livestock (Burke & Miller, 2020); however, it is ineffective when used alone or incorrectly, as it can provide an ideal environment for parasite proliferation, allowing autoinfection and timing the next grazing at the peak of parasite availability (Colvin, Walkden-Brown, Knox, & Scott, 2008).

Clinical signs of *Eimeria* infection are usually minimal and unapparent; however, depression, weakness, abdominal pain, anorexia, with reduced weight gain, weight loss, dehydration and diarrhea may be observed, and in some cases, coccidiosis can lead to sudden death without previous digestive signs (Chartier & Paraud, 2012; Keeton & Navarre, 2017). The main symptom

of coccidiosis is diarrhea and may precede oocyst shedding; however, oocyst excretion may also be high without any clinical signs (Chartier & Paraud, 2012). In total, 38.09% of farmers reported having observed animals with diarrhea, especially lambs, although no significant changes in stool characteristics were observed in the collected samples. Nevertheless, some animals presented at least one suggestive clinical sign of coccidiosis, such as poor body condition, softer fecal pellets, rough hair coat, and apathy. Similar observations were described in a preliminary study, where animals with high prevalence and *Eimeria* oocyst elimination had no distinction in stool consistency (Martins et al., 2020). In fact, the high prevalence and absence or non-specificity of clinical signs indicates the occurrence of subclinical coccidiosis in the study herds. This silent illness is hard to detect and expensive to treat. Rodrigues et al. (2017) showed that subclinical coccidiosis treatment is economically unfeasible; however, it may be viable when used to prevent weight loss from clinical coccidiosis.

The results presented in this study confirm the importance of coccidiosis in southern Rio Grande do Sul and emphasize the need to implement a diagnosis and control system. Even though there was veterinary assistance on 52.38% of the farms, only four out of the 21 people interviewed claimed to know about coccidiosis. This indicates a lack of knowledge about the disease and its impacts on herd health. Promoting strategies, through education and training programs for infection prevention, with farmers and veterinarians, must be the priority for improving the entire coccidiosis prevention and control system.

Conclusion

Overall prevalence results confirmed a high prevalence and wide distribution of *Eimeria* infections in sheep from southern Rio Grande do Sul, Brazil. The infection is endemic, particularly in young animals. *Eimeria* was detected in all herds studied, with mixed infections. Eight *Eimeria* species have been identified and it has been shown that the highly pathogenic *E. ovinoidalis* and *E. crandallis* dominate. The risk of infection increases on small farms with high animal density, poor grazing management and poor sanitary conditions. These findings highlight the importance of ovine coccidiosis and serve as an alert for veterinarians regarding the presence of pathogenic species in sheep. Appropriate sanitary measures must be encouraged to prevent infection and consequent economic loss.

Acknowledgments

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001. The authors would also like to express their gratitude and appreciation to the farmers and veterinarians who participated in this research.

References

- Andrews, A. H. (2013). Some aspects of coccidiosis in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 110(2-3), 93-95. doi: 10.1016/j.smallrumres.2012.11.011
- Bangoura, B., & Bardsley, K. D. (2020) Ruminant coccidiosis. *Veterinary Clinics of North*

