

**FABIANO FABRI**

**“AVALIAÇÃO PONDERAL DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS  
A DIFERENTES PROTOCOLOS DE PROFILAXIA CONTRA  
COCCIDIOSE”**

**“PONDERAL EVALUATION OF BROILERS SUBMITTED TO  
DIFFERENT PROTOCOLS OF PROPHYLAXIS AGAINST  
COCCIDIOSIS”**

Descalvado - São Paulo

2020

**FABIANO FABRI**

**“AVALIAÇÃO PONDERAL DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS  
A DIFERENTES PROTOCOLOS DE PROFILAXIA CONTRA  
COCCIDIOSE”**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da UNIVERSIDADE BRASIL, para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

**Departamento:**

Produção Animal

**Área de concentração:**

Produção Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo.

Descalvado - São Paulo

2020

F121a Fabri, Fabiano  
"Avaliação ponderal de frangos de corte submetidos a diferentes protocolos de profilaxia contra coccidiose" / Fabiano Fabri. – Descalvado: Universidade Brasil, 2020.  
52f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.


Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo

1. Avicultura industrial de corte. 2. Coccidia. 3. Protozoários parasitas. 4. Imunidade. I. Título.

CDD 636.5089696

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO****Fabiano Fabri****“AVALIAÇÃO PONDERAL DE FRANGOS DE CORTE  
SUBMETIDOS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE PROFILAXIA  
CONTRA COCCIDIOSE”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:



---

Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo  
(Orientador)  
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



---

Prof. Dr. Paulo Henrique Moura Dian  
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



---

Prof. Dr. Wilson Gomez Manrique  
(UNIR - Universidade Federal de Rondônia)

Descalvado, 18 de dezembro de 2020

Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo  
Presidente da Banca



**FOLHA DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DO TEXTO NA PÁGINA UNICASTELO E BANCO DE TESES DA CAPES E REPRODUÇÃO DO TRABALHO**

**Termo de Autorização**

**Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respectivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Dissertações e Teses da Capes.**

Na qualidade de titular (es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo (amos) a Universidade Brasil à disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na pagina do respectivo Programa de Pós-graduação Stricto Sensu, bem como no Banco de Dissertações e Teses da Capes, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **“AVALIAÇÃO PONDERAL DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE PROFILAXIA CONTRA COCCIDIOSE”**.

Autor (es)

Discente: Fabiano Fabri

Assinatura:

Orientador: Prof. Dr. Marco A. A. Belo

Assinatura:

Descalvado, 18 de dezembro de 2020.

## **DEDICATÓRIA**

**Ao meu filho Kenji Narita Fabri, aos meus pais João Batista Fabri e Maria Valente Fabri, a meu irmão Fabricio Fabri, familiares e amigos, de coração.**

**DEDICO.**

## **AGRADECIMENTOS**

**A DEUS, pela minha existência. Obrigado, por mais essa etapa profissional e pessoal concluída.**

**Ao Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo, pelo tempo dedicado em orientação e paciência.**

**EPÍGRAFE:**

*“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas”.*

*(Claude Lévi-Strauss)*



# **“AVALIAÇÃO PONDERAL DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE PROFILAXIA CONTRA COCCIDIOSE”**

## **RESUMO**

A coccidiose aviária é uma doença causada por protozoários intracelulares do gênero *Eimeria*, que resultam em lesões intestinais no hospedeiro, que comprometem o ganho de peso. Em aves, pioram a conversão alimentar, aumentam a taxa de mortalidade e, conseqüentemente, causam sérios prejuízos à indústria avícola. O surgimento de cepas resistentes aos fármacos anticoccidianos elevou a necessidade do desenvolvimento de vacinas para o controle das coccidioses. Entretanto, a imunidade é espécie específica e depende da exposição a diferentes cepas do protozoário, em especial aquelas de maior patogenicidade. Com isso, a diversidade de vacinas vivas atenuadas e não atenuadas disponíveis comercialmente aumentou substancialmente nos últimos anos, surgindo a necessidade de pesquisas que avaliem os resultados da estratégia vacinal quanto à eficácia e ao desempenho das aves. Neste contexto, este estudo teve por objetivo avaliar a eficácia de vacina atenuada por precocidade contra coccidiose em frangos de corte, após administração via pulverização realizada em incubatório no primeiro dia das aves, por meio de análises de quantificação e caracterização da presença de oocistos por grama de fezes, desempenho zootécnico e mortalidade das aves. Para tal, 207 mil pintos de corte linhagem Cobb de 1 dia de idade foram divididos aleatoriamente em três tratamentos com três ciclos de criação consecutivos cada utilizando a mesma cama, totalizando nove grupos (n= 23000), alojados em 3 galpões com 3 repetições cada totalmente separados, constituindo os seguintes tratamentos: Anticoccidiano; Vacina atenuada; Vacina atenuada por precocidade. As avaliações do ganho de peso e da análise de oocistos presentes nas fezes foram realizadas 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a aplicação das vacinas no incubatório via pulverização e diariamente foi contabilizada a mortalidade das aves. Os resultados revelaram diminuição significativa nas contagens de OoPG das aves do tratamento com vacina atenuada por precocidade nos três ciclos avaliados quando comparados aos animais tratados com anticoccidianos e vacina atenuada. O uso de vacina atenuada por precocidade

resultou em aumento no ganho de peso e na diminuição da mortalidade dos frangos de corte nos três ciclos de produção. No estudo de PCR dos oocistos, o tratamento com vacina atenuada por precocidade foi o único a apresentar diminuição de todas as espécies de *Eimeria* (*E. acervulina*, *E. maxima*, *E. praecox*, *E. tenella* e *E. mitis*) no decorrer dos três ciclos analisados. Contudo, os resultados positivos obtidos com a vacina atenuada por precocidade comprovam a melhora no desempenho e imunidade das aves demonstrando a eficácia e segurança desta estratégia vacinal quando administrada via pulverização, utilizando gotas grossas já no incubatório durante o primeiro dia de vida de frangos de corte.

**Palavras-chave:** avicultura industrial de corte, coccidia, protozoários parasitas, imunidade.

# “PONDERAL EVALUATION OF BROILERS SUBMITTED TO DIFFERENT PROTOCOLS OF PROPHYLAXIS AGAINST COCCIDIOSIS”

## ABSTRACT

Avian coccidiosis, caused by the intracellular parasite *Eimeria*, is a persistent problem in poultry. Immunity is species-specific and depends on exposure to different strains of the protozoan, especially those with higher pathogenicity. The common pathogenic species *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. praecox*, *E. tenella* and *E. mitis* cause intestinal lesions in the host, which can result in reduced weight gain of birds, increased feed conversion, mortality and consequently, serious losses to the poultry industry. Control of coccidiosis can be accomplished by the application of vaccines containing live strains of the protozoan or by natural exposure to the parasite controlled with anticoccidial drugs. The emergence of drug resistant strains associated to the development of new methodologies that allowed vaccination in the hatchery itself, increased the demand for live vaccines to control coccidiosis in broilers. Thus, the diversity of live attenuated and non-attenuated commercially available vaccines has increased substantially in recent years, paving the way for research comparing the results of these vaccines as well as investigating their possible impacts on the production parameters of broilers. In view of this, the present project intends to demonstrate if early attenuated vaccines may or may not reduce the production of oocysts compared to coccidiosis vaccine for attenuated broiler chickens by counting fresh feces using the McMaster method. The project will also investigate whether early attenuated and attenuated vaccines and impacts on weight gain and mortality rate over 7, 14, 21, 28 and 35 days after application in the hatchery via spray.

**Key words:** poultry industry, broiler chicken, avian coccidiosis, *Eimeria* spp., vaccines.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Escores de lesão no intestino de frangos infectados com Eimeria máxima . .....	18
Figura 2. Ciclo da coccidia. ....	20
Figura 3. Tratamentos e repetições realizadas no presente experimento.....	27
Figura 4. Curvas de OoPG x10 <sup>3</sup> dos tratamentos realizados apresentados de acordo com a idade (7, 14, 21, 28, 35 dias de vida) em cada ciclo (repetição).....	
<b>....Erro! Indicador não definido.</b>	
Figura 5. Curvas de peso corporal de acordo com o tratamento Vacina atenuada por precocidade, Vacina atenuada, e Anticoccidiano nos três diferentes ciclos.....	33
Figura 6. Relação entre Peso corporal e OoPG x 10 <sup>3</sup> nas idades de 7, 14, 21, 28 e 35 dias de acordo com o ciclo .....	35
Figura 7. Curva de mortalidade acumulada (%) de acordo com a idade do lote (dias de vida) analisado os ciclos separadamente.....	37
Figura 8. Relação entre Mortalidade acumulada semanal (%) e OoPG x 10 <sup>3</sup> nos diferentes ciclos e períodos de idade .....	41
Figura 9. Relação entre Mortalidade acumulada (%) e OoPG x 10 <sup>3</sup> nos diferentes ciclos e períodos de idade.....	40
Figura 10. E. acervulina: comparação da evolução de escore nos ciclos, separado por tratamento .....	42
Figura 11. E. maxima: comparação da evolução de escore nos ciclos, separado por tratamento .....	43
Figura 12. E. tenella: comparação da evolução de escore nos ciclos, separado por tratamento .....	43
Figura 13. E. praecox: comparação da evolução de escore nos ciclos, separado por tratamento .....	44
Figura 14. E. mitis: comparação da evolução de escore nos ciclos, separado por tratamento .....	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso semanal dos frangos dos tratamentos Anticoccidiano, Vacina atenuada, e Vacina atenuada por precocidade nas idades 7, 14, 21, 28 e 35 dias nas três repetições.....	32
Tabela 2. Média de peso semanal entre o peso obtido nas três repetições realizadas nos tratamentos Anticoccidiano, Vacina atenuada e Vacina atenuada por precocidade nas idades 7, 14, 21, 28, 35 dias.....	33
Tabela 3. Média do ganho de peso semanal entre o ganho de peso obtido nas três repetições realizadas nos tratamentos Anticoccidiano, Vacina atenuada e Vacina atenuada por precocidade nos intervalos de idades de 0-7 dias, 8-14 dias, 15-21 dias, 22- 28 dias, 29-35 dias. ....	34
Tabela 4. Mortalidade Acumulada (%) nas idades de 7, 14, 21, 28 e 35 dias de acordo com o tratamento realizado e ciclo.....	36
Tabela 5. Mortalidade acumulada média (%) entre os três ciclos realizados nos tratamentos Anticoccidiano, Vacina atenuada, e Vacina atenuada por precocidade 40	

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO .....	51
ANEXO 2. ORÇAMENTO.....	52

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	17
1.1.	Relevância do tema.....	17
2.	REVISÃO DE LITERATURA .....	19
2.1.	Coccidiose aviária.....	19
2.2.	Resposta imune à infecção por Eimeria sp.a.....	21
2.3.	Avaliação da excreção de oocistos nas fezes .....	21
2.4.	Ferramentas de controle da coccidiose .....	22
2.4.1.	Anticoccidianos .....	22
2.4.2.	Vacinas de coccidiose .....	23
2.4.3.	Via de administração da vacina de coccidiose .....	25
3.	OBJETIVOS .....	26
3.1.	Objetivo geral .....	26
3.2.	Objetivos Específicos.....	26
4.	MATERIAIS E MÉTODOS .....	26
4.1.	Delineamento experimental .....	26
4.2.	Fornecimento de água, ração e programa de luz .....	28
4.3.	Administração dos tratamentos .....	28
4.4.	Coleta de amostras de fezes .....	28
4.5.	Avaliação da contagem de Oocistos por gramas de fezes (OoPG) e cálculo da média.....	28
4.6.	Morfometria dos oocistos e Identificação das espécies .....	29
4.7.	Estudo de proporção e quantidade entre espécies de Eimerias .....	29
4.8.	Coleta de dados de índices zootécnicos .....	29
4.9.	Análise estatística dos dados .....	29
5.	RESULTADOS .....	30
5.1.	Avaliação da contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG).....	30
5.2.	Peso corporal e Ganho de peso médio semanal .....	31
5.3.	Análise da relação peso médio semanal e ganho de peso médio semanal com OoPG.....	34
5.4.	Mortalidade .....	35
5.5.	Estudo de proporção e quantidade entre espécies de eimerias.....	40
6.	DISCUSSÃO .....	45
7.	CONCLUSÕES.....	47

8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	48
9.	ANEXOS .....	51



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Relevância do tema

A coccidiose é considerada a principal doença parasitária de aves de produção, causada pelo subfilo apicomplexa de protozoários do gênero *Eimeria* (Dalloul & Lillehoj, 2006). Estudos avaliaram os prejuízos causados pela coccidiose para a indústria avícola global, estimando valores da ordem de 3 a 4 bilhões de dólares por ano em decorrência da queda dos índices produtivos, da taxa de mortalidade e dos gastos com a prevenção e com o tratamento das aves doentes (Williams, 1999; Shirley et al., 2004). Este fato se torna ainda mais preocupante quando aplicado em âmbito nacional, visto que o Brasil é o segundo maior produtor e o maior exportador de carne de frango do mundo. Apenas em 2017, a exportação de carne de frango gerou uma receita de 6,848 bilhões de dólares, enquanto a exportação de ovos garantiu adicionais 14,101 milhões de dólares (ABPA, 2018), valores que evidenciam a importância da avicultura industrial na economia brasileira. Desta forma, quedas na produtividade da carne de frango brasileira impactam diretamente o Produto Interno Bruto (PIB) do país, fazendo-se imprescindível a adoção de métodos eficazes e alternativos para a prevenção das coccidioses aviárias.