- America: Food Animal Practice*, 36(1), 187-203. doi: 10.1016/j.cvfa.2019.12.006
- Burke, J. M., & Miller, J. E. (2020). Sustainable approaches to parasite control in ruminant livestock. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(1), 89-107. doi: 10.1016/j.cvfa.2019.11.007
- Cai, K. Z., & Bai, J. L. (2009). Infection intensity of gastrointestinal nematodosis and coccidiosis of sheep raised under three types of feeding and management regims in Ningxia Hui Autonomous Region, China. *Small Ruminant Research*, 85(2-3), 111-115. doi: 10.1016/j.smallrumres.2009.07.013
- Carrau, T., Silva, L. M. R., Pérez, D., Failingd, K., Martínez-Carrasco, C., Macías, J.,... Ruiz de Ybáñez, R. (2018). Associated risk factors influencing ovine *Eimeria* infections in southern Spain. *Veterinary Parasitology*, 263, 54-58. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.10.004
- Chartier, C., & Paraud, C. (2012). Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. *Small Ruminant Research*, 103(1), 84-92. doi: 10.1016/j.smallrumres.2011.10.022
- Colvin, A. F., Walkden-Brown, S. W., Knox, M. R., & Scott, J. M. (2008). Intensive rotational grazing assists control of gastrointestinal nematodosis of sheep in a cool temperate environment with summer-dominant rainfall. *Veterinary Parasitology*, 153, 108-120. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.01.014
- Duszynski, D. W., & Wiiber, P. G. (1997). A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *The Journal of Parasitology*, 83(2), 333-336.
- Eagle, A. J., & Olander, L. P. (2012). Greenhouse gas mitigation with agricultural land management activities in the United States—a side-by-side comparison of biophysical potential. In D. L. Sparks (Ed.), *Advances in agronomy*. Cambridge, MA: Academic Press.
- Gregory, M. W., Catchpole, J., Nolan, A., & Hebert, C. N. (1989). Ovine coccidiosis: studies on the pathogenicity of *Eimeria ovinoidalis* and *E. crandallis* in conventionally-reared lambs, including possible effects of passive immunity. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 96(6), 287-292.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2017). *Censo agropecuário 2017*. Recuperado de https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html?localidade=43&tema=75674
- Keeton, S. T. N., & Navarre, C. B. (2017). Coccidiosis in large and small ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 34(1), 201-208. doi: 10.1016/j.cvfa.2017.10.009
- Khan, M. N., Rehman, T., Iqbal, Z., Sajid, M. S., Ahmad, M., & Riaz, M. (2011). Prevalence and associated risk factors of *Eimeria* in sheep of Punjab, Pakistan. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation*, 5(7), 1329-1334.
- Khodakaram-Tafti, A., & Hashemnia, M. (2017). An overview of intestinal coccidiosis in sheep and goats. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 167(1-3), 9-20.
- Lei nº 8.629, de 25 de fevereiro de 1993. Dispõe sobre a regulamentação dos dispositivos constitucionais relativos à reforma agrária, previstos no Capítulo III, Título VII, da Constituição Federal. Recuperado de http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8629.htm
- Lopes, W. D. Z., Borges, F. A., Faiolla, T. P., Antunes, L. T., Borges, D. G. L., Rodriguez, F. S.,... Martinez, A. C. (2013). *Eimeria* species in young and adult sheep raised under intensive and/or semi-intensive

- systems of a herd from Umuarama city, Parana State, Brazil. *Ciência Rural*, 43(11), 2031-2036. doi: 10.1590/S0103-84782013001100018
- Macedo, L. O., Santos, M. A. B., Silva, N. M. M., Barros, G. M. M. R., Alves, L. C., Giannelli, A.,... Carvalho, G. A. (2019). Morphological and epidemiological data on *Eimeria* species infecting small ruminants in Brazil. *Small Ruminant Research*, 171, 37-41. doi: 10.1016/j.smallrumres.2018.12.006
- Martins, N. S., Motta, S. P., Santos, C. C., Moreira, A. S., Farias, N. A. R., & Ruas, J. R. (2020). *Eimeria* spp. infection in lambs from southern Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research*, 40(11), 871-874. doi: 10.1590/1678-5150-PVB-6745
- Nabinger, C., Moraes, A., & Maraschin, G. E. (2000). *Campos* in Southern Brazil. In G. Lemaire, J. Hodgson, A. de Moraes, C. Nabinger, & P. C. de F. Carvalho (Eds.), *Grassland ecophysiology and grazing ecology* (pp. 355-376). New York, NY: CAB International.
- Rodrigues, F. S., Cezar, A. S., Menezes, F. R. de, Sangioni, L. A., Vogel, F. S. F., & Botton, S. A. (2017). Efficacy and economic analysis of two treatment regimens using toltrazuril in lambs naturally infected with *Eimeria* spp. on pasture. *Parasitology Research*, 116(11), 2911-2919. doi: 10.1007/s00436-017-5597-5
- Souza, L. E. B., Cruz, J. F., Teixeira, M. R., Neto, Albuquerque, G. R., Melo, A. D. B., & Tapia, D. M. T. (2015). Epidemiology of *Eimeria* infections in sheep raised extensively in a semiarid region of Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 24(4), 410-415. doi: 10.1590/S1984-29612015070
- Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2017). Parasitas de ovinos e caprinos. In M. A. Taylor, R. L. Coop, & R. L. Wall (Eds.), *Parasitologia veterinária* (pp. 1733-1758). Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan.
- Ueno, H., & Gonçalves, P. C. (1998). *Manual para o diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. Tokyo: International Cooperation Agency.