O uso de medicamentos, sozinhos ou em combinação, provou ser por um bom tempo uma alternativa eficaz na luta contra a coccidiose em frangos de corte, no entanto, o uso indiscriminado destes diferentes princípios ativos com atividade anticoccidiana resultou no surgimento de cepas multirresistentes, evidenciando a necessidade de investigar métodos alternativos à quimioprofilaxia (Quiroz-Castañeda & Dantán-González, 2015). Além disso, mercados consumidores da carne de frango brasileira, em especial os países da União Europeia, estão exigindo a retirada dos anticoccidicos como aditivos na ração animal (União Europeia, 2003). As vacinas vivas, por vários anos utilizadas principalmente em aves de vida longa (poedeiras e reprodutores), representam uma alternativa prática e fundamental para o controle de coccidioses em frangos de corte (Chapman et al., 2001; Dalloul e Lillehoj, 2006; Martins et al., 2012).

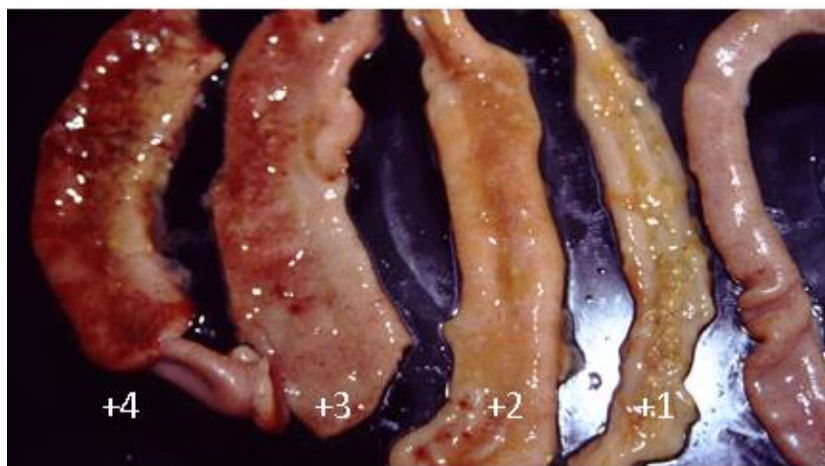
O desenvolvimento de novos métodos de aplicação, em especial aqueles que permitem a vacinação no próprio incubatório, associado ao aumento das opções de vacinas disponíveis comercialmente elevou a aplicabilidade e a procura deste procedimento para frangos nos últimos anos (Chapman et al., 2001; Williams, 2002). Desta forma, pesquisas que investiguem possíveis impactos destas vacinas nos índices zootécnicos dos frangos e comparem sua eficácia frente as outras estratégias de controle da coccidiose, constituem-se pontos fundamentais para o estabelecimento de protocolos eficazes e seguros para frangos de corte.

Partindo da importância da coccidiose em frangos de corte e da necessidade de desenvolvimento de novas estratégias de controle desta enfermidade no campo, este estudo teve por objetivo avaliar a eficácia de vacina atenuada por precocidade contra coccidiose em frangos de corte, após administração via pulverização realizada em incubatório no primeiro dia das aves, por meio da determinação de oocistos por grama de fezes, desempenho zootécnico e mortalidade das aves.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Coccidiose aviária

A coccidiose em aves de produção é causada por parasitas de uma ou mais espécies do gênero *Eimeria*, protozoário dentro da família taxonômica Eimeriidae e filo Apicomplexa (Chapman H. D.,2014) . Sete espécies foram relatadas infectando galinhas: *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*, *E. brunetti*, *E. necatrix*, *E. mitis* e *E. praecox* (Vermeulenc *et al.*, 2001). É importante ressaltar que cada uma apresenta características próprias em relação à prevalência, local de infecção, patogenicidade e imunogenicidade (Rose e Long, 1980). Todas as espécies, no entanto, parasitam as células epiteliais do revestimento intestinal causando a destruição local da barreira da mucosa e tecido subjacente (geralmente associado a algum grau de inflamação resultando em lesões endoteliais – **Erro! Fonte de referência não encontrada.**), que podem provocar inflamação, diminuição da capacidade de absorção e digestão de alimento, perda celular e conseqüentemente, redução dos resultados zootécnicos como aumento da conversão alimentar, redução de crescimento, em casos severos, alta mortalidade e também é importante destacar os altos custos envolvidos no tratamento e prevenção (Vermeulen *et al.*, 2001; McDougald e Fitz-Coy, 2013).



**Figura 1.** Escores de lesão no intestino de frangos infectados com *Eimeria máxima* (Benton, 2018 – modificado).

As infecções por *Eimeria*, causam uma modificação nas estruturas das vilosidades intestinais provocando o encurtamento na altura das mesmas, diminuindo a capacidade de absorção. Muitas vezes ocorre a destruição das células epiteliais do intestino, impedindo a renovação das vilosidades levando a perda de fluidos, hemorragia e susceptibilidade a outras doenças (KAWAZOE, 2009).

No Brasil, o primeiro caso de coccidiose em frangos foi relatado por Nóbrega em 1936 no Estado de São Paulo, onde a *E. acervulina*, *E. maxima*, e *E. tenella* estiveram entre as espécies relatadas (REIS & NOBREGA, 1936).

As espécies do gênero *Eimeria* completam o ciclo de vida de forma endógena (dentro do hospedeiro) com reproduções assexuadas (merogonia) e sexuadas (gamogonia) nas células da mucosa intestinal que compreendem a fase a e possui uma forma exógena no meio ambiente onde oocistos imaturos passam por divisões meióticas e mitóticas (esporogonia) (Figura 2).



**Figura 2.** Ciclo da coccidia. Fonte: Fabiano Fabri, 2020

A gravidade da infecção depende de alguns fatores tais como, da quantidade de oocistos ingeridos, do grau de virulência das cepas e da suscetibilidade do hospedeiro. Por isso, há necessidade de um bom manejo, reduzindo assim a exposição aos oocistos infectantes (KAWAZOE, 2009).

## **2.2. Resposta imune a infecção por coccidia**

A imunidade é espécie-específica e para desenvolvê-la a ave precisa entrar em contato com o parasita, que pode ser proporcionado através da aplicação de vacinas com oocistos vivos (Mathis *et al.*, 2017). No combate a coccidiose a imunidade mediada por células é mais importante que a humoral (Kim *et al.*, 2019). Quando os frangos são expostos a reduzidas quantidades do parasita, a imunidade é induzida após duas a três infecções consecutivas, portanto todas as vacinas disponíveis comercialmente baseiam-se neste princípio de sucessivas aplicações (Joyner & Norton, 1973; Long *et al.*, 1986). Beach e Corl (1925) reportaram pela primeira vez que galos infectados com coccídios vivos tornaram-se resistentes a novas infecções com a mesma espécie do parasita, abrindo caminho para o desenvolvimento da primeira vacina com coccídeos vivos (Coccivac®). As vacinas disponíveis comercialmente podem ser constituídas de cepas de *Eimeria virulentas* ou atenuadas.

## **2.3. Avaliação da excreção de oocistos nas fezes**

A avaliação da excreção de oocistos pode ser realizada observando a presença nas fezes as quais devem ser coletadas de forma representativa em diferentes pontos da cama no galpão, e para melhor qualidade dos oocistos é preferível que sejam coletadas amostras de fezes frescas. As técnicas de contagem de oocistos comumente utilizadas são o método de contagem em câmara de McMaster (Hodgson, 1970; Long & Rowell, 1958; Long *et al.*, 1976; Conway D.P. & McKenzie M.E., 2007) que geralmente se utiliza em procedimentos onde se busca determinar apenas a contagem, já que a porcentagem de esporulação e as dimensões do oocisto não são informações

relevantes para este tipo de informação. Outra forma de contagem seria com auxílio de um hemocitômetro (câmara de Neubauer), a diferença é que com o hemocitômetro é possível diferenciar oocistos esporulados e realizar mensurações mais acuradas no momento da contagem, porém se esta informação não é necessária a contagem em câmara de McMaster é o suficiente (Conway D.P. & Mckenzie M.E., 2007).

## **2.4. Ferramentas de controle da coccidiose**

Ferramentas de controle da coccidiose são utilizadas buscando a redução da pressão de infecção, visto que procedimentos convencionais de limpeza e desinfecção de galpões, apesar de serem de suma importância a sua realização, alguns oocistos infectantes sobrevivem ao processo e permanecem no ambiente, podendo proliferar no lote de aves alojados na sequência e causar prejuízos decorrentes da infecção por coccidiose. Por esta razão é necessário que se utilize ferramentas para controle da coccidiose, sendo as mais utilizadas as drogas anticoccidianas, e as vacinas. A tendência de mercado é que sejam cada vez mais utilizadas vacinas e outras fermentas de controle alternativos ao uso de anticoccidianos, uma vez que estes trazem algumas dificuldades como o desenvolvimento de resistência aos anticoccidianos (Quiroz-castañeda e Dantán-gonzález, 2015), bem como o avanço das legislações que restringem o uso de medicamentos pra fins profiláticos.

### **2.4.1. Anticoccidianos**

Drogas utilizadas para o controle de coccidiose podem ser agentes coccidicidas ou agentes coccidiostáticos, sendo o primeira droga que matar a coccidia, e o segundo drogas que atuam na replicação e crescimento de populações de coccidias. Os anticoccidianos utilizados na avicultura são químicos (como nicarbazina, robenidina, dinitolmida, halofuginona e diclazuril) e ionóforos (como monensina, narasina, salinomocina, lasalocida, maduramicina e semduramicina), podendo ser usados combinados ou isoladamente.

Os ionóforos provocam o desequilíbrio osmótico das Eimerias, com maior perda de energia na bomba de Na-K, ocorrendo sua vacuolização. Atuam

geralmente na fase inicial de vida das Eimerias podendo ser coccidiostáticos (interrompendo o ciclo do parasita sem destruí-lo) e/ou coccidicidas (matando os parasitas). Os compostos químicos atuam em diferentes pontos do metabolismo das Eimerias em distintas fases do ciclo de vida das Eimerias podendo ser coccidiostáticos e/ou coccidicidas (Schmidt, 2016)

O uso de agentes anticoccidianos no controle da coccidiose em frangos de corte é uma medida preventiva muito utilizada na produção, porém o êxito do produto dependerá do período de utilização da droga, das recomendações de uso, bem como qual a dosagem e em que época do ano utilizar, da interação sinérgica ou antagônica com outros medicamentos, do desafio existente na granja e da resistência dos parasitas ao princípio ativo (Andrade, 2004).

O uso indiscriminado de anticoccídicos tem resultado na seleção de cepas resistentes a drogas, as quais reduzem a eficácia de vários anticoccidianos em uso (Chapman, 2014), e por outro lado, o uso de alguns anticoccidianos também trazem limitações com prejuízo em ganho de peso, conversão alimentar, consumo de ração e água, e incremento em mortalidade (Keshavarz e McDougald, 1981; Bartov, 1989; Donzele et al., 2001)

## **2.4.2. Vacinas de coccidiose**

### **2.4.2.1. Vacinas de coccidiose com cepas virulentas ou não atenuadas**

As vacinas virulentas ou não atenuadas contêm cepas de *Eimeria* que não foram submetidas a nenhuma modificação laboratorial. Estas foram as primeiras vacinas que surgiram sendo o conceito de vacinação utilizando oocistos vivos introduzido por Johnson (1927), e foi Edgar (1956) quem tornou a vacina para uso comercial (veja em Chapman H.D., 2014). Para uso em frangos de corte industriais o número de estirpes incluídas neste produto é restrito a no máximo quatro espécies de *Eimeria* (Vermeulen *et al.*, 2001). Algumas destas vacinas, no entanto, podem não conter um número de espécies patogênicas suficientes para induzir a imunidade protetiva duradoura (Dalloul e Lillehoj, 2006). Além disso, foi relatado que vacinas baseadas em oocistos virulentos causaram queda no ganho de peso dos frangos, os quais não conseguiram recuperar o peso desejado até o abate (Williams, 2002).

#### 2.4.2.2. Vacina de coccidiose atenuada e atenuada por precocidade

As vacinas atenuadas contêm parasitas cuja virulência foi artificialmente reduzida, ou por sucessivas passagens em ovos embrionados ou através da seleção de cepas precoces (Dalloul e Lillehoj, 2006; Jeffers, 1975; Long, 1972). O processo de atenuação é favorável pois se reduz o potencial proliferativo das *Eimerias* (menor período pré patente), de modo que ocorre menor dano na parede intestinal conforme as passagens pelo intestino durante o ciclo reprodutivo das *Eimerias*.