5 Considerações finais

Os resultados obtidos evidenciam a alta prevalência e ampla distribuição de infecções por *Eimeria* em ovinos do sul do Rio Grande do Sul, Brasil. A infecção é endêmica, principalmente em animais jovens. O parasito foi detectado em todos os rebanhos estudados, com infecções mistas. Oito espécies de *Eimeria* foram identificadas, sendo as mais patogênicas, *E. ovinoidalis* e *E. crandallis*, dominantes. O risco de infecção foi maior em pequenas propriedades com alta densidade animal, manejo de pastagem deficiente e condições sanitárias precárias.

Vale salientar que nenhum caso de coccidiose clínica foi diagnosticado durante a pesquisa, embora sinais compatíveis com a infecção subclínica (má condição corporal, apatia, perda da capacidade de formar cíbalas fecais, lã quebradiça e sem brilho) tenham sido observados. Outro fato relevante foi o desconhecimento sobre o parasito; apenas quatro pessoas entrevistadas afirmaram conhecer *Eimeria* spp., todos eram veterinários e/ou tinham experiência em parasitologia. A inespecificidade dos sinais clínicos, bem como o desconhecimento pela população geral sobre o impacto da infecção na saúde dos rebanhos, pode ter contribuído para os altos índices de infecção detectados neste estudo.

Os achados confirmam a importância das infecções por *Eimeria* spp. no sul do Rio Grande do Sul e enfatizam a necessidade da realização de diagnóstico e controle parasitário. A promoção de programas de educação e treinamento para prevenção da infecção, com veterinários e produtores, deve ser encorajada para a melhoria de todo o sistema de prevenção e controle da coccidiose.

Referências

AMARANTE, A.F.T. **Os parasitas de ovinos**. São Paulo: Editora UNESP, 2014. 263p.

AMMAR, S. I.; WATSON, A. M.; CRAIG, L. E.; COPE, E. R.; SCHAEFER, J. J.; MULLINIKS, J. T.; GERHOLD, R. W. *Eimeria gilruthi* - associated abomasitis in a group of ewes. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v.31, n.1, p.128-132, 2019.

ANDRADE JÚNIOR, A.L.F; SILVA, P.C.; AGUIAR, E.M.; SANTOS, F.G.A. Use of coccidiostat in mineral salt and study on ovine eimeriosis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.1, p.16-21, 2012.

ANDREWS, A.H. Some aspects of coccidiosis in sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v.110, p.93-95, 2013.

BASTIANI, F.T.; DA SILVA, A.S.; DÜCK, M.R.K; TONIN, A.A.; MONTEIRO, S.G. Outbreak of eimeriosis and giardiasis associated to mortality of lambs in southern Brazil. **Comparative Clinical Pathology**, v.21, p.371-373, 2012.

BURKE, J. M.; MILLER, J. E. Sustainable approaches to parasite control in ruminant livestock. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.36, n.1, p.89-107, 2020.

CAI, K. Z.; BAI, J. L. Infection intensity of gastrointestinal nematodosis and coccidiosis of sheep raised under three types of feeding and management regims in Ningxia Hui Autonomous Region, China. **Small Ruminant Research**, v.85, n2-3, p.111-115, 2009.

CARRAU, T.; SILVA, L.M.R.; PÉREZ, D.; FAILINGD, K.; MARTÍNEZ-CARRASCO, C.; MACÍAS, J.; TAUBERT, A.; HERMOSILLA, C.; RUIZ DE YBÁÑEZ, R. Associated risk factors influencing ovine *Eimeria* infections in southern Spain. **Veterinary Parasitology**, v.263, p.54-58, 2018.

CHARTIER, C.; PARAUD, C. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. **Small Ruminant Research**, v.103, p.84-92, 2012.

COLVIN, A.F.; WALKDEN-BROWN, S.W.; KNOX, M.R.; SCOTT, J.M. Intensive rotational grazing assists control of gastrointestinal nematodosis of sheep in a cool temperate environment with summer-dominant rainfall. **Veterinary Parasitology**, v.153, p.108-120, 2008.

DAUGSCHIES, A.; AGNEESSENS, J.; GOOSSENS, L.; MENGEL, H.; VEYS, P. The effect of a metaphylactic treatment with diclazuril (Vecoxan) on the oocyst excretion and growth performance of calves exposed to a natural *Eimeria* infection. **Veterinary Parasitology**, v.149, p.199-206, 2007.