As vacinas vivas atenuadas baseadas na precocidade do parasita possuem cepas selecionadas sensíveis a drogas anticoccidianas com um ou mais estágios secundários a menos de esquizogonia em comparação com o ciclo de vida normal da estirpe progenitora da *Eimeria* (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), o que resulta num período pré-patente encurtado e uma significativa redução da produção de oocistos (Mathis *et al.*, 2017; Shirley, M. W., 1989), o que torna a vacina mais segura uma vez que sua patogenicidade é reduzida.

O desenvolvimento de cepas ou estirpes precoces de *Eimeria* isoladas através da seleção serial dos primeiros oocistos lançados por aves infectadas foi descrita por Jeffers *et al.* (1975) e Long e Johnson (1988). Segundo os autores, quanto mais precoce um isolado menor será a lesão por escora induzida no intestino dos frangos de corte, ainda Shirley M. W. (1989) avaliou o uso de vacina com cepas de coccidiose atenuada por precocidade e observou que cepas possuem menor potencial reprodutivo com ciclo reprodutivo mais curto, porém com manutenção do potencial imunogênico.

É importante ressaltar que para as vacinas vivas estimularem o sistema imune celular das aves, os esporozoítos do parasita presente na vacina precisam necessariamente invadir as células intestinais do hospedeiro e realizar seu ciclo celular normal, portanto o uso de qualquer medicamento coccidiostáticos deve ser interrompido para o sucesso da vacinação (Martins *et al.*, 2012). Compreender que a imunização é estimulada pelo desenvolvimento dos estágios iniciais do parasita *Eimeria*, particularmente esquizontes, e subsequentemente



estimulado e mantido por múltiplas reexposições aos oocistos presentes na cama é de suma importância para que o manejo correto seja realizado na granja de modo a permitir esta reciclagem da infecção após administração de oocistos vacinais, que é essencial para o desenvolvimento de imunidade.

De acordo com Dalton e Mulcahy, até 2001 existiam apenas quatro vacinas disponíveis no mercado, sendo duas delas vivas atenuadas (Paracox® e Livacox®) e outras duas contendo cepas virulentas (Coccivac® e Immunocox®). Segundo Dalloul e Lillehoj (2006), nos últimos anos diversas vacinas vivas de diferentes empresas foram desenvolvidas e comercializadas e esse número vem aumentando substancialmente.

#### **2.4.3. Via de administração da vacina de coccidiose**

Por muito tempo se utilizou a vacinação por via água de bebida, entretanto atualmente está via de administração da vacina de coccidiose tem caído em desuso, uma vez que a solução vacinal em repouso resulta precipitação dos oocistos, o que tem resultado em desuniformidade no consumo da vacina, e conseqüentemente na deficiência na imunização das aves.

Outras vias preconizadas são as vias ocular e via spray, sendo a via spray a mais prática, uma vez que não demanda a manipulação individual das aves, e já é uma via adaptada para realização em incubatórios. O spray é realizado em gotas grossas para que ocorra a ingestão da gotícula de solução vacinal pelos pintinhos já no primeiro dia de vida, o que resulta em infecção precoce em baixos níveis, de modo que após alojado as aves na granja, a partir do momento que se inicia a excreção de oocistos pelas fezes, em condições ambientais ideais, ocorre a esporulação do oocisto na cama, e subseqüentemente a ingestão destes oocistos esporulados pelas aves ocorrendo desta forma as reexposições a *Eimeria* vacinal e indução de imunidade sólida contra desafios de coccidiose a campo (Chapman *et al.*, 2001; Williams, 2002; Vermeulen A. N. et al., 2001). Portanto, é importante compreender que para as aves desenvolverem imunidade completa à coccidiose estas devem ser infectadas com baixos números do parasita *Eimeria*, por duas a três infecções consecutivas (Joyner e Norton, 1973) demonstrando a necessidade de uma correta vacinação, seguido de correto

manejo na granja que garanta a ingestão de oocistos vacinais esporulados presentes na cama.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar a eficácia de vacina atenuada por precocidade contra coccidiose em frangos de corte no município de Mococa- SP.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- I. Analisar e comparar a precocidade das cepas de *Eimeria* das vacinas atenuada, e atenuada por precocidade através do ensaio de OoPG (oocistos por gramas de fezes);
- II. Investigar os resultados destas vacinas nos índices zootécnicos (mortalidade e peso médio semanal) dos frangos de corte até os 35 dias de idade.
- III. Mensurar o impacto da substituição da cepa ambiental pelas cepas das respectivas vacinas de acordo com a repetição (1° ao 3° ciclo) sobre o OoPG e índices zootécnicos.

### **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **4.1. Delineamento experimental**

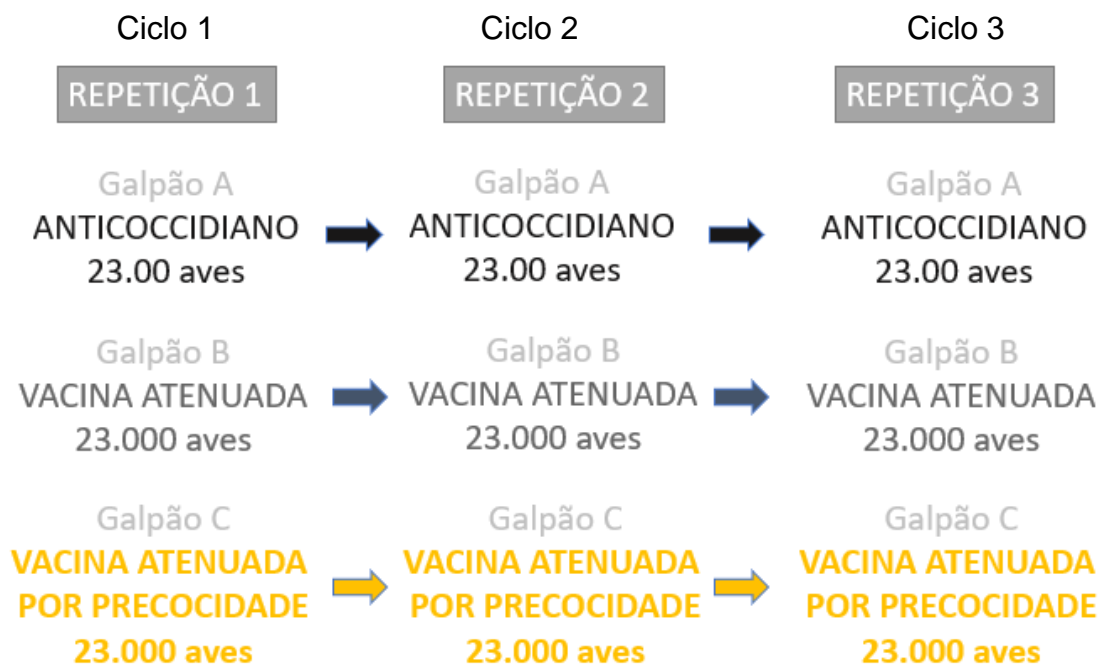
Um total de 207 mil pintos de corte linhagem Cobb de 1 dia de idade provenientes de matrizes saudáveis foram alojados na Fazenda São José localizada no município de Mococa estado de São Paulo.

Os pintinhos foram divididos em três tratamentos de 23000 pintos cada repetição, alojados em galpões totalmente separados de acordo com o tratamento respectivo a fim de evitar a contaminação cruzada entre os tratamentos. Foram realizados 3 ciclos consecutivos no mesmo galpão por tratamento. Na primeira repetição foi colocado material de forração de cama (maravalha) nova e nas duas repetições seguintes foram reaproveitadas a

mesma cama após realizado tratamento de fermentação preconizado pela empresa, conforme demonstrado na Figura 3.

Os tratamentos foram denominados da seguinte forma: Anticoccidiano via ração; Vacina atenuada e vacina atenuada por precocidade por via pulverização no incubatório no 1º dia de vida da ave. Foram utilizados no tratamento do alojamento 1º até 21º dias de vida os anticoccidianos Nicarbazina 40 ppm e Semduramicina 18 ppm e a partir do 22º dia até o abate utilizou 66 ppm Salinomocina via ração; no tratamento Vacina atenuada foi utilizada vacina comercial atenuada e no tratamento Vacina atenuada por precocidade foi utilizado vacina comercial de coccidiose cujas Eimerias foram atenuadas através da seleção por precocidade.

Não houve inoculação de nenhum tipo de Eimeria para simulação do desafio, sendo o desafio a própria realidade de campo onde as aves foram alojadas, buscando simular o desafio real de uma criação de frangos utilizando os tratamentos deste experimento.



**Figura 3.** Tratamentos e repetições realizadas no presente experimento.

Legenda: Galpão A, B e C são os códigos de identificação dos galpões utilizados na granja; Anticoccidiano, Vacina Atenuada, e Vacina atenuada por precocidade são os tratamentos realizados; 23.000 aves é a quantidade de aves utilizadas em cada repetição.

#### **4.2. Fornecimento de água, ração e programa de luz**

O fornecimento de água foi realizado através de bebedouros do tipo nipple (*ad libitum*), e o arraçoamento foi fornecido em sistema automático (*ad libitum*), sendo a forma de arraçoamento e formulação das rações utilizadas definidas pela empresa. Cada galpão possuía seu próprio silo para armazenamento da ração. O programa de luz utilizado foi em bloco conforme recomendado pela linhagem.

#### **4.3. Administração dos tratamentos**

Para o tratamento anticoccidiano foi realizada mistura dos anticoccidianos na fábrica de ração da empresa em quantidades conforme descrito no item **Erro! Fonte de referência não encontrada.**

Para os tratamentos Vacina atenuada e Vacina atenuada por precocidade os pintinhos receberam a vacina conforme recomendado pela bula do laboratório de cada produto.

#### **4.4. Coleta de amostras de fezes**

Em todas as repetições de todos os tratamentos foram coletadas amostras fecais via coleta manual de fezes frescas, com luvas limpas usadas entre cada amostra nas idades de 7, 14, 21, 28, e 35 dias de vida das aves. As amostras de fezes foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis, lacrados e mantidos refrigerados na temperatura de 2 a 8°C até o processamento da amostra.

#### **4.5. Avaliação da contagem de Oocistos por gramas de fezes (OPG) e cálculo da média**

A contagem de oocistos por grama de fezes (OPG), foi realizada conforme técnica descrita por Conway & MacKenzie (2007). A média aritmética da contagem de oocistos em câmara McMaster foi calculada a partir do número de oocistos contados em cada um dos 10 pools de excretas colhidas e processadas, em que o conjunto de pool representa uma idade e uma propriedade diferente.

#### **4.6. Morfometria dos oocistos e Identificação das espécies**

A micrometria dos oocistos foi realizada segundo técnica descrita por Long & Reid- (1982), utilizando Câmara McMaster. Foi feita a micrometria de 100 oocistos esporulados, provenientes de uma mistura das amostras positivas previamente analisadas. Com o intuito de auxiliar na identificação das espécies e sua prevalência, utilizou-se o sistema óptico LEICA e computador acoplado ao microscópio por uma câmera. Para auxiliar na identificação das espécies de coccídeos foram utilizadas características métricas e morfológicas dos oocistos descritas por (Conway & MacKenzie, 2007).

#### **4.7. Estudo de proporção e quantidade entre espécies de Eimerias**

Foi realizado análise molecular (PCR) para identificação das espécies de *Eimeria* presentes na amostra conforme técnica descrita por Carvalho et al. (2011), e comparado a quantidade de oocistos de cada espécie detectado na avaliação do OoPG. De acordo com a quantidade de oocistos contabilizados podendo ser classificado sua presença em escore 0 (ausente), 1 (pouca quantidade), 2 (média quantidade), 3 (alta quantidade).

#### **4.8. Coleta de dados de índices zootécnicos**

O peso corporal das aves foi monitorado com um intervalo de 7 dias entre as pesagens iniciando aos 7 dias de idade até 35 dias após a vacinação, sendo pesado uma amostra de 5% do total de aves presentes no galpão e calculado a média aritmética dos pesos obtidos por tratamento. A mortalidade foi monitorada diariamente em todos os tratamentos.

#### **4.9. Análise estatística dos dados**

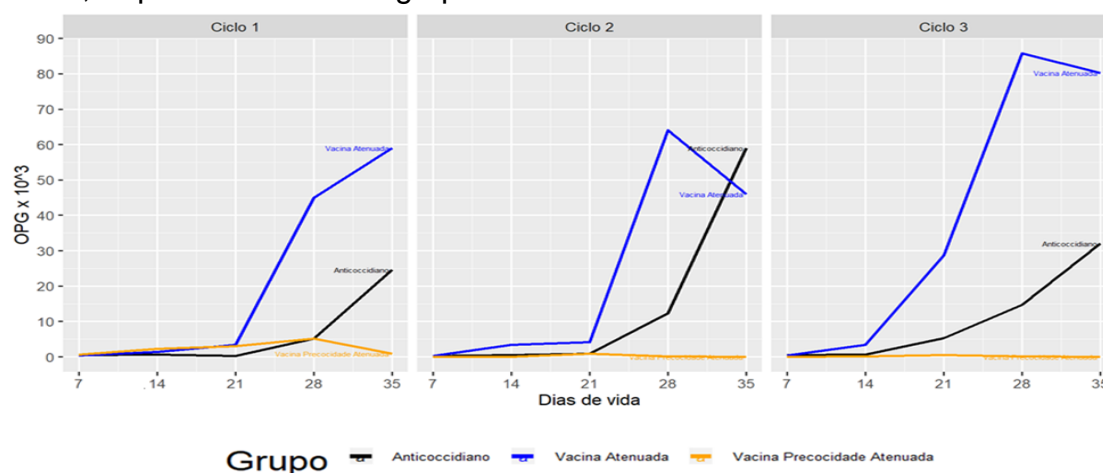
A unidade experimental foi o lote. Os p-valores foram calculados usando teste T, com 5% de probabilidade. Os valores médios de OoPG, mortalidade e

peso foram calculados em cada grupo e comparados por análise de variância – ANOVA. A média dos escores de lesões nas porções intestinais foram comparadas usando o teste t de Student para amostras independentes, em nível de significância de 5%. O software utilizado para a análise foi R v.3.6.1 para Windows.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Avaliação da contagem de oocistos por grama de fezes (OoPG)

Nos resultados obtidos na avaliação da contagem de oocistos por grama de fezes (Figura 4) foi possível observar que a contagem do grupo que utilizou Vacina atenuada por precocidade apresentou menor eliminação de oocistos nas fezes o que era o esperado para esta vacina, isso devido a sua menor replicação (menor período de pré patencia). Com 28 dias foi a idade em que ocorreu maior eliminação de oocistos nas fezes nos grupos vacinados, com contagens muito superiores no grupo com vacina atenuada quando comparado ao grupo Vacina atenuada por precocidade, e até mesmo do grupo que recebeu anticoccidianos. Apesar da maior contagem obtida com a vacina atenuada é possível observar que ambos os grupos que receberam vacina houve desenvolvimento de resposta imune contra coccidiose, uma vez que após 28 dias houve queda na curva de OoPG, o que não ocorre no grupo anticoccidiano.



**Figura 4.** Curvas de OoPG x10<sup>3</sup> dos tratamentos realizados apresentados acordo com a idade (7, 14, 21, 28, 35 dias de vida) em cada repetição.

## 5.2. **Peso corporal e Ganho de peso médio semanal**

Comparando o peso corporal semanal entre os tratamentos realizados nos diferentes ciclos (Tabela 1. Peso semanal dos frangos dos tratamentos Anticoccidiano, Vacina atenuada, e Vacina atenuada por precocidade nas idades 7, 14, 21, 28 e 35 dias nas três repetições.

), podemos observar que em todos os ciclos o peso corporal nas idades de 7, 14, 21, 28 e 35 dias foi superior no grupo Vacina atenuada por precocidade. No Ciclo 1, a Vacina Atenuada por precocidade demonstrou maior ganho entre 0 e 14 dias, e entre 28 e 35 dias quando comparado aos demais grupos, e resultou em diferença numérica de peso final de 120g a favor do grupo Vacina Atenuada por precocidade em relação ao Anticoccidiano e de 140g em relação à Vacina Atenuada. No Ciclo 2, No Ciclo 2, observa-se uma diferença importante de ganho de peso do grupo Vacina atenuada por precocidade, sobretudo entre 15 e 21 dias, quando chega a ser quase 100g em relação ao Anticoccidiano e de 120g em relação à Vacina atenuada, e um ganho de peso ainda maior no peso corporal obtido com 35 dias de idade no grupo Vacina atenuada por precocidade, onde há uma diferença de peso final de 220g a favor do grupo Vacina Atenuada por precocidade em relação ao Anticoccidiano e de 160g em relação à Vacina

Atenuada. Por fim, no Ciclo 3, observou-se uma diferença importante de ganho de peso do grupo Vacina atenuada por precocidade, sobretudo entre 15 e 21 dias, quando chega a ser quase 128g em relação ao Anticoccidiano e de 143g em relação à Vacina atenuada há uma melhora numérica ainda maior, favorável ao grupo Vacina atenuada por precocidade com diferença de peso final de 363g a favor do grupo Vacina Atenuada por precocidade em relação ao Anticoccidiano e de 303g em relação à Vacina Atenuada.

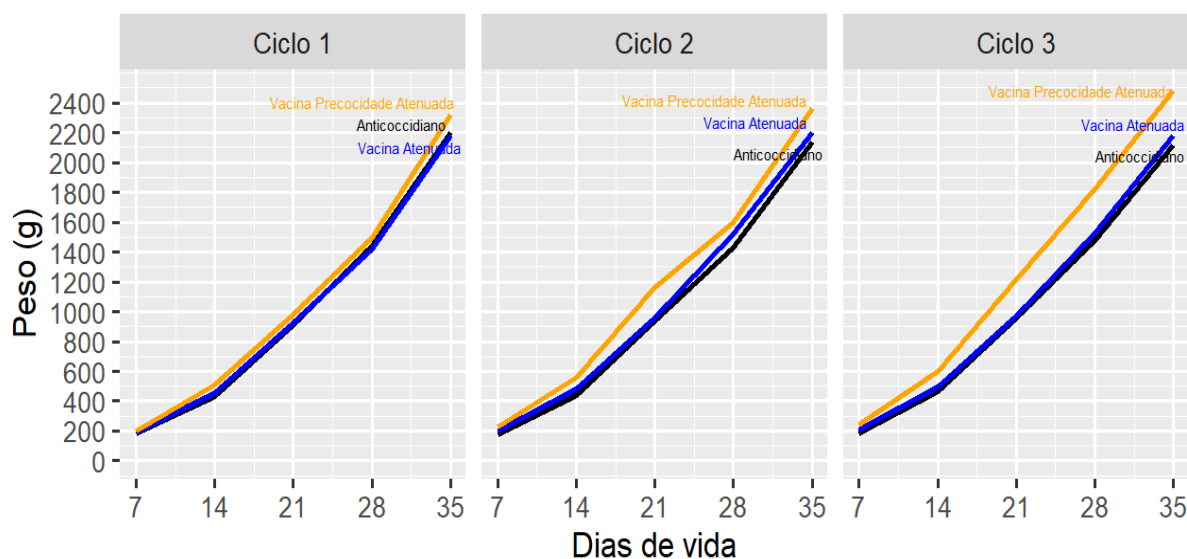
**Tabela 1.** Peso semanal dos frangos dos tratamentos Anticoccidiano, Vacina atenuada, e Vacina atenuada por precocidade nas idades 7, 14, 21, 28 e 35 dias nas três repetições.

PESO SEMANAL (g)					
CICLO 1	7d	14d	21d	28d	35d
Anticoccidiano	187	430	910	1440	2200
Vacina Atenuada	195	450	920	1420	2180
Vacina Atenuada por precocidade	202	510	980	1500	2320
CICLO 2	7d	14d	21d	28d	35d
Anticoccidiano	180	435	940	1430	2140
Vacina Atenuada	200	480	960	1520	2200
Vacina Atenuada por precocidade	226	560	1160	1600	2360
CICLO 3	7d	14d	21d	28d	35d
Anticoccidiano	185	470	960	1480	2120
Vacina Atenuada	205	495	970	1530	2180
Vacina Atenuada por precocidade	239	600	1218	1825	2483

Os ganhos em performance no peso corporal das aves presentes no grupo vacinam atenuada por precocidade pode ser observado na Figura 5, com a vantagem progressiva conforme as repetições 1 a 3 em relação ao grupo Anticoccidiano e vacina atenuada. O desenvolvimento de resistência ao anticoccidianos é provada pela crescente diferença de peso final quando se compara o grupo Vacina Atenuada por precocidade com o grupo Anticoccidiano (120g, 220g, 363g do ciclo 1 ao 3 respectivamente). A importância do grau de atenuação de uma vacina, bem como a precocidade de suas cepas, é demonstrada ao comparar o ganho de performance no decorrer do tratamento



Vacina atenuada por precocidade (2320g, 2360g, 2483g das repetições 1 ao 3 respectivamente) com o peso médio mantido pela vacina atenuada (2180g, 2200g, 2180g da repetição 1 ao 3 respectivamente). No grupo anticoccidiano, não se observa qualquer melhora no peso das aves no decorrer das repetições. Já no grupo Vacina atenuada por precocidade, a melhora constante do peso aos 35 dias é bastante evidente. Fica evidente também que a melhora é devida, sobretudo, ao ganho de peso até 21 dias.



**Figura 5.** Curvas de peso corporal de acordo com o tratamento Vacina atenuada por precocidade, Vacina atenuada, e Anticoccidiano nas três repetições (1, 2 e 3)

Observando o peso corporal médio entre os três ciclos para cada grupo podemos observar que em média, o grupo Vacina Atenuada por precocidade apresentou maior peso (g) sendo estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) com relação ao grupo Anticoccidiano (g) e o grupo Vacina Atenuada (g) nos dias 7, 14, 21 e 35 (

Tabela 2).

**Tabela 2.** Média $\pm$ DP de peso semanal entre o peso obtido nas três repetições realizadas nos tratamentos Anticoccidiano, Vacina atenuada e Vacina atenuada por precocidade nas idades 7, 14, 21, 28, 35 dias

	PESO MEDIO				
	7d	14d	21d	28d	35d
Anticoccidiano	184 <sup>C</sup>	445 <sup>B</sup>	937 <sup>B</sup>	1450	2153 <sup>B</sup>
Vacina Atenuada	200 <sup>B</sup>	475 <sup>B</sup>	950 <sup>B</sup>	1490	2187 <sup>B</sup>
Vacina Atenuada por precocidade	222 <sup>A</sup>	557 <sup>A</sup>	1119 <sup>A</sup>	1642	2388 <sup>A</sup>
<i>P valor</i>	<b>0.018</b>	<b>0.013</b>	<b>0.043</b>	0.134	<b>0.004</b>

Com relação ao ganho de peso médio semanal por grupo o ganho entre 0 e 7 dias e entre 8 e 14 dias foi maior no grupo Vacina Atenuada por precocidade, com diferença estatística ( $p < 0,05$ ) comparado aos outros dois grupos. Entre 0 e 7 dias há uma diferença de 22% em peso em comparação ao grupo Anticoccidiano, e de 11% em comparação à Vacina Atenuada. Entre 8 e 15 dias houve diferença de 28% em peso em comparação ao grupo Anticoccidiano, e de 21% em comparação à Vacina Atenuada (Tabela 3).

**Tabela 3.** Média do ganho de peso semanal entre o ganho de peso obtido nas três repetições realizadas nos tratamentos Anticoccidiano, Vacina atenuada e Vacina atenuada por precocidade nos intervalos de idades de 0-7 dias, 8-14 dias, 15-21 dias, 22- 28 dias, 29-35 dias.

GANHO DE PESO SEMANAL MEDIO					
	0-7d	8-14d	15-21d	22-28d	29-35d
Anticoccidiano	184 <sup>C</sup>	261 <sup>C</sup>	491	513	703
Vacina Atenuada	200 <sup>B</sup>	275 <sup>B</sup>	475	540	697
Vacina Atenuada por precocidade	222 <sup>A</sup>	334 <sup>A</sup>	563	522	746
<i>P valor</i>	<b>0.018</b>	<b>0.015</b>	0.131	0.83	0.643

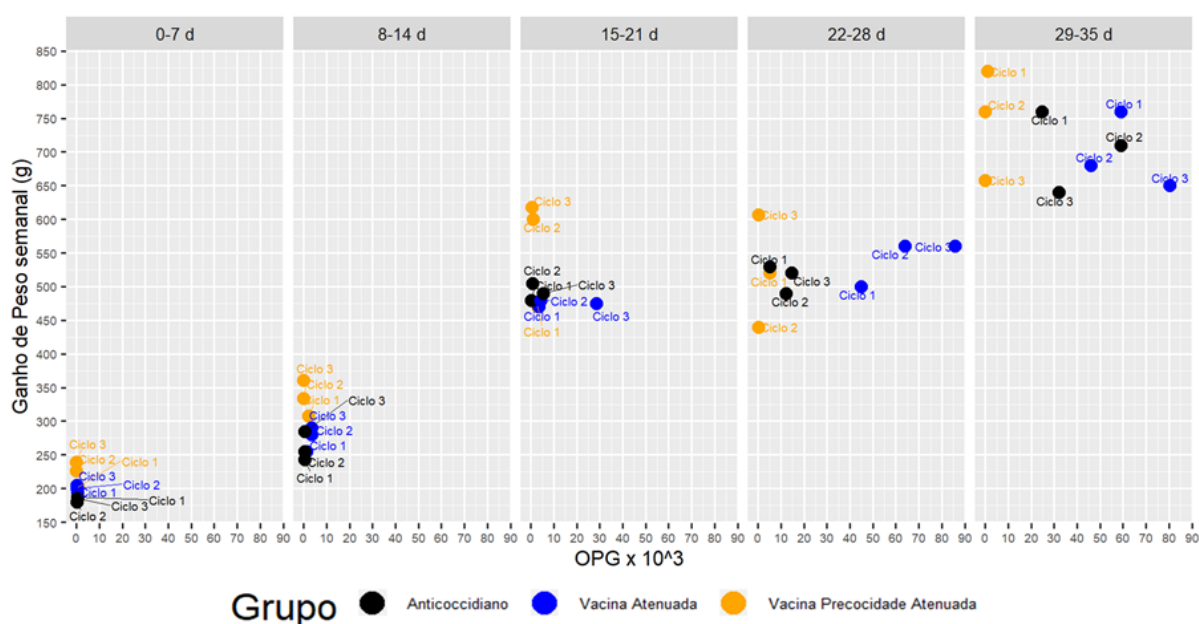
A melhora dos resultados, sobretudo no grupo Vacina atenuada por precocidade nas repetições, confirma a necessidade de no mínimo 3 ciclos de vacinação para uma completa substituição dos oocistos de campo por oocistos atenuados e analisando os ciclos dentro do mesmo grupo, e pode-se observar claramente no grupo Anticoccidiano a constante perda de resultado no período final (28-35 dias), ciclo após ciclo. Uma vez mais, que o desenvolvimento de resistência se traduz em menos eficiência produtiva. O melhor ganho de peso até 21 dias no grupo Vacina atenuada por precocidade, comparado ao Anticoccidiano e à Vacina atenuada, demonstra a importância do grau de atenuação e de precocidade da cepa contida na vacina.