DE WALL, T. Advances in diagnosis of protozoan diseases. **Veterinary Parasitology**, v.189, p.65-74, 2012.

DUSZYNSKI, D.W.; WIIBER, P.G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. **Journal of Parasitology**, v.83, p.333-336, 1997.

EAGLE, A.J.; OLANDER, L.P. Greenhouse gas mitigation with agricultural land management activities in the United States—a side-by-side comparison of biophysical potential. In SPARKS, D.L. (Ed.), *Advances in agronomy*. Cambridge, MA: Academic Press, 2012.

GREGORY, M. W.; CATCHPOLE, J.; NOLAN, A.; HEBERT, C. N. Ovine coccidiosis: studies on the pathogenicity of *Eimeria ovinoidalis* and *E. crandallis* in conventionally-reared lambs, including possible effects of passive immunity. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v.96, n.6, p.287-292, 1989.

GREGORY, M.W.; JOYNER, L.P.; CATCHPOLE, J.; NORTON, C.C. Ovine coccidiosis in England and Wales 1978-1979. **Veterinary Record**, v.106, p.461-462, 1980.

IBGE. 2017. Produção da Pecuária Municipal 2017, Rio de Janeiro, 45:p.1-8, 2017.

IBGE. 2019. Censo Agropecuário 2017, Rio de Janeiro, 8:1-105.

IDRIS, A.; MOORS, E.; SOHNREY, B.; GAULY, M. Gastrointestinal nematode infections in German sheep. **Parasitology research**, v.110, p.1453-1459, 2012.

KEETON, S.T.N.; NAVARRE, C.B. Coccidiosis in Large and Small Ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.34, n.1, p.201-208, 2017.

KHAN, M.N., REHMAN, T., IQBAL, Z., SAJID, M.S., AHMAD, M.; RIAZ, M. Prevalence and associated risk factors of *Eimeria* in sheep of Punjab, Pakistan. **International Scholarly and Scientific Research & Innovation**, v.5, n.7, p.1329-1334, 2011.

KHODAKARAM-TAFTI, A.; HASHEMNIA, M. An overview of intestinal coccidiosis in sheep and goats. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.167, n.1-3, p.9-20, 2017.

KOKUZAWA, T., ICHIKAWA-SEKI, M., ITAGAKI, T. Determination of phylogenetic relationships among *Eimeria* species, which parasitize cattle, on the basis of nuclear 18S rDNA sequence. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.75, p.1427-1431, 2013.

KOMMURU, D. S.; BARKER, T.; DESAI, S.; BURKE, J. M.; RAMSAY, A.; MUELLER-HARVEY, I.; MILLER, J. E.; MOSJIDIS, J. A.; KAMISSETTI, N.; TERRILL, T. H. Use of pelleted sericea lespedeza (*Lespedeza cuneata*) for natural control of coccidia and gastrointestinal nematodes in weaned goats. **Veterinary Parasitology**, v.204, p.191-198, 2014.

KOUTNY, H.; JOACHIM, A.; TICHY, A.; BAUMGARTNER, W. Bovine *Eimeria* species in Austria. **Parasitology Research**, v.110, p.1893-1901, 2012.

BRASIL. Lei nº 8.629, de 25 de fevereiro de 1993. Dispõe sobre a regulamentação dos dispositivos constitucionais relativos à reforma agrária, previstos no Capítulo III, Título VII, da Constituição Federal. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8629.htm

LIMA, J.D. Coccidiose dos ruminantes domésticos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, 2004.

LOPES W.D.Z., BORGES F.A., FAIOLLA T.P., ANTUNES L.T., BORGES D.G.L., RODRIGUEZ F.S., FERRARO G., TEIXEIRA W.F., MACIEL W.G., FELIPPELLI G., COSTA A.J., PEREIRA V. & MARTINEZ A.C. *Eimeria* species in young and adult sheep raised under intensive and/or semi-intensive systems of a herd from Umuarama city, Parana State, Brazil. **Ciência Rural**, v.43, n.11, p.2031-2036, 2013.

LOPES, W.D.Z.; CARVALHO, R.S.; PEREIRA, V.; MARTINEZ, A.C.; CRUZ, B.C.; TEIXEIRA, W.F.; MACIEL, W.G.; COSTA, A.J.; SOARES, V.E.; BORGES, D.G.L.; RODRIGUEZ, F.R.; BORGES, F.A. Efficacy of sulfadoxine + trimethoprim compared to management measures for the control of *Eimeria* parasitism in naturally infected and clinically asymptomatic sheep that were maintained in a feedlot. **Small Ruminant Research**, v.116, p.37-43, 2014.