### 5.3. Análise da relação peso médio semanal e ganho de peso médio semanal com OoPG

Nos resultados apresentados na Figura 6, é possível ter a perspectiva temporal da relação entre OoPG e peso corporal. No qual foi obtido com menor

contagem de OoPG o maior ganho de peso corporal do grupo Vacina atenuada por precocidade em relação aos demais tratamentos, entre 14 e 21 dias, apesar de já mostrar sinais de melhor ganho de peso durante as duas semanas iniciais. Também é possível notar a associação entre maior OoPG e menor peso encontrada no grupo vacina atenuada a partir do dia 21 até o dia 35.

Por fim, observa-se que o grupo anticoccidiano apresenta maior OoPG entre os dias 28 e 35, possivelmente associado à menor peso apresentado por este grupo em comparação com a vacina atenuada por precocidade.



**Figura 6.** Relação entre Peso corporal e OoPG x 10<sup>3</sup> nas idades de 7, 14, 21, 28 e 35 dias de acordo com a repetição (1, 2, e 3)

#### 5.4. Mortalidade

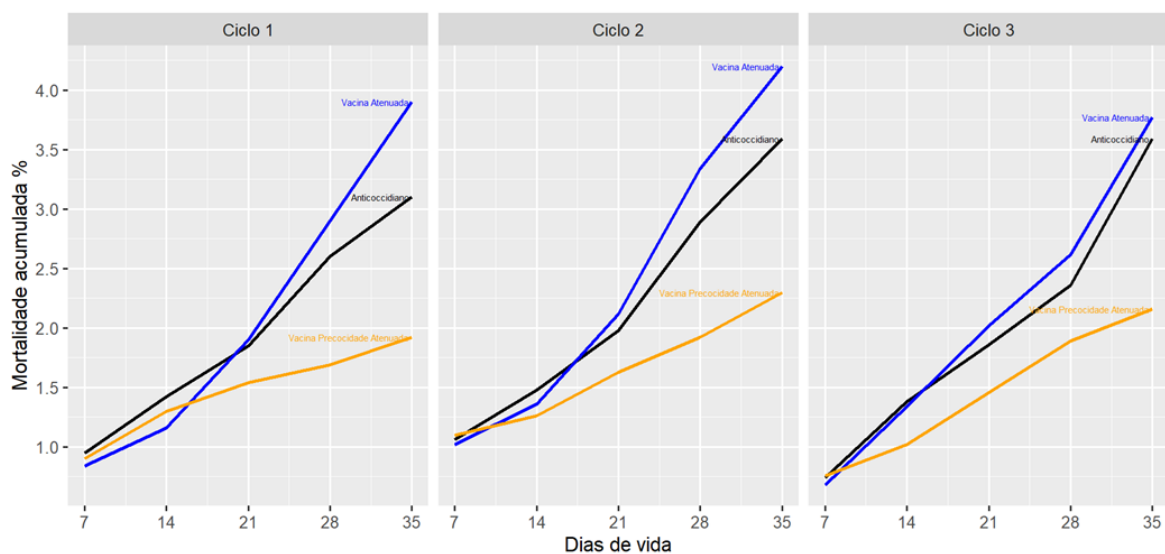
No Ciclo 1, há diferença de mortalidade comparando o grupo Vacina atenuada por precocidade com os demais, principalmente a partir do dia 28, sendo que o grupo Vacina atenuada que apresenta 1,6% mais mortalidade entre 22 e 35 dias comparado ao resultado de mortalidade obtido no grupo Vacina atenuada por precocidade. No Ciclo 2, observa-se o mesmo padrão apresentado pelo ciclo 1, com um aumento de mortalidade em geral. No Ciclo 3, observa-se o mesmo padrão apresentado pelo ciclo 1 e 2, só que com uma diferença maior

em relação ao grupo vacina atenuada por precocidade, chegando a mais de 1,3% no período final (Tabela 4).

**Tabela 4.** Mortalidade Acumulada (%) nas idades de 7, 14, 21, 28 e 35 dias de acordo com o tratamento realizado e repetição.

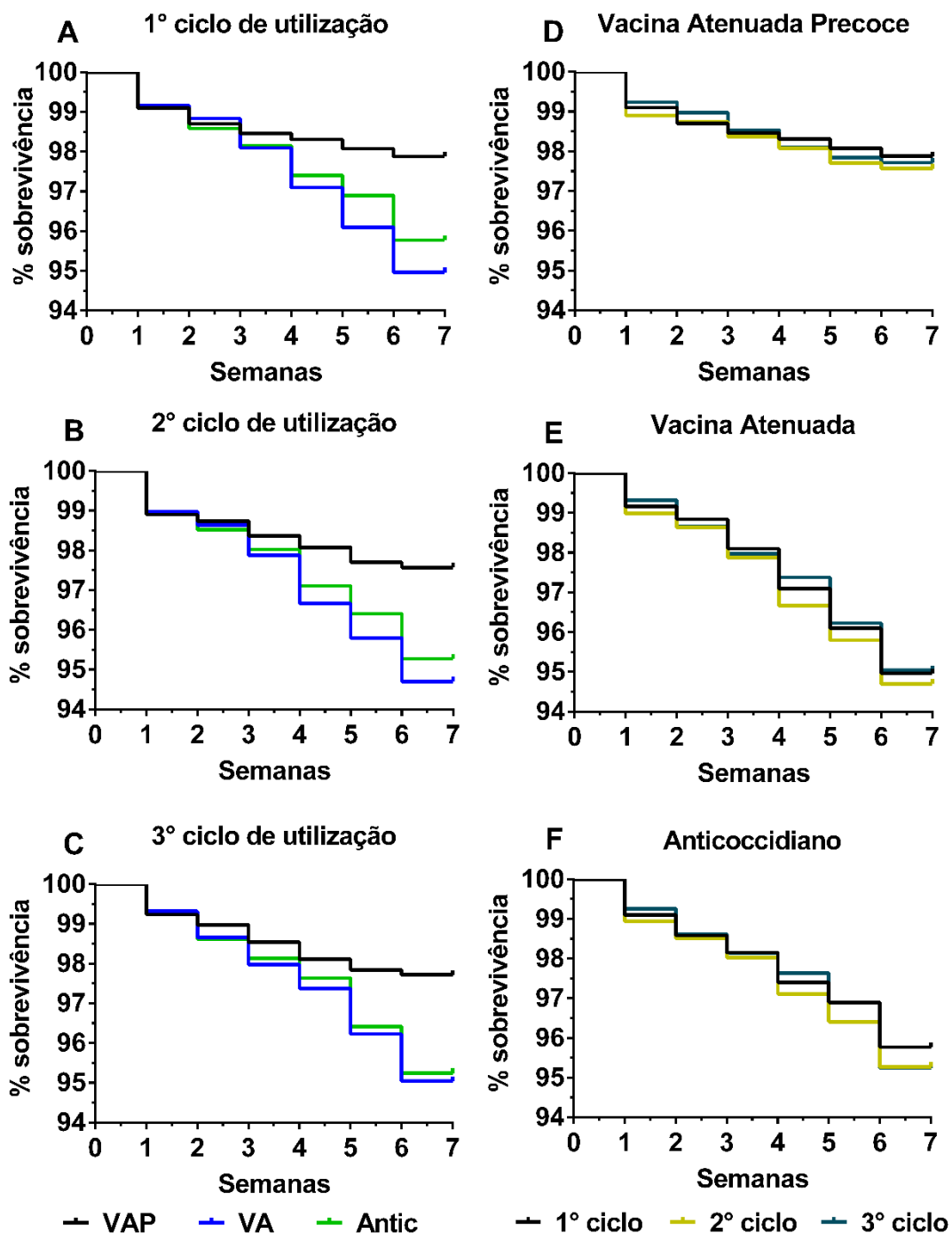
MORTALIDADE ACUMULADA (%)					
CICLO 1	7d	14d	21d	28d	35d
Anticoccidiano	0.95	1.42	1.85	2.60	3.10
Vacina Atenuada	0.84	1.16	1.90	2.90	3.90
Vacina Atenuada por precocidade	0.90	1.30	1.54	1.69	1.92
CICLO 2	7d	14d	21d	28d	35d
Anticoccidiano	1.06	1.48	1.98	2.89	3.59
Vacina Atenuada	1.02	1.36	2.12	3.34	4.20
Vacina Atenuada por precocidade	1.10	1.26	1.63	1.92	2.30
CICLO 3	7d	14d	21d	28d	35d
Anticoccidiano	0.74	1.38	1.86	2.36	3.59
Vacina Atenuada	0.68	1.34	2.02	2.62	3.77
Vacina Atenuada por precocidade	0.76	1.02	1.46	1.89	2.16

Comparando-se os grupos dentro de um mesmo ciclo, observa-se a notável diferença de mortalidade acumulada, sendo mais baixa no grupo Vacina atenuada por precocidade. O grupo Vacina atenuada apresenta maiores taxas de mortalidade acumulada em comparação com os demais grupos, a partir de 21 dias (Figura 7).



**Figura 7.** Curva de mortalidade acumulada (%) de acordo com a idade do lote (dias de vida) analisado nas repetições.

A curva de sobrevivência de Kaplan-Meier é definida como a probabilidade de sobreviver em um período determinado. Existem três suposições usadas nesta análise considerando pequenos intervalos de tempo. i) Animais não tratados têm as mesmas perspectivas de sobrevivência que aqueles tratados. ii) As probabilidades de sobrevivência são as mesmas para animais utilizados no início e no final do experimento. iii) O evento (morte) não ocorre na hora especificada, essa causalidade pode criar problemas em algumas condições experimentais, dessa forma, compreendemos que o evento aconteceu entre dois exames (Bland e Altman, 1998; Goel et al., 2010). O teste de Long-rank infere a diferença entre os tempos de sobrevivência de dois ou mais grupos, porém não permite testar o efeito de outras variáveis independentes. No entanto, o modelo de risco de Gehan-Breslow-Wilcoxon (Cox) nos permite avaliar o efeito de outras variáveis independentes do tempo na sobrevivência de diferentes grupos (Goel et al., 2010). Os mesmos autores ainda ressaltam que a sobrevivência pode ser calculada com mais precisão realizando o acompanhamento dos grupos em intervalos de tempo curtos.



**Figura 8:** Gráficos Kaplan-Meier de sobrevivência de lotes de frangos vacinados e medicados para coccídeos expostos a camas utilizadas uma, duas ou três vezes avaliados por 7 semanas. VAP (Vacina coccidiose atenuada por precocidade); VA (Vacina coccidiose atenuada); Antic (Anticoccidiano). 1° ciclo (primeiro ciclo de utilização da cama no aviário); 2° ciclo (segundo ciclo de

utilização da cama no aviário); 3° ciclo (terceiro ciclo de utilização da cama no aviário).