MACEDO, L.O.; SANTOS, M.A.B.; SILVA, N.M.M.; BARROS, G.M.M.R.; ALVES, L.C.; GIANNELLI, A.; RAMOS, R.A.N.; CARVALHO, G.A. Morphological and epidemiological data on *Eimeria* species infecting small ruminants in Brazil. **Small Ruminant Research**, v.171, p.37-41, 2019.

MARTINS N.S.; MOTTA S.P.; SANTOS C.C.; MOREIRA, A.S. FARIAS, N.A.R.; RUAS, J.L. Eimeriose em bovinos e ovinos: uma inimiga invisível. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.4, p.19421-19434, 2020.

MARTINS, N.S.; MOTTA, S.P.; SANTOS, C. C.; MOREIRA, A.S.; FARIAS, N.A.R.; RUAS, J.R. *Eimeria* spp. infection in lambs from southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.40, n.11, p.871-874, 2020.

MITCHELL, E.S.; SMITH, R.P.; ELLIS-IVERSEN, J. Husbandry risk factors associated with subclinical coccidiosis in young cattle. **The Veterinary Journal**, v.193, p.119-123, 2012.

NABINGER, C.; MORAES, A.; MARASCHIN, G.E. *Campos* in Southern Brazil. In: LEMAIRE, G.; HODGSON, J.; MORAES, A.; NABINGER, C.; CARVALHO, P.C.F. (Eds.), *Grassland ecophysiology and grazing ecology*. New York, NY: CAB International, 2000, p.355-376.

LEMOES, R.A.A.; SANT'ANA, F.J.F. Polioencefalomalácia experimental induzida por amprólio em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, p.631-636, 2010.

RODRIGUES, F.S.; CEZAR, A.S.; MENEZES, F.R.; SANGIONI, L.A.; VOGEL, F.S.F.; BOTTON, S.A. Efficacy and economic analysis of two treatment regimens using toltrazuril in lambs naturally infected with *Eimeria* spp. on pasture. **Parasitology Research**, v.116, n.11, p.2911-2919, 2017.

SAMPAIO, R.L.; LACERDA, M.S.; ALVARENGA, R.R.; ESPINOZA, M.F. Coccidiose nervosa em vaca Gir adulta - Relato de caso. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.1, p.322-329, 2009.

SARATSIS, A.; KARAGIANNIS, I.; BROZOS, C.; KIOSSIS, E.; TZANIDAKIS, N.; JOACHIM, A.; SOTIRAKI, S. Lamb eimeriosis: Applied treatment protocols in dairy sheep production systems. **Veterinary Parasitology**, v.196, p.56-63, 2013.

SERGEANT, E.S.G. Epitools Epidemiological Calculators. Ausvet, 2018. Available at: <<http://epitools.ausvet.com.au>> Accessed at: 15 apr. 2020.

SHARMA, S.; VIJAYACHARI, P.; SUGUNAN, A.P. Histopathological studies of *Eimeria bovis* infection in calves. **Journal of Veterinary Science & Technology**, v.6, n.4, p.1-2, 2015.

SILVA, A.P.S.P.; SANTOS, D.V.; KOHEK JR I.; MACHADO G.; HEIN, H.E.; VIDOR, A.C.M.; CORBELLINI, L.G. Ovinocultura do Rio Grande do Sul: descrição do sistema produtivo e dos principais aspectos sanitários e reprodutivos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.12, p.1441-1446, 2013.

SILVA, R.M.; FACURY-FILHO, E.J.; SOUZA, M.F.; RIBEIRO, M.F.B. Natural infection by *Eimeria* spp. in a cohort of lambs raised extensively in Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.20, n.2, p.134-139, 2011.

SOUZA, L.E.B.; CRUZ, J.F.; TEIXEIRA NETO, M.R.; ALBUQUERQUE, G.R.; MELO, A.D.B.; TAPIA, D.M.T. Epidemiology of *Eimeria* infections in sheep raised extensively in a semiarid region of Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.24, n.4, p.410-415, 2015.

SPINOSA, H.S; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

TAYLOR, M. Protozoal disease in cattle and sheep. **In Practice**, v.22, p.604-617, 2000.

TAYLOR, M.A., COOP, R.L.; WALL, R. L. Parasitas de ovinos e caprinos. In: TAYLOR, M.A., COOP, R.L.; WALL, R. L. (Eds.), *Parasitologia veterinária*. Rio de Janeiro, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp. 1733-1758, 2017.

TEMBUE, A.A.S.M.; RAMOS R.A.N., LIMA M.M.; FAUSTINO, M.A.G.; MEUNIER, I.M.J.; ALVES L.C. Species of the genus *Eimeria* SCHNEIDER, 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) in small ruminants from Ibimirim county, Pernambuco state. **Veterinária Notícias**, v.15, p.51-57, 2009.

TOMCZUK, K.; GRZYBEK, M.; SZCZEPANIAK, K.; STUDZINSKA, M.; DEMKOWSKA-KUTRZEPA, M.; ROCZEN-KARCZMARZ, M.; KLOCKIEWICZ, M. Analysis of intrinsic and extrinsic factors influencing the dynamics of bovine *Eimeria* spp. From central–eastern Poland. **Veterinary Parasitology**, v.214, p.22-28, 2015.

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4. ed. Tokyo: JICA, 1998. 143p.

ZACHARY, J.F.; MCGAVIN, D.M. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 1344 p.

Apêndice

Apêndice A - Questionário

OCORRÊNCIA DE PROTOZOSES INTESITINAIS EM OVINOS DA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL – QUESTIONÁRIO

Nome da propriedade:

Município/Localidade:

Data: ____/____/____

Responsável pelas informações: () Proprietário; () Administrador; () Técnico

Telefone:

E-mail:

Propriedade e Rebanho

Área total da propriedade:

Área destinada à pecuária:

Tipo de exploração: () Carne; () Leite; () Lã; () Venda de matrizes/sêmen/embriões

Sistema de criação: () Intensivo; () Semi-extensivo; () Extensivo

Suplementação em que época do ano? _____

A ovinocultura é a principal fonte de renda? () Sim; () Não

Cria outros animais? () Sim; () Não. Quais? () Bovinos; () Equinos; () Caprinos

Ocupam mesma área dos ovinos? () Sim; () Não

Quais raças ovinas na propriedade? _____

Separa animais jovens de animais adultos? () Sim; () Não

Animais dormem em área coberta? () Sim; () Não. () Aprisco; () Galpão () Mangueira

Faz rodízio de pastagem? () Sim; () Não

Propriedade com áreas de várzea ou alagadiças com acesso aos animais? () Sim; () Não

Compra animais? () Sim; () Não

Conhece o histórico dos animais comprados? () Sim; () Não

Manejo com animais recém-adquiridos:

() Quarentena. Tempo: _____; () Imediatamente incorporados ao rebanho

Índice de mortalidade de cordeiros e animais jovens? () Baixo; () Alto

Índice de mortalidade de ovelhas adultas? () Baixo; () Alto

Diarreia frequente? () Sim; () Não. () Cordeiros () Jovens () Adultos

Tem conhecimento sobre: () *Eimeria*; () *Cryptosporidium*; () *Giardia*

Observação:

Anexos

Anexo A - Certificado Comissão de Ética e Experimentação Animal da UFPel

10/07/2018

SEUFPel - 0136990 - Parecer



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

PARECER Nº
PROCESSO Nº
INTERESSADO:

48/2018/CEEA/REITORIA
 23110.015450/2018-92
 JERONIMO LOPES RUAS

Certificamos que a proposta intitulada “**Ocorrência de doenças parasitárias causadas por protozoários (*Cryptosporidium spp.*, *Eimeria spp.* e *Giardia sp.*) em ovinos da região sul do Rio Grande do Sul**”, processo nº 23110.015450/2018-92, sob a responsabilidade de **Jerônimo Lopes Ruas** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 07/05/2018.

Finalidade	(X) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	20/06/2018 a 20/03/2018
Espécie/linhagem/raça	Ovina/variável
Nº de animais	384
Idade	Variável
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Propriedades localizadas na região sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao *COBALTO* para posterior registro no *COCEPE* (código para cadastro nº **CEEA 15450-2018**).

10/07/2018

SEI/UFPA - 0136990 - Parecer

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA



Documento assinado eletronicamente por ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX, Médico Veterinário, em 09/05/2018, às 10:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpa.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 0136990 e o código CRC 4AC33CC2.

Referência: Processo nº 23110.015450/2018-92

SEI nº 0136990