Os frangos que receberam VAP apresentaram tempo de sobrevivência superior nos três ciclos de criação em relação aos grupos VA e Antic ( $p < 0,0001$ ) no teste de Long-rank (Fig 8A; 8B; 8C). Nos ciclos um e dois, o grupo VA apresentou tempo de sobrevivência significativamente maior em relação ao grupo tratado com Antic ( $p < 0,0001$ ;  $p = 0,0049$ ) respectivamente. Por consequência, o grupo VAP aumentou significativamente a sobrevida dos animais nos três ciclos de utilização de cama em relação a VA e Antic ( $p < 0,0001$ ) no modelo de Gehan-Breslow-Wilcoxon. A vacina VA apresentou sobrevida superior aos animais tratados com Antic ( $p < 0,0001$ ) no 1° ciclo e no 2° ciclo ( $p = 0,0050$ ) (Fig. 8A; 8B). Ao compararmos o mesmo tratamento nos três ciclos de utilização da cama, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) em frangos que receberam VAP e VA nos tempos de sobrevivência e taxa de sobrevida (Fig. 8D; 8E) observados nos testes de Long-rank e Gehan-Breslow-Wilcoxon. Diferentemente, os frangos tratados com anticoccidiano (Antic) alojados no 1° ciclo de cama apresentaram tempo de sobrevivência e sobrevida significativamente superior aos animais alojados no 2° ( $p = 0,0095$ ;  $p = 0,0095$ ) e 3° ciclo ( $p = 0,0068$ ;  $p = 0,0075$ ) respectivamente. O 2° e o 3° ciclo não apresentaram significância ( $p > 0,05$ ) nos testes de Long-rank e Gehan-Breslow-Wilcoxon (Fig 8F). Em média, o grupo Vacina Atenuada por precocidade apresentou mortalidade acumulada estatisticamente significante menor que o grupo Anticoccidiano e o grupo Vacina Atenuada nos dias 21, 28 e 35 conforme descrito na Tabela 5. Entre 15 e 21 dias, 22 e 28 dias e entre 29 e 35 dias o grupo vacina atenuada apresentou respectivamente 0,5%, 0,65% e 0,71% mais mortalidade quando comparado ao grupo vacina atenuada por precocidade.

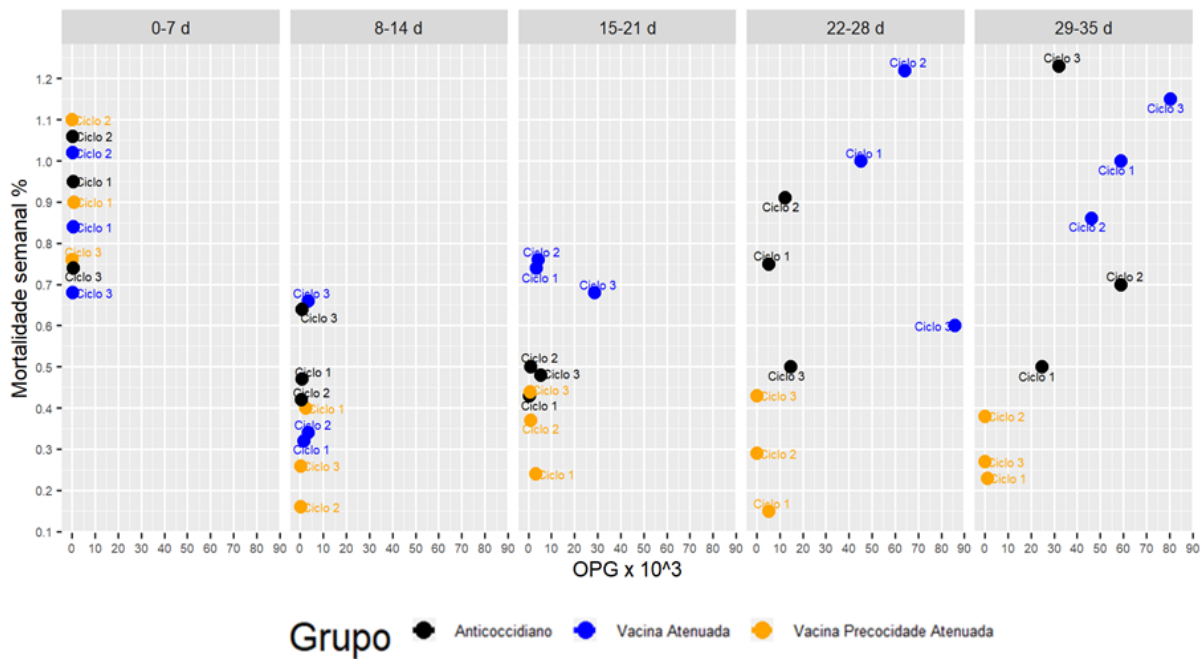
**Tabela 5.** Mortalidade acumulada média (%) entre os três ciclos realizados nos tratamentos Anticoccidiano, Vacina atenuada, e Vacina atenuada por precocidade

MORTALIDADE CUMULADA MEDIA (%)					
	7d	14d	21d	28d	35d
Anticoccidiano	0.92	1.43	1.90 <sup>B</sup>	2.62 <sup>B</sup>	3.43 <sup>B</sup>
Vacina Atenuada	0.85	1.29	2.01 <sup>B</sup>	2.95 <sup>B</sup>	3.96 <sup>B</sup>
Vacina Atenuada por precocidade	0.92	1.19	1.54 <sup>A</sup>	1.83 <sup>A</sup>	2.13 <sup>A</sup>
<i>P valor</i>	0.838	0.108	<b>0.002</b>	<b>0.006</b>	<b>&lt;0.001</b>

Analisando-se a taxa de mortalidade semanal dentro de cada grupo, observamos a tendência decrescente do grupo Vacina atenuada por precocidade em todos as repetições estudadas, ou seja, este foi o único grupo que apresentou relação inversa entre peso e mortalidade durante todo o período experimental. Observando o grupo Anticoccidiano, notou-se que a relação entre mortalidade semanal e peso foi inversa no ciclo 1 e 2, porém, torna-se oposta, ou seja, maior mortalidade no período final, durante o ciclo 3. Este fato pode corroborar o desenvolvimento de resistências. O grupo vacina atenuada foi o único grupo a apresentar maior mortalidade durante o período final em todos os ciclos.

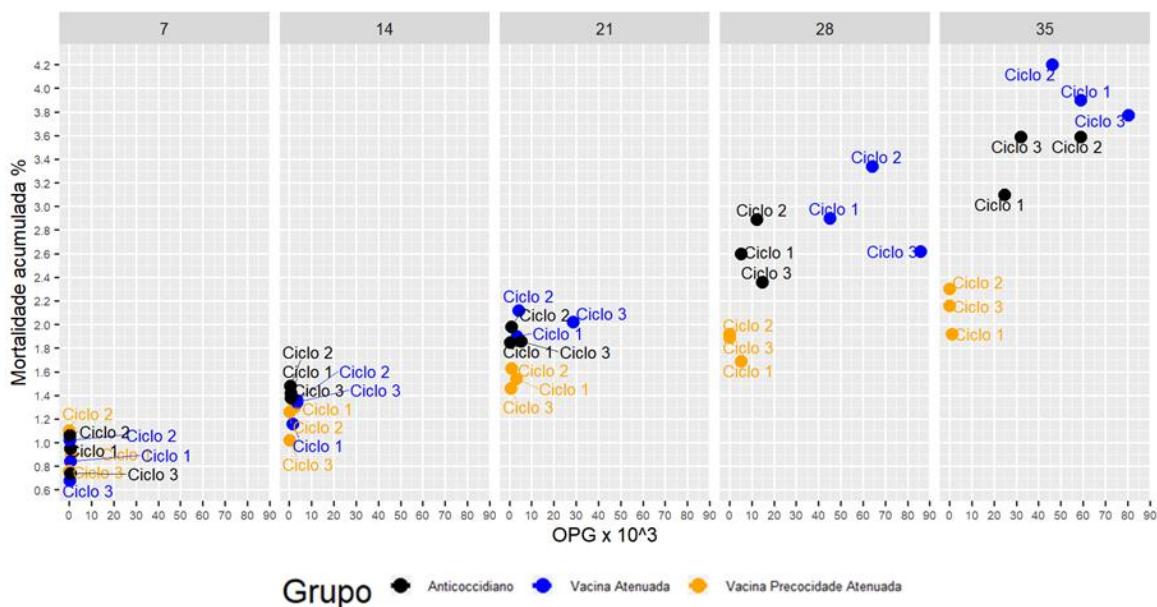
Através da Figura 9 é possível ter a perspectiva temporal da relação entre OoPG e mortalidade semanal. Se confirma a menor taxa apresentada pelo grupo Vacina atenuada por precocidade em relação aos demais, durante todos os períodos, sendo substancialmente menor a partir de 21 dia. Com estes resultados não se observa uma relação clara entre maior OoPG e maior mortalidade semanal.





**Figura 9.** Relação entre Mortalidade acumulada semanal (%) e OoPG x 10<sup>3</sup> nos diferentes ciclos e períodos de idade

Com os resultados de mortalidade acumulada se confirma uma menor taxa no tratamento Vacina atenuada por precocidade a partir do período entre 14 e 21 dias (Figura 10).



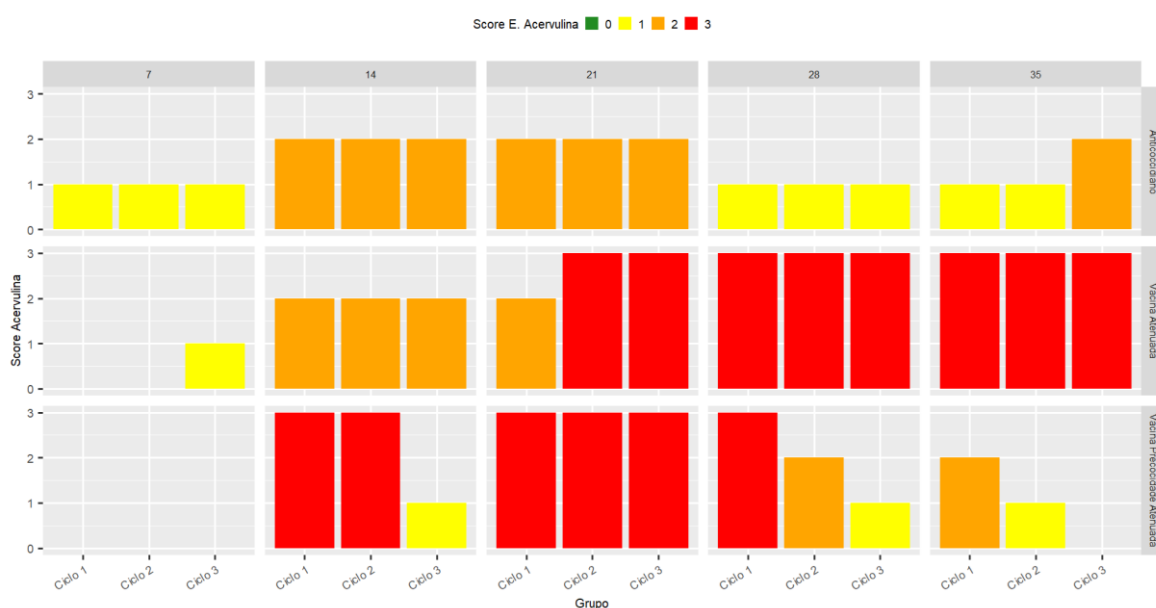
**Figura 10.** Relação entre Mortalidade acumulada (%) e OoPG x 10<sup>3</sup> nos diferentes ciclos e períodos de idade

### 5.5. Estudo de proporção e quantidade entre espécies de eimerias

O grupo Vacina atenuada por precocidade foi o único a apresentar diminuição de todas as espécies no decorrer dos ciclos. Em geral o pico de quantidade de *E. acervulina* e *E. maxima* foi identificado entre 14 e 28 dias (Figuras 10 e 11) enquanto o de *E. tenella* foi aos 21 e 28 dias (Figura 12) e *E. praecox* e *E. mitis* aos 21 dias (Figuras 13 e 14).

O grupo vacina atenuada apresentou aumento crescente de todas as espécies no decorrer dos ciclos. Em geral o pico de quantidade de todas as espécies foi observado nos dias 28 e 35 dias (Figuras 10 a 14).

O grupo Anticoccidiano apresentou aumento crescente de todas as espécies no decorrer dos ciclos, ainda que menos evidente se comparado ao grupo Vacina atenuada. Em geral, apresentou menor quantidade de *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. praecox*. No entanto, apresentou pico de *E. tenella* e *E. praecox* no estágio final entre 28 e 25 dias (Figuras 10 a 14).



**Figura 11.** *E. Acervulina*: comparação da evolução de escore nos ciclos, separado por tratamento

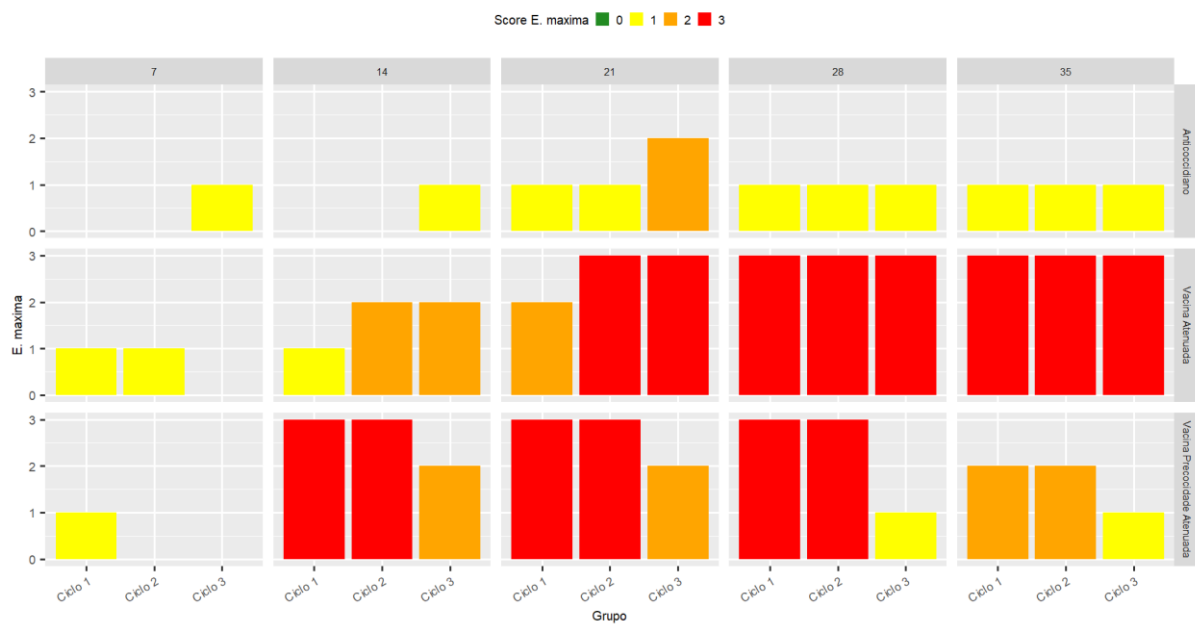


Figura 12. *E. maxima*: comparação da evolução de escore nos ciclos, separado por tratamento

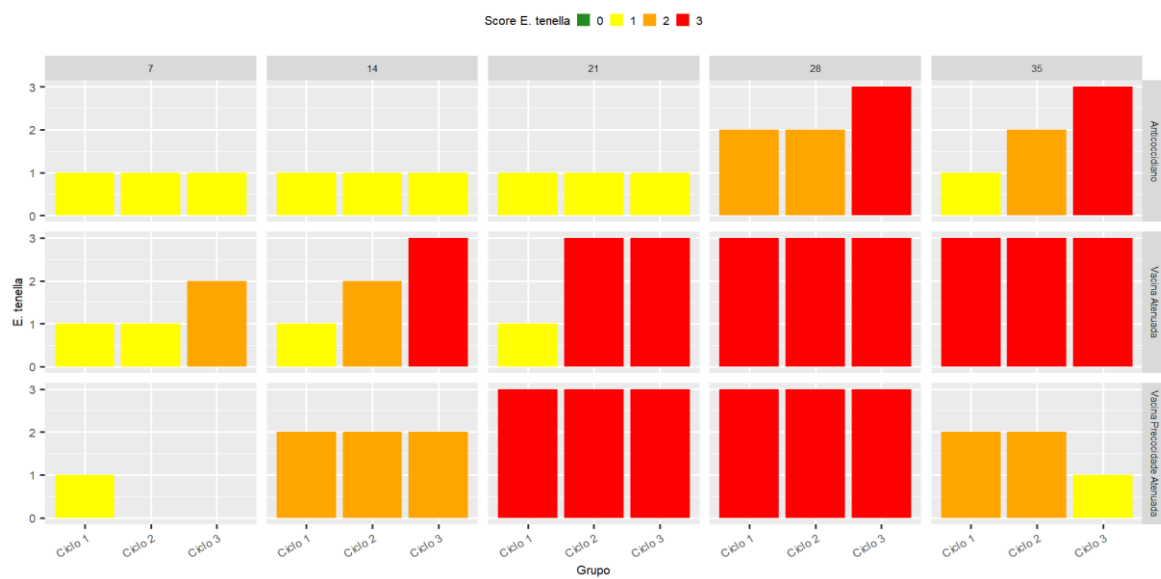


Figura 13 *E. tenella*: comparação da evolução de escore nos ciclos, separado por tratamento

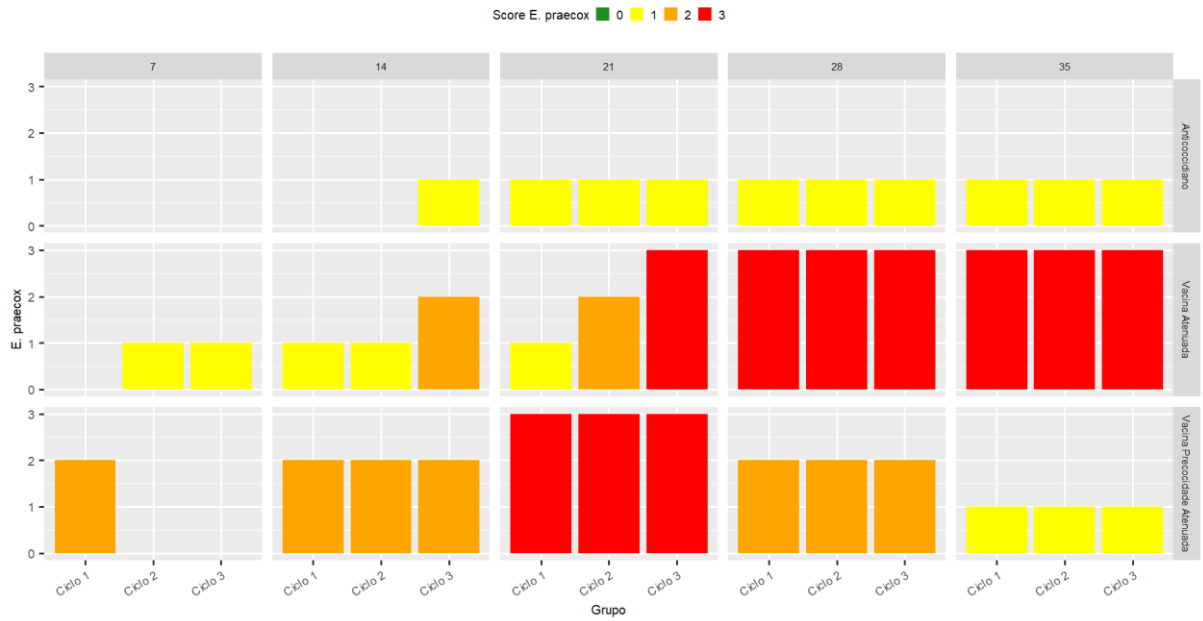


Figura 14. *E. praecox*: comparação da evolução de escore nos ciclos, separado por tratamento

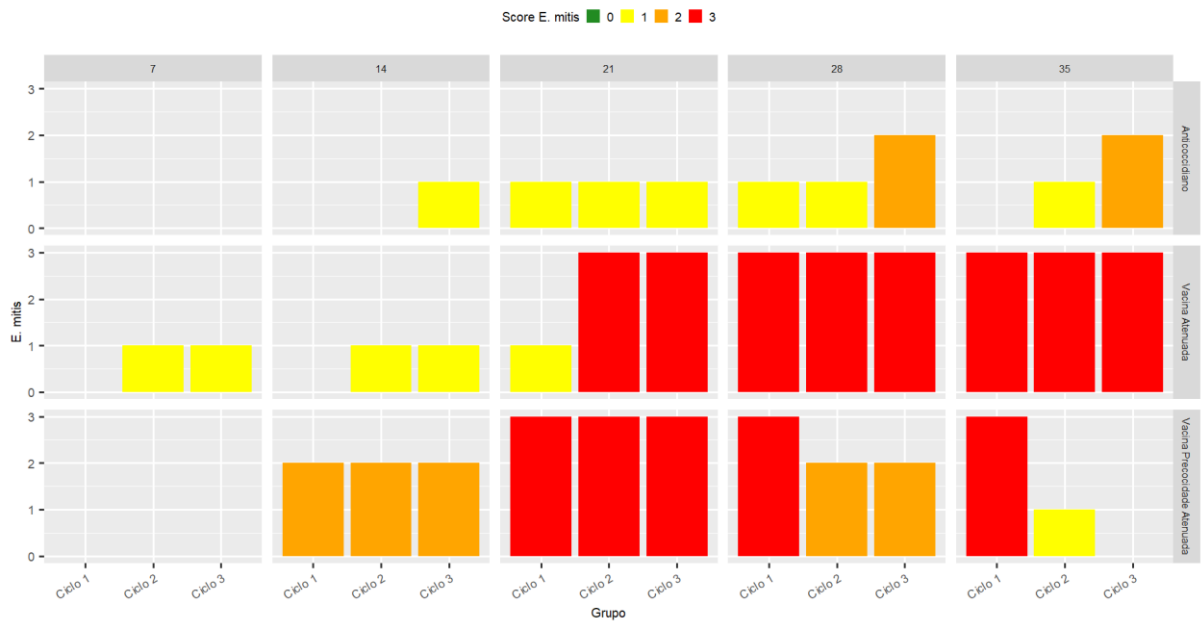


Figura 15. *E. mitis*: comparação da evolução de escore nos ciclos, separado por tratamento

## 6. DISCUSSÃO

Os resultados relacionados com o objetivo de mensurar o impacto da substituição da cepa ambiental pelas cepas das respectivas vacinas de acordo com a repetição (1° ao 3° ciclo) sobre o OoPG e índices zootécnicos foi positivo para o grupo vacinas atenuadas por precocidade.

A vacina atenuada por precocidade demonstrou, conforme proposto na hipótese deste trabalho, melhor performance nos índices zootécnicos (peso corporal, ganho de peso semanal, e mortalidade) possivelmente devido ao procedimento de seleção das Eimerias por sua precocidade fazer com que estas Eimerias possuam menor período de pré-patência conforme descrito por Dalloul e Lillehoj (2006) e observado nos resultados de OoPG obtidos neste projeto em que verificamos uma relação entre a menor contagem de oocistos por gramas de fezes no grupo que recebeu vacina atenuada por precocidade com o melhor ganho de peso, o que está de acordo com o observado por Mathis et al. (2017) e Shirley (1989), que também observaram menor excreção de oocistos nas fezes com a utilização de vacina atenuada por precocidade. Também, o grupo vacina atenuada por precocidade foi o único grupo neste experimento a apresentar diminuição na contagem de todas as espécies no decorrer dos ciclos. Esta menor capacidade de replicação dos oocistos atenuados por precocidade significa menor dano aos enterócitos e consequente preservação do epitélio intestinal para melhor aproveitamento da ração e consequente desempenho da ave, evidenciando vantagens significativas no desenvolvimento de imunidade precoce para coccidiose.

A vacina atenuada por precocidade pode ser vista como uma ferramenta na prevenção da coccidiose aviária com benefícios ao produtor no longo prazo, uma vez que, desde que contenha as Eimerias necessárias para conter o desafio presente na granja já que a imunidade para coccidiose é espécie específico, o diferencial desta ferramenta na prevenção da coccidiose é a redução do uso de medicamentos anticoccidianos e outros tratamentos que muitas vezes são necessários para modular a replicação e reação excessiva induzida pela replicação de vacinas não atenuadas ou atenuadas por outro procedimento que não a seleção por precocidade, principalmente quando se faz uso sucessivo

destas vacinas com impacto negativo no ganho de peso conforme observado neste projeto, no qual o melhor ganho de peso ocorreu até 21 dias no grupo vacina atenuada por precocidade comparado ao anticoccidiano e à vacina atenuada, fato que demonstra a importância do grau de atenuação e de precocidade da cepa contida na vacina. O que foi também evidenciado por Williams (2002) em seus estudos, em que vacinas baseadas em oocistos virulentos causaram queda no ganho de peso dos frangos, os quais não conseguiram recuperar o peso desejado até o abate.

Por outro lado, o uso de drogas anticoccidianas não pode ser vista como uma solução atualmente, uma vez que não induz desenvolvimento de imunidade conforme observado na análise de OoPG, por não resultar em queda da contagem de oocistos nas fezes de aves tratadas com drogas anticoccidianas, necessitando o uso por longo período de forma preventiva, fato que acaba impactando economicamente de forma negativa quando comparamos com os resultados obtidos no presente projeto com o uso de vacinas atenuadas por precocidade, inclusive não sendo observado qualquer melhora no desempenho das aves no decorrer dos ciclos com o uso dos fármacos anticoccidianos. Devemos considerar também que o uso indiscriminado de anticoccidianos tem resultado na seleção de cepas resistentes, as quais reduzem a eficácia de vários anticoccidianos em uso (Chapman, 2014), e por outro lado, o uso de alguns anticoccidianos também trazem limitações com prejuízo em ganho de peso, conversão alimentar, consumo de ração e água, e incremento em mortalidade (Keshavarz e McDougald, 1981; Bartov, 1989; Donzele et al., 2001).

No presente estudo, os resultados da taxa de mortalidade semanal demonstraram uma tendência decrescente do grupo vacina atenuada por precocidade em todos os ciclos estudados, ou seja, este foi o único grupo a apresentar relação inversa entre peso e mortalidade durante todo o período experimental. Observando o grupo Anticoccidiano, nota-se que a relação entre mortalidade semanal e peso é inversa no ciclo 1 e 2, porém, torna-se oposta, ou seja, maior mortalidade no período final, durante o ciclo 3. Este fato sugere a hipótese de desenvolvimento de resistência ao longo dos três ciclos estudados. O grupo vacina atenuada foi o único grupo a apresentar maior mortalidade durante o período final em todos os ciclos.

Os resultados positivos obtidos com a vacina atenuada por precocidade comprovam a melhora no desempenho e imunidade das aves demonstrando segurança desta estratégia vacinal quando administrada via pulverização, utilizando gotas grossas já no incubatório durante o primeiro dia de vida.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o avanço das restrições quanto ao uso de medicamentos anticoccidianos e antimicrobianos devido ao desenvolvimento de resistência quanto a sua eficácia, bem como um consumidor cada mais exigente quanto a este requisito e com maior acesso à informação surge uma demanda cada vez maior na busca de ferramentas alternativas aos anticoccidianos no controle da coccidiose. O uso de ferramentas alternativas aos anticoccidianos tem sido cada vez mais discutidas na cadeia de produção de frango de corte.

Com os resultados obtidos no presente trabalho observamos que há vantagens significativas quanto ao uso de Vacinas de Coccidiose atenuadas por precocidade quando comparado ao uso de Anticoccidianos e Vacina atenuada. Ainda, conforme proposto no objetivo deste trabalho, se comparado diferentes formas de atenuação das *Eimerias* vacinais observamos que a atenuação através da seleção das *Eimerias* por precocidade, a menor lesão intestinal induzida durante seu ciclo de replicação possibilita maior ganho em Mortalidade e Peso corporal, com melhora conforme se realiza ciclos subsequentes sobre a mesma cama, tendo sido realizado apenas a fermentação desta entre lotes, uma vez que o grupo vacina atenuada por precocidade foi o único a apresentar diminuição de todas as espécies de *Eimeria* no decorrer dos ciclos.

Os resultados demonstram que o uso de Vacinas Atenuadas por precocidade pode trazer ganhos econômicos significativos a uma integração de frangos de corte. Com isso, mas estudos buscando verificar diferenças regionais e ganhos econômicos realizados a campo em realidade de integração podem ser desenvolvidos para que o acesso a esta informação traga benefícios aos produtores de frango de corte utilizando esta ferramenta de prevenção contra Coccidiose aviária.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2018**. São Paulo: ABPA, 2017. p. 10-43.

ANDRADE, R. C. **Liderança e Qualidade - Uso de agentes anticoccidianos para frangos de corte**. Boletim Informativo Vaccinar, Ano 2 No 25. Vaccinar Nutrição Animal, 2004.

BARTOV, I. Lack of effect of dietary factors on nicarbazintoxicity in broiler chicks. *Poult. Sci.*, 1989;68:145-152.

BEACH, J. R.; CORL, J. C. Studies in the control of avian coccidiosis. **Poultry Science**, Oxford, v. 4, n. 3, p. 83-93, 1925. Disponível em: <https://doi.org/10.3382/ps.0040083>. Acesso em: 20 jan. 2019.

BENTON, Louis Wilson. **Effects of Housing Management on Vaccination Success Against Eimeria Infection in Chickens**. (Tese de Doutorado). University of Mississippi, 2018. Disponível em: <http://thesis.honors.olemiss.edu/id/eprint/1217>. Acesso em: 15 jan. 2019.

CARVALHO, F. S. et al. Diagnosis of Eimeria species using traditional and molecular methods in field studies. *Veterinary Parasitology* v.176, n. 2-3, p. 95-100, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.015>. Acesso em: 08 fev. 2019.

CHAPMAN H. D., Milestones in avian coccidiosis research: A review. *Poultry Science*. 2014;93 :501-511.

CHAPMAN, HD *et al.* Sustainable coccidiosis control in poultry production: the role of live vaccines. **International Journal for Parasitology**, Amsterdã, v. 32, n. 5, p. 617-629, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00362-9](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00362-9). Acesso em: 01 fev 2019.

CONWAY, D.P., AND M.E. MCKENZIE, 2007: *Poultry Coccidiosis-Diagnostic and testing procedure*. 3<sup>rd</sup> ed. Blackwell Publishing.

BLAND, J. Martin; ALTMAN, Douglas G. Survival probabilities (the Kaplan-Meier method). **Bmj**, v. 317, n. 7172, p. 1572-1580, 1998.

DALLOUL, Rami A.; LILLEHOJ, Hyun S. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. **Expert review of vaccines**, v. 5, n. 1, p. 143-163, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1586/14760584.5.1.143>. Acesso em: 08 fev. 2019.



DALTON, J. P.; MULCAHY, G. Parasites vaccines – a reality? *Veterinary Parasitology*, Amsterdã, v. 98, n. 1-3, p. 149-167, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00430-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00430-7). Acesso em: 27 jan. 2019.

DONZELE, J. L., *et al.* Efeito da Nicarbazina sobre o Desempenho de Frangos de Corte Recebendo Diferentes Níveis de Lisina Submetidos a Estresse por Calor. *Rev. bras. zootec.*, 30(3):1052-1057, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982001000400020>. Acesso em: 29 jun. 2020.

GOEL, Manish Kumar; KHANNA, Pardeep; KISHORE, Jugal. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. *International journal of Ayurveda research*, v. 1, n. 4, p. 274, 2010.

HODGSON, J. N. 1970. Coccidiosis: oocyst counting technique for coccidiostat evaluation. *Exp Parasitol* 28:99–102.

HOLDSWORTH, P. A., *et al.* World Association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP). Guidelines for evaluating the efficiency of anticoccidial drugs in chickens and turkeys. *Vet. Parasitol.* v. 121, n 3-4, p.189-212, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.03.006>. Acesso em: 15 jan. 2019.

JEFFERS, T. K. Attenuation of *Eimeria tenella* through selection for precociousness. *J. Parasitol.* v. 61, p 1083-1090, 1975. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3279381>. Acesso em: 17 jan. 2019.

JOHNSON, J.; REID, W. M. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Exp. Parasitol.* v. 28, p. 30-36, 1970. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(70\)90063-9](https://doi.org/10.1016/0014-4894(70)90063-9). Acesso em: 03 fev. 2019.

JOYNER, L.P.; NORTON, C.C. The immunity arising from continuous low-level infections with *Eimeria tenella*. *Parasitology*, v. 67, n. 3, p. 907-913, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0031182000046552>. Acesso em: 06 fev. 2019.

KAWAZOE, U. Coccidiose. In: BERCHIERI JUNIOR, SILVA, E. N.; DI FABIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. F. editores, **Doenças das aves**. 2a edicao. Campinas, FACTA, Sao Paulo. 2009. p. 837-858.

KIM WH, CHAUDHARI A.A. AND LILLEHOJ H.S., Involvement of T cell Immunity in Avian Coccidiosis. *Front.Immunol.* 2018; 10:2732.

LONG, P. L., AND J. G. ROWELL. Counting oocysts of chicken coccidia. *Lab Prac* 1958; 7:515–19.

LONG, P.L., *Eimeria tenella*: reproduction, pathogenicity and immunogenicity of a strain maintained in chick embryos by serial passage. *J. Comp. Pathol.* 1972;82, 429–437.

LONG, P. L., L. P. JOYNER, B. J. MILLARD, AND C. C. NORTON. A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. *Folia Vet Lat.* 1976;6(3):201–217.

LONG, P. L. AND REID, W. M. 1982. A guide for the diagnosis of coccidiosis in chickens. Research report 404. 17p. The University of Georgia, College of Agriculture, Experiment Stations, Athens, GA.

LONG, P.L. *et al.* Immunisation of Young broiler chickens with low level infections of *Eimeria tenella*, *E. acervulina* or *E. maxima*. **Avian Pathol.** v.15, p. 271-278, 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03079458608436287>. Acesso em: 24 jan. 2019.

LONG, P. L.; JOHNSON, J. K. *Eimeria* of American chickens: Characteristics of six attenuated strains produced by selection for precocious development. **Avian Pathol.** v. 17, p. 305-314, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03079458808436449>. Acesso em: 16 jan. 2019.

MARTINS, G. F. *et al.* Uso de vacinas no controle da coccidiose aviária. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 3, 2012. Disponível em: <https://www.redalyc.org/html/4457/445744113040>. Acesso em: 08 fev. 2019.

MATHIS, GREG F. *et al.* Comparison of breeder/layer coccidiosis vaccines: Part 1-precocity and pathogenicity. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 27, n. 1, p. 33-37, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3382/japr/pfx037>. Acesso em: 15 jan. 2019.

MCDUGALD, L. R.; FITZ-COY, S. H. Coccidiosis. In: SWAYNE, D. E. **Diseases of Poultry**, eds. Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ, 2013. p. 1148-1166.

QUIROZ-CASTAÑEDA, R. E.; DANTÁN-GONZÁLEZ, E. Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives. **BioMed research international**, v. 2015, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/430610>. Acesso em: 05 fev. 2019.

REID, W. History of avian medicine in the United States. X. Control of coccidiosis. **Avian Dis.** 34:509 – 525,1990. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/1591239>. Acesso em: 10 jan. 2019.

ROSE, M.E.; LONG, P.L. Vaccination against coccidiosis in chickens. In: TAYLOR, A.E.R.; MULLER, R. (Eds.), **Vaccination Against Parasites**. Blackwell Scientific, Oxford, UK, 1980. p. 57-74.

SHIRLEY, M. W. Development of a live attenuated vaccine against coccidiosis of poultry. *Parasite Immunol.* 1989; 11:117–124.

SHIRLEY, M. W. *et al.* The Eimeria genome projects: a sequence of events. **Trends in parasitology**, v. 20, n. 5, p. 199-201, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.02.005>. Acesso em: 15 jan. 2019.

SCHIMIDT, A - Universidade Uniquímica: **Conheça o papel dos anticoccidianos** Saúde\_Animal - 28-Nov-2007 10:31 - Atualizado em 20/04/2016 Uniquímica

UNIÃO EUROPÉIA. Parlamento Europeu e Conselho. Regulamento (CE) n. 1831, de 22 de setembro de 2003. Relativo aos aditivos destinados à alimentação animal. Lex: Jornal Oficial da União Européia, [Documento on line]. Disponível em: <https://eurlex.europa.eu/legalcontent/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32003R1831&from=ET>. Acesso em: 18 jan. 2019.

VERMEULEN, A. N.; SCHAAP, D. C.; SCHETTERS, T. P. M. Control of coccidiosis in chickens by vaccination. **Veterinary Parasitology**, v. 100, n. 1-2, p. 13-20, 2001.

Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00479-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00479-4). Acesso em: 03 fev. 2019.

WILLIAMS, R. B. A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. **International journal for parasitology**, Amsterdã, v. 29, n. 8, p. 1209-1229, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(99\)00086-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00086-7). Acesso em: 15 jan. 2019.

WILLIAMS, R. B. Anticoccidial vaccines for broiler chickens: pathways to success. **Avian pathology**, v. 31, n. 4, p. 317-353, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03079450220148988>. Acesso em: 10 jan. 2019.

## 8. ANEXOS

### ANEXO 1. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

Atividades	Trimestre/ Ano 2019				Trimestre/ 2020			
	1º	2º	3º	4º	1º	2º	3º	4º
Revisão de literatura	X	X	X	X	X	X	X	X
Disciplinas	X	X						
Análises de patogenicidade			X	X	X			
Análises dos índices zootécnicos			X	X	X	X		
Análise estatística dos resultados						X	X	
Confecção da dissertação							X	X
Confecção do artigo para publicação							X	X

### ANEXO 2. ORÇAMENTO

#### Orçamento Experimento

FABIANO FABRI - RA 17204600-5

Descrição	Apresentação	Quantidade	Valor unit. (R\$)	1º Ciclo	2º Ciclo	3º Ciclo	TOTAL
				Valor Total (R\$)	Valor Total (R\$)	Valor Total (R\$)	
Pintos de 1 dia	Ave	63.000	R\$ 1,10	R\$ 69.300,00	R\$ 69.300,00	R\$ 69.300,00	R\$ 207.900,00
Vacina (Marek+Gumboro+Bronquite H120)	Dose/ave	65.000	R\$ 0,005	R\$ 325,00	R\$ 325,00	R\$ 325,00	R\$ 975,00
Vacina Não Atenuada (Coccidiose fr 10.000)	Dose/ave	30.000	R\$ 0,06	R\$ 1.800,00	R\$ 1.800,00	R\$ 1.800,00	R\$ 5.400,00
Vacina Atenuada (Coccidiose fr 5.000)	Dose/ave	25.000	R\$ 0,06	R\$ 1.500,00	R\$ 1.500,00	R\$ 1.500,00	R\$ 4.500,00
Anticoccidiano (Maduramicina+Nicarbazina)	Ave	63.000	R\$ 0,06	R\$ 3.780,00	R\$ 3.780,00	R\$ 3.780,00	R\$ 11.340,00
Ração	Kg /ciclo	361.460	R\$ 1,09	R\$ 393.991,40	R\$ 393.991,40	R\$ 393.991,40	R\$ 1.181.974,20
Custo operacional (Mão-de-obra, energia elétrica)	Ave	63.000	R\$ 0,30	R\$ 18.900,00	R\$ 18.900,00	R\$ 18.900,00	R\$ 56.700,00
Maravalha	m3	210	R\$ 46,00	R\$ 9.660,00	0	0	R\$ 9.660,00
							<b>R\$ 1.478.449,20</b